



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI SALERNO
Dipartimento di Chimica e Biologia “Adolfo Zambelli”

Dottorato di Ricerca in Scienze Chimiche (XXXIV Ciclo)

Tesi di dottorato in

**MONITORAGGIO E CONSERVAZIONE DEI BENI CULTURALI
LAPIDEI: INDAGINI DIAGNOSTICHE MEDIANTE TECNICHE
DI SUPERFICIE E METODOLOGIE INNOVATIVE PER
INTERVENTI DI MANUTENZIONE SOSTENIBILE**

Dottorando

Dott. Francesco Cardellicchio

Coordinatore: Prof. Claudio Pellecchia

Tutor: Prof. Anna Maria Salvi

Co-Tutors: Prof. Luigi Campanella

Prof. Laura Scrano

Anno Accademico 2020-2021

INDICE

	Pag.
INTRODUZIONE	1
SCOPO DELLA TESI	4
CAPITOLO 1 - IL DEGRADO DEI MATERIALI LAPIDEI	
1.1 I materiali lapidei: definizione e alterazioni	6
1.2 IL degrado naturale	7
1.3 Il degrado fisico	8
1.4 Gli effetti del gelo	9
1.5 La cristallizzazione salina	10
1.6 Il microclima	12
1.7 L'alterazione chimica	13
1.8 Gli effetti dell'inquinamento atmosferico	16
1.9 Le croste nere	18
1.10 L'azione dei biodeteriogeni	19
1.11 Microrganismi causa del degrado	23
1.12 Alterazioni cromatiche prodotte dalla corrosione di metalli	26
1.13 Interventi conservativi del materiale lapideo	30
1.14 La pulitura delle superfici e il rischio chimico	32
1.15 Enzimi e Beni Culturali	34

CAPITOLO 2 – PARTE SPERIMENTALE	
2.1 Tecniche strumentali	38
2.2 La spettroscopia fotoelettronica a raggi X (XPS)	38
2.3 Microscopia elettronica a scansione SEM	44
2.4 Micro-Diffrazione a Raggi X	45
2.5 Analisi spettrocolorimetrica e microscopia digitale	46
2.6 Siti di studio e prelievo dei campioni	47
2.7 Prelievo dei campioni per analisi XPS	50
2.8 Biodeterioramento: caratterizzazione e rimozione	53
2.9 I glicoalcaloidi	54

2.10	Biodeterioramento: analisi e utilizzo di biocidi	55
2.11	Analisi dei funghi	58
2.12	Agenti chelanti per la rimozione di macchie di ferro	59
2.13	Gel di supporto dei chelanti	63
2.14	Eliminazione delle macchie di ferro con proteine chelanti	67
2.15	Sviluppo di una piattaforma tecnologica di predizione e programmazione degli interventi preventivi di manutenzione	69
2.15.1	Descrizione della piattaforma	71
2.15.2	La chiesa di San Pietro Barisano: rete di sensori “indoor” e monitoraggio “outdoor”	76

CAPITOLO 3 – RISULTATI E DISCUSSIONE		
3.1	Degrado delle superfici nella Chiesa di San Pietro Barisano	79
3.1.1	Indagini biologiche	80
3.1.2	Caratterizzazione delle patine superficiali mediante analisi XPS	82
3.2	Biodeterioramento nell’ipogeo di San Pietro Barisano: valutazione dell’attività biocida di glicocalcolidi	101
3.2.1	Indagini biologiche e di microscopia elettronica	103
3.2.2	Analisi dei campioni mediante spettroscopia XPS	107
3.3	Biodegrado nella Chiesa Madonna dei Derelitti	118
3.3.1	Indagini microbiologiche	120
3.3.2	Indagini di microscopia elettronica	121
3.3.3	Trattamento delle superfici con idrogel	122
3.3.4	Analisi XPS dei campioni	125
3.4	Chelanti innovativi per la rimozione di macchie di ferro da materiali lapidei	134
3.4.1	Preparazione dei gel di supporto	134
3.4.2	Rimozione di macchie su campioni di travertino	136
3.4.3	Analisi XPS su campione di travertino macchiato non trattato	138
3.4.4	Analisi XPS su campione di travertino macchiato, trattato con Tioglicolato di Ammonio	143
3.4.5	Analisi XPS su campione di travertino macchiato, trattato con Glutazione	148
3.4.6	Analisi XPS su campione di travertino macchiato, trattato con Deferiprone	153
3.4.7	Analisi XPS su campione di marmo di Carrara macchiato, non trattato con chelanti	157
3.4.8	Analisi XPS su campione di marmo di Carrara macchiato, trattato con Gutazione	162

3.4.9	Analisi XPS su campione di marmo di Carrara macchiato, trattato con Deferiprone	168
3.4.10	Indagini di microscopia elettronica su provini di marmo di Carrara	175
3.4.11	Rimozione di macchie di ferro su campione reale	178
3.5	Approccio “green” per la rimozione di macchie di ferro da superfici in marmo: uso di proteine chelanti	181
3.5.1	Spettri di riflettanza e analisi delle immagini	182
3.5.2	Caratterizzazione XPS	186
	CONCLUSIONI	193
	BIBLIOGRAFIA	201
	RINGRAZIAMENTI	225

ABSTRACT

In recent decades, the historical and artistic heritage has undergone a greater degradation than in the past, in relation to the synergic action of atmospheric pollution, climate changes, and biological contamination. The conservation of cultural heritage, therefore, requires, in addition to the reduction of environmental pollution levels, also the development of increasingly innovative, effective, long-lasting, and inexpensive protection strategies. With these premises, this Ph.D. thesis was aimed at contributing to the research activities of the MIUR Project "Smart Cities, n. SCN_00520 entitled: *“Product and process innovation for sustainable and planned maintenance, conservation, and restoration of cultural heritage”* whose main objectives concerned:

- The characterization of the various forms of degradation of stone materials, using advanced analytical techniques.
- The research and development of new types of products that are not harmful to human health, with low environmental impact, highly selective, and at low cost for the restoration of degraded stone materials of cultural heritage.
- The implementation of actions for the sustainable management of cultural heritage, also through the development of a technological platform for preventive interventions and scheduled maintenance.

The doctorate was hosted by the Science Department of the University of Basilicata and the project developed in collaboration with the industrial partner "Tab Consulting Srl" of Potenza, where an initial internship period of 6 months was carried out. The main aim was that of creating a fruitful cooperation with other research unities, using XPS (X-ray Photoelectron Spectroscopy) as the main surface technique in combination with other analytical techniques for the comparative diagnosis of stone materials, before and after the innovative treatments developed in accordance with the SCN objectives.

The Ph.D. project has concerned important and interrelated researches activities:

1. The industrial internship aimed at defining the formulation of predictive mathematical functions of degradation of the stone materials a function of the climatic and environmental parameters, as proposed by the University of Rome for the

implementation of the technological platform, developed by 'Tab Consulting Srl' for planning the preventive conservation and maintenance of cultural heritage.

2. The characterization of degradation phenomena and the identification of environmental factors that affect stone materials, also detectable "*in situ*", depending on location.
3. The internship at the University of Rome to experiment new procedures for the elimination of iron corrosion "stains" on marble surfaces, based on the use of proteins and non-toxic chelants, to be proposed as innovative methodologies in the field of cultural heritage.
4. The study of biodeterioration processes and removal of biological contamination in collaboration with the DiCEM (Matera) and SAFE (Potenza) department of the University of Basilicata (Matera) and the University of Aquila.

With regard to point 3, two eco-compatible chelants, deferiprone and glutathione, and two proteins, Lactotransferrin (Ltf) and Ovotransferrin (Ovt), resulted to be most effective for cleaning rusted marbles, showing an excellent selectivity for iron and ensuring the integrity of the underneath carbonates.

The old district of the city of Matera has been the archeological site where the activities of the "Smart Cities" project were concentrated. In 1993, in fact, UNESCO declared the "Sassi of Matera" a "World Heritage Site", using the concept of "Cultural Landscape" as criteria and motivations. As part of the project, studies have been focused on two rupestrian churches of historical and cultural interest: "San Pietro Barisano", originally "San Pietro de Veteribus", the largest church in the city of Matera, and the "Madonna dei Derelitti" church, commonly known as the "Della Scordata" church, located on the side of the Gravina opposite the one on which the Sassi districts stand. The choice of these two churches as case studies, both for the evaluation of degradation phenomena and for the experimentation of innovative products, especially for the elimination of forms of biological degradation, has required a multidisciplinary approach and the use of combined analytical techniques to gain an accurate knowledge of their state of conservation.

The results obtained show the importance of the diagnostic phase. The XPS analysis is of excellence for verifying the composition of the outermost stone surfaces, degraded in various ways, by close contact with corroded metals, by the interaction with atmospheric pollutants, and/or with abiotic and biotic agents. In addition, complementary techniques

with different sampling depths (e.g. SEM-EDS) are necessary to discriminate the nature of the layers eventually deposited in sequence and to establish the intervention modality. The results obtained show the effectiveness of the cleaning methods carried out also through the use of natural supports, mostly in gelled forms, as an alternative to the use of traditional toxic compounds to ensure a sustainable restoration based on safe cleaning methods. They have allowed the dispersion of the chelators for the treatment of iron stains on marbles and of the biocides used for the treatment of the internal walls of rupestrian churches.

In perspective, based on the results obtained and on the postulate that each work of art is an unrepeatable unicum, it can be stated that the intervention protocols, contemplating the most suitable modality for the specific case, can be defined and implemented in the technological platform as a guide for the sustainable maintenance of Cultural Heritage.

INTRODUZIONE

In Italia è custodita la maggior parte dell'intero patrimonio storico–artistico mondiale. Attualmente sono censiti sul territorio nazionale non meno di 57000 “Beni Culturali” di cui 5000 di tipo archeologico e oltre 50000 di carattere architettonico (Accardo et al., 2002, 2003). L'Italia dunque ha una grande responsabilità, verso il resto del mondo, per la conservazione e la valorizzazione di questo immenso patrimonio.

Per la conservazione dei Beni Culturali il riferimento obbligato sono le riflessioni di Cesare Brandi, direttore dal 1939 dell'Istituto Centrale del Restauro di Roma. Per la teoria di Brandi (Brandi, 2005; Munoz Vinas, 2015) il restauro delle opere d'arte ha l'obiettivo di tramandarle alle generazioni future, nel rispetto della loro storia e natura artistica. Il restauro, pertanto, non implica soltanto il riportare il manufatto alla sua condizione originale, ma anche inquadrarne l'origine e la sua collocazione storica (Della Torre, 2021).

In Figura 1 è illustrata la distribuzione regionale e, in parentesi quadre, le percentuali rispetto al totale, dei Beni Culturali presenti nella banca dati del Sistema Informativo Territoriale dell'Istituto Centrale del Restauro (Accardo et al., 2002).

In questi ultimi decenni, il degrado del patrimonio storico-artistico ha, in generale, subito una accelerazione rispetto al passato, tanto da indurre a ritenere l'inquinamento atmosferico una delle più importanti concause di tale processo. Il degrado dipende, infatti, sia da fattori naturali che antropici. Il processo di deterioramento è spesso progressivo e irreversibile; i tempi e le modalità di impatto sono funzione del tipo di materiale e degli agenti fisico-chimici e biologici di differente natura coinvolti.

Il deterioramento dei materiali è un fenomeno però complesso, riconducibile spesso non solo all'inquinamento dell'aria, ma anche alle condizioni climatiche del territorio in cui i beni sono allocati. L'azione sinergica di fattori ambientali e climatici spesso comporta danni di tipo estetico e/o strutturale del materiale originale, danni che possono compromettere la percezione e la fruizione dell'opera stessa e causarne la perdita di valore. Gli inquinanti maggiormente coinvolti nei processi di degrado frequentemente riscontrati sono il biossido di zolfo e di azoto, l'ozono e il particolato atmosferico, con conseguenze su annerimento, recessione superficiale, corrosione, etc.

La conoscenza dei processi mediante i quali gli inquinanti atmosferici possono influire sul deterioramento e alterazione delle opere d'arte è particolarmente importante per la conservazione e la scelta dei materiali appropriati da utilizzare per il ripristino strutturale

(Tzanis et al., 2009). Per questo motivo il rapporto tra patrimonio culturale e ambiente continua a rappresentare, per la ricerca scientifica, un settore di studio di grande interesse.

A livello europeo, negli anni passati, sono stati avviati diversi progetti di ricerca finalizzati alla valutazione e quantificazione del danno a cui sono soggetti i materiali architettonici. L'obiettivo di questi studi è stato quello di analizzare i meccanismi di deterioramento dei vari materiali presi in esame, arrivando a definire per ciascuno di essi, specifiche relazioni matematiche (funzioni dose-risposta) in grado di stimare quantitativamente, laddove non fosse possibile misurarlo direttamente, il danno attribuibile, per esempio, agli inquinanti e ai vari parametri climatici. Nell'ambito di questi progetti, le funzioni di danno dose-risposta sono state definite esponendo "provini" di materiali selezionati, in un determinato numero di siti su un'ampia scala geografica. Tali funzioni, oltre alla stima, hanno permesso di prevedere l'andamento del danno nel tempo e realizzare mappe relative a eventuali variazioni spaziali del danno stesso (Verney-Carron et al., 2012; Christodoulakis et al., 2017).

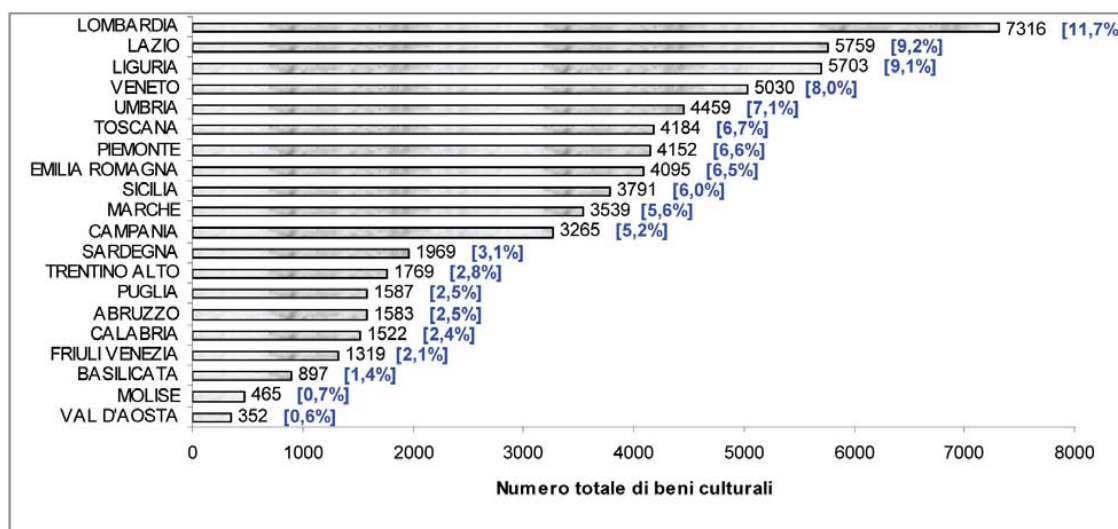


Figura 1. Distribuzione Regionale, in parentesi quadre le percentuali sul totale, dei beni culturali presenti in banca dati del Sistema Informativo Territoriale della Carta del Rischio dell'ICR.

La manutenzione e conservazione dei beni storico-artistici è un processo difficile e complicato a causa della molteplicità di metodi, stili, culture, tradizioni e soprattutto di materiali che hanno caratterizzato la produzione dei beni nel tempo e nello spazio. Ogni materiale interagisce con l'ambiente circostante in dipendenza delle sue caratteristiche chimico-fisiche ed è quindi soggetto a differenti meccanismi di alterazione e

deterioramento. Nella Tabella 1 sono riportate sinteticamente le principali tipologie di degrado, associate all'azione degli inquinanti atmosferici e dei fattori climatici, per alcuni materiali frequentemente impiegati (Watt et al., 2009).

Tabella 1 - Tipologie di alterazione di alcuni materiali costituenti i beni culturali (Ispra, 2017)

Materiale	Tipologia di degrado
Materiali lapidei	Perdita di materiale; annerimento e sporramento; colonizzazione biologica; croste nere
Metalli	Corrosione superficiale; formazione di patine stabili; perdita di rivestimento
Legno	Biodeterioramento
Vetro	Corrosione (“medieval potash glass”); sporramento

Il degrado di un'opera d'arte inizia subito dopo la sua realizzazione e la velocità con cui procede dipende da fattori sia naturali che antropici: il processo di deterioramento è spesso progressivo e irreversibile. Un manufatto a differenza di un sistema biologico, che spesso è in grado di adattarsi all'habitat in cui vive mettendo in atto strategie di resilienza, non è dotato di meccanismi di “reazione” e/o eliminazione delle sostanze inquinanti con le quali viene a contatto: per tale ragione queste si possono accumulare nel tempo, modificando e alterando le strutture dei materiali. Per questo motivo nell'ambito dei Beni Culturali, la ricerca scientifica è stata da sempre rivolta a trovare soluzioni sempre più innovative per fronteggiare tutte le tipologie di degrado a cui la Tabella 1 faceva, in sintesi, riferimento.

SCOPO DELLA TESI

Negli ultimi decenni, il patrimonio storico – artistico ha subito un degrado maggiore rispetto al passato in relazione all'azione sinergica dell'inquinamento atmosferico, dei cambiamenti climatici e della contaminazione biologica. La conservazione del patrimonio culturale richiede, dunque, oltre alla auspicabile riduzione dei livelli ambientali di inquinamento, anche lo sviluppo di strategie di tutela sempre più innovative, efficaci, durature ed economiche. Con queste premesse, la presente tesi di dottorato è stata finalizzata a contribuire alle attività di ricerca del Progetto MIUR “Smart Cities, Communities and Social Innovation, SCN_00520” dal titolo “Innovazione di prodotto e di processo per una manutenzione, conservazione e restauro sostenibile e programmato del patrimonio culturale”, i cui principali obiettivi hanno riguardato:

- ✓ Caratterizzazione delle varie forme di degrado di materiali lapidei, mediante tecniche analitiche avanzate.
- ✓ Ricerca e sviluppo di nuove tipologie di prodotti non nocivi per la salute umana e a basso impatto ambientale, altamente selettivi e a basso costo per il ripristino di materiali lapidei degradati.
- ✓ Attuazione di azioni per la gestione sostenibile del patrimonio culturale, anche mediante lo sviluppo di una piattaforma tecnologica di programmazione di interventi preventivi di conservazione e manutenzione.

Il Dottorato è stato ospitato dal Dipartimento di Scienze (DIS) dell'Università della Basilicata e il progetto è stato sviluppato anche in collaborazione con il Partner industriale “Tab Consulting S.r.l.” di Potenza, dove è stato svolto un periodo iniziale di stage di 6 mesi. In generale, uno degli obiettivi del Dottorato è stato quello di creare una proficua collaborazione con le altre unità operative di ricerca, utilizzando l'XPS (X-ray Photoelectron Spectroscopy) come tecnica principale di analisi di superficie, anche in combinazione con altre tecniche analitiche, per la diagnosi comparativa dei materiali lapidei, prima e dopo i trattamenti innovativi sviluppati, in conformità con gli obiettivi del progetto “Smart Cities”.

Il progetto di Dottorato ha riguardato importanti attività di ricerca interconnesse:

1. Il tirocinio industriale volto a definire la corretta formulazione di funzioni predittive del degrado del materiale lapideo, come proposto dall'Università “La Sapienza” di Roma, in funzione dei parametri climatici rilevati: questo per l'implementazione della piattaforma tecnologica sviluppata dalla “Tab Consulting” S.r.l.

2. La caratterizzazione dei fenomeni di degrado e l'individuazione dei fattori ambientali che incidono sui materiali lapidei, anche in funzione dell'ubicazione dei manufatti.
3. Il tirocinio presso l'Università di Roma¹ per sperimentare nuove procedure per l'eliminazione delle "macchie" di corrosione del ferro su superfici marmoree. Tali procedure, da proporre come metodologie innovative nell'ambito dei Beni Culturali, hanno riguardato l'utilizzo di chelanti atossici e proteine supportati su gel.
4. Lo studio dei processi di biodeterioramento e rimozione dei contaminanti biologici in collaborazione con il Dipartimento DiCEM (Matera), la Scuola SAFE (Potenza) dell'UniBas e l'Università dell'Aquila.

L'articolazione delle attività di ricerca ha previsto l'alternanza di esperimenti *ex situ* in laboratorio e attività *in situ* nell'area del parco archeologico dei "Sassi di Matera" in cui si sono concentrate le attività del progetto "Smart Cities". Nel 1993, infatti, l'UNESCO ha dichiarato i Sassi di Matera "Patrimonio Mondiale dell'Umanità", utilizzando, come criteri e motivazioni, il concetto di "Paesaggio Culturale". Nell'ambito del progetto, l'attenzione è stata rivolta ad alcune chiese rupestri di interesse storico-culturale: San Pietro Barisano, in origine San Pietro de Veteribus, la più grande chiesa rupestre della città di Matera e la chiesa Madonna dei Derelitti, comunemente nota come la chiesa 'della Scordata', collocata sul versante della Gravina opposto a quello su cui sorgono i rioni dei Sassi. La scelta di individuare come caso di studio queste chiese scavate nella calcarenite è stata motivata sia dai notevoli fenomeni di degrado, sia dalla necessità di sperimentare prodotti innovativi per l'eliminazione di forme di degrado biologico. Tutto questo ha richiesto un approccio diagnostico multidisciplinare e l'ausilio di tecniche combinate con risoluzioni complementari all'XPS. La definizione dei protocolli di intervento ha richiesto prove ripetute in laboratorio, preliminari alle sperimentazioni in loco, e l'utilizzo di matrici carbonatiche di riferimento, opportunamente adattate alle strumentazioni in uso. Anche le modalità di applicazione, comprendenti la preparazione dei gel di supporto meglio performanti, sono state ottimizzate in laboratorio. Tutte le procedure messe a punto sono state validate per garantire la rimozione delle alterazioni indesiderate sulle superfici lapidee e, al contempo, l'integrità della struttura carbonatica, mantenendo così l'autenticità del Bene Culturale. Un ultimo obiettivo dell'attività del dottorato è stato quello di contribuire all'implementazione della piattaforma tecnologica ideata dal progetto "Smart Cities", come "archivio dati" e "carta di identità" che consente un aggiornamento costante sullo stato del bene e sui trattamenti di conservazione.

CAPITOLO 1 - IL DEGRADO DEI MATERIALI LAPIDEI

1.1 I MATERIALI LAPIDEI: DEFINIZIONE E ALTERAZIONI

Con il termine “materiale lapideo” vengono indicati i materiali estratti da formazioni rocciose della crosta terrestre e i materiali da costruzione ottenuti attraverso processi operati dall’uomo. I materiali lapidei naturali sono i marmi, le pietre, i graniti e qualsiasi altra “roccia” che viene impiegata nelle costruzioni e in architettura. I materiali artificiali, invece, sono tutti quei materiali, quali stucchi, malte, intonaci, prodotti ceramici, che derivano dalla lavorazione e trasformazione di materie prime di origine naturale.

I problemi dell’alterazione di questi materiali possono essere di natura sia fisiologica (invecchiamento) che patologica (degrado). Tali fenomeni presentano cause e meccanismi analoghi e si differenziano soprattutto per l’entità degli effetti. La trasformazione naturale è intrinseca al ciclo geochimico delle rocce e riguarda le variazioni, lente, ma incessanti nel tempo, che i materiali posti in opera subiscono, venendosi a trovare in condizioni ambientali differenti da quelle presenti al momento della loro genesi. Queste modificazioni, a differenza del degrado, non sempre implicano un peggioramento delle caratteristiche sotto il profilo conservativo. Il processo di degrado e alterazione è attivato, invece, principalmente da parametri estrinseci che agiscono anche sinergicamente tra loro. La risposta del materiale all’attacco di questi agenti dipende dal tipo di roccia, dalla sua origine, composizione, tessitura e struttura. È importante considerare contemporaneamente tutti questi fattori, per non incorrere in errori di valutazione sullo stato di alterazione e sulle cause che accelerano il processo di degrado.

Sicuramente, uno dei fattori che più di tutti influenza il degrado dei materiali, specie se porosi e quindi gelivi, è la presenza di acqua nelle strutture, fenomeno che innesca la maggior parte dei meccanismi di degrado fisico (gelo e disgelo, cristallizzazione salina, azione battente della pioggia) e chimico (azione solvente, idrolizzante e idratante dell’acqua, piogge acide, veicolazione di agenti inquinanti). Oltre a questi fattori naturali, è necessario citare l’aumento dell’inquinamento atmosferico, la scelta inadeguata del tipo di pietra, le complicazioni nei processi di estrazione, trasporto e lavorazione, nonché gli errori di messa in opera, progettazione e conservazione. Questi fattori possono essere responsabili dell’accelerazione dei fenomeni di alterazione.

Tutti i fenomeni di alterazione lapidea sono stati classificati, indipendentemente dalle cause che li hanno prodotti, secondo un lessico contenuto nelle Raccomandazioni NORMAL 1/88 pubblicate per iniziativa del Consiglio Nazionale delle Ricerche e dell'Istituto Centrale per il Restauro (CNR-ICR, 1988; APAT, 2006). I fenomeni, raggruppati secondo l'azione che essi esercitano sul materiale, sono qui di seguito elencati:

- Processi senza peggioramento delle condizioni: alterazione cromatica, macchie, patine.
- Perdita di materiale dalla superficie: erosione, erosione differenziale, pitting, alveolizzazione.
- Perdita della morfologia del manufatto: disgregazione, polverizzazione, esfoliazione, scagliatura, distacco, mancanza, lacuna.
- Deposizione e/o formazione di prodotti secondari: concrezione, crosta, efflorescenza, pellicola, patina biologica.
- Riduzione della resistenza meccanica: deformazione, rigonfiamento, fessurazione.
- Colonizzazione biologica: alghe, funghi, licheni, muschi, piante superiori.

Le principali cause di degrado possono avere due differenti origini: quella naturale, prodotta dal microclima locale, per esempio dal gelo, cristallizzazione salina, e quella antropica rappresentata principalmente dall'inquinamento atmosferico.

1.2 IL DEGRADO NATURALE

E' importante sottolineare come molte rocce subiscono fenomeni di alterazione sia chimici che meccanici già all'atto della loro formazione. Nei processi di deterioramento hanno grande influenza le caratteristiche intrinseche delle rocce, come la composizione chimico-mineralogica e la struttura e la tessitura. E' ben noto, ad esempio, che in ambiente acido, le rocce carbonatiche sono più attaccabili di quelle silicatiche, come pure, in generale, le arenarie a cemento siliceo sono più durevoli di arenarie a cemento calcareo e queste a loro volta resistono meglio di arenarie a cemento argilloso. E' altresì noto che, a parità di composizione mineralogica, rocce compatte hanno una durezza superiore a quelle porose, e che rocce tessituralmente isotrope (con una distribuzione

spaziale omogenea dei minerali) non presentano direzioni preferenziali di frattura, o più in generale, di alterazione.

1.3 IL DEGRADO FISICO

Si parla di degrado fisico quando le rocce vengono ridotte in frammenti più o meno grandi senza che questi abbiano subito cambiamenti nella composizione chimica. Il degrado fisico è dovuto essenzialmente a sbalzi termici (termoclastismo), fenomeni di gelo-disgelo (crioclastismo), cristallizzazione di sali (aloclastismo). Questi processi si riscontrano nei climi molto freddi, dove il degrado è legato a fenomeni di gelo-disgelo, o in quelli molto caldi e secchi, dove la fratturazione delle rocce è dovuta a sbalzi termici da insolazione. Fattori che influiscono direttamente sui fenomeni di deterioramento fisico sono la composizione mineralogica della roccia, la grana e la sua tessitura (Brimblecombe, 2014). Il deterioramento fisico porta anche ad una diminuzione della grana, con aumento della superficie specifica disponibile per l'eventuale alterazione chimica sempre possibile. Gli sbalzi termici, infatti, provocano espansioni e/o contrazioni diverse a seconda dei minerali che compongono una roccia polimineralica, quale ad es. un granito.

Quando la disposizione dei minerali nello spazio è casuale, si possono formare tensioni interne per dilatazioni contrastate tra minerali aventi orientazioni opposte e coefficienti di dilatazione molto diversi. In generale, comunque, il deterioramento fisico porta ad un aumento della superficie specifica disponibile per l'eventuale alterazione chimica, sempre possibile anche in aree dove l'acqua circolante è pochissima. Nel continente Antartico, ad esempio, si è visto che una diorite a grana minuta deteriorandosi produce una sabbia fine della stessa composizione della roccia madre, ma colorata da limonite prodottasi per ossidazione del ferro ferroso a ferro ferrico e sua successiva debole idratazione. L'aumento di superficie specifica è quindi l'effetto più importante del degrado fisico. Tornando agli sbalzi termici, si è detto che si verificano per lo più per l'insolazione diurna e il conseguente raffreddamento notturno.

Più che l'entità delle escursioni termiche sono importanti la frequenza e la rapidità delle loro oscillazioni. Per esempio un acquazzone improvviso può, raffreddando repentinamente una parete rocciosa riscaldata dal sole, provocare una microfessurazione ed essere causa di successive scagliature. Per comprendere l'importanza degli sbalzi

termici nei meccanismi di degrado, basti ricordare che ad essi è dovuta la formazione dei deserti, sia rocciosi che sabbiosi.

Altre cause di disgregazione fisica sono legate all'acqua e ai sali solubili che cristallizzando aumentano di volume ed esercitano pressioni molto elevate all'interno di rocce porose; queste pressioni, col moltiplicarsi degli eventi di cristallizzazione, possono frantumare le rocce stesse che, come si è detto, resistono assai male a sforzi di trazione e taglio. Anche le piante, infine, con le loro radici possono divaricare fessure e produrre un ulteriore e considerevole deterioramento fisico.

1.4 GLI EFFETTI DEL GELO

Una caratteristica comune a tutti i materiali lapidei, che ne condiziona fortemente il comportamento nel tempo, è senza dubbio la struttura porosa. Si è visto come la percentuale degli spazi vuoti rispetto al volume totale possa variare entro limiti molto ampi a seconda del materiale e del processo di genesi e come, a parità di porosità totale, si possano avere strutture con diversa distribuzione dei pori in funzione del loro diametro. In ogni caso tuttavia la presenza di spazi vuoti entro i quali possono penetrare acqua e soluzioni saline, determina la possibilità che si verifichino importanti fenomeni di alterazione. La grande affinità delle molecole di acqua per i materiali lapidei è dovuta al fatto che si esercitano deboli forze di tipo elettrostatico tra i dipoli dell'acqua e quelli presenti nelle strutture costituenti i minerali. L'acqua è dunque un liquido "bagnante" e quando essa viene, per qualche ragione, in contatto con materiali porosi è da questi "risucchiata" all'interno di capillari, con una forza che, a parità di altri fattori, è inversamente proporzionale al diametro dei capillari stessi. Si può considerare, dunque, il sistema di capillari intercomunicanti come una via di passaggio continua, in cui l'acqua ha molta facilità a penetrare ed entro la quale si può muovere, in dipendenza delle condizioni termoigrometriche esterne. Se la temperatura del materiale lapideo scende fino al punto di congelamento dell'acqua contenuta nella sua rete porosa, si potranno verificare danni correlabili alla formazione di ghiaccio. La maggior parte dei ricercatori che hanno studiato la "gelività" nei materiali porosi, sono concordi nel ritenere che il deterioramento è legato a fenomeni di variazioni di volume che accompagnano il passaggio di stato da acqua a ghiaccio (Steiger et al., 2011).

Fenomeni di cristallizzazione avvengono, invece, dapprima nei pori più larghi perché questo comporta un minor dispendio energetico; inoltre, è il raggio del capillare che

determina le dimensioni massime per un cristallo che si forma al suo interno. Se la temperatura rimane al di sotto di quella di equilibrio acqua/ghiaccio, i cristalli si accrescono, assorbendo acqua dai pori limitrofi ancora allo stato liquido. Se gli spazi porosi sono abbastanza larghi, lo stress sarà allora trascurabile, altrimenti gli sforzi meccanici, soprattutto di trazione, esercitati sulle pareti saranno tali da superare le resistenze del materiale e provocare di conseguenza la formazione di microfratture. Come risultato il campione diventerà più poroso, potrà, quindi, assorbire più acqua e diverrà sempre meno resistente alle azioni provocate dai cicli di gelo-disgelo.

In seguito all'abbassamento della temperatura, si iniziano a formare cristalli di ghiaccio nei pori più larghi del materiale. Con il permanere della bassa temperatura i cristalli già formati tenderanno ad accrescersi, alimentandosi con l'acqua ancora allo stato liquido esistente nei capillari contigui. Ciò può produrre un duplice effetto: una diminuzione di volume di minerali espandibili, eventualmente presenti nelle zone dove l'acqua viene risucchiata verso i pori più larghi, e un aumento di pressione sulle pareti dei capillari, provocato da cristalli che, accrescendosi, occupano tutto lo spazio disponibile. Gli sforzi meccanici, soprattutto di trazione, che si accompagnano al fenomeno descritto possono essere tali da superare la resistenza del materiale, e provocare, di conseguenza, la formazione di microfratture.

1.5 LA CRISTALLIZZAZIONE SALINA

Un meccanismo simile alla formazione dei cristalli di ghiaccio nei pori può essere ipotizzato per spiegare gli effetti prodotti dalla cristallizzazione dei sali solubili. E' ben noto che l'acqua assorbita da un materiale poroso, non è mai pura, ma può contenere sostanze organiche e inorganiche provenienti dall'atmosfera, dal terreno o dal materiale stesso. Quando l'evaporazione dell'acqua (favorita dall'aumento di temperatura o dalla diminuzione di umidità relativa dell'aria) fa aumentare la concentrazione delle sostanze saline presenti, queste tenderanno a solidificare, generalmente sotto forma di cristalli. Analogamente all'effetto prodotto dal ghiaccio, i cristalli che si formano all'interno dei pori, si accrescono esercitando una pressione di cristallizzazione sulle pareti dei capillari. Questa pressione sarà tanto maggiore quanto più alto è il rapporto tra la concentrazione attuale del sale e la sua concentrazione di saturazione.

$$P = (RT/V_s) * [\ln (C/C_s)]$$

dove:

P = pressione di cristallizzazione (in atm.)

R = costante dei gas perfetti (0,082 litri atm/mole K)

T = temperatura assoluta (K)

V_s = volume molare del solido (l/mole)

C = concentrazione attuale

C_s = concentrazione di saturazione.

Al fenomeno della cristallizzazione si accompagna spesso quello della idratazione/disidratazione al quale ancora una volta sono legate variazioni di volume (Charola, 2000). Vi sono sali che possono esistere in stati di idratazione diversi, in funzione delle condizioni di temperatura e pressione parziale di vapore d'acqua. Ogni fase salina cioè, ha un campo di stabilità definito da un intervallo di tali parametri, al di fuori del quale essa può continuare ad esistere, diventando metastabile. Mentre una fase instabile si trasforma spontaneamente nella fase stabile (per es. a temperatura ambiente il ghiaccio si scioglie), una fase metastabile ha bisogno di una opportuna sollecitazione dall'esterno per iniziare a trasformarsi nella corrispondente fase stabile. Per es. a 25°C il solfato di sodio anidro (Na₂SO₄) può passare a solfato decaidrato (Na₂SO₄·10H₂O) se l'umidità relativa (U.R.) è maggiore del 75%; a 20°C il carbonato di sodio monoidrato (Na₂CO₃·H₂O) può trasformarsi in eptaidrato (Na₂CO₃·7H₂O) quando l'U.R. è superiore al 65%; per U.R. superiori al 75% può iniziare ad esistere la fase decaidrata (Na₂CO₃·10H₂O). Ad ogni stato di idratazione corrisponde un volume specifico diverso e, di conseguenza, quando il passaggio da una fase all'altra ha luogo all'interno degli spazi porosi di un materiale, ciò può comportare il verificarsi di fenomeni di aumento di volume e quindi di sforzi a carico della struttura del materiale stesso. In una pietra contenente una soluzione salina, la precipitazione del sale causata da evaporazione dell'acqua può avvenire all'interno della struttura porosa oppure sulla superficie esterna. Il fenomeno è regolato da due meccanismi concomitanti: la diffusione del vapor d'acqua attraverso lo strato esterno già asciutto del materiale e la migrazione della soluzione entro la rete porosa delle zone interne ancora bagnate, verso quelle esterne che si stanno asciugando. Se la velocità di diffusione del vapore è inferiore alla velocità di migrazione della soluzione, quest'ultima potrà arrivare fino alla superficie esterna, dove inizierà il

processo di cristallizzazione. Nel caso contrario, l'equilibrio tra i due fenomeni si raggiungerà ad una certa distanza dalla superficie esterna e la cristallizzazione avrà luogo quindi al di sotto di essa.

La cristallizzazione salina, si può manifestare o sotto forma di efflorescenza, quando avviene sulla superficie di evaporazione e questa coincide con la reale superficie esterna del materiale da cui l'acqua evapora, o sotto forma di subflorescenza, quando la superficie di evaporazione, e di conseguenza la zona di cristallizzazione, sono localizzate all'interno del materiale. Senza discutere in dettaglio della natura chimica dei sali solubili che possono essere presenti in un materiale lapideo e delle loro possibili origini, si ricorda brevemente che i composti più frequenti sono i solfati e i cloruri, seguiti da nitrati e, più raramente, nitriti. Quanto ai cationi, si tratta in genere di calcio, sodio, magnesio e potassio (in ordine decrescente di frequenza). La morfologia dell'alterazione provocata dai sali solubili può essere molto varia, in funzione delle condizioni in cui avviene preferenzialmente la cristallizzazione, e delle caratteristiche strutturali e tessiturali del materiale lapideo. In particolare, l'alveolizzazione, che si manifesta con la formazione di alveoli spesso anche molto profondi, accompagnata da abbondante disgregazione del materiale, è una forma di alterazione riscontrabile piuttosto di frequente, soprattutto nel caso di pietre ad elevata porosità ed è tale, a volte, da cancellare qualsiasi rilievo scolpito e comportare la perdita di interi blocchi di pietra. Secondo l'interpretazione data da Pauly et al. (2011), questa particolare forma di alterazione si verifica quando esiste la concomitanza dei seguenti fattori: elevata porosità, elevato contenuto di sali molto solubili ed igroscopici, forte turbolenza dell'aria in contatto con la superficie lapidea.

In queste condizioni, infatti, gli scambi di vapor acqueo tra pietra ed aria sono molto rapidi e ripetuti e di conseguenza possono essere frequenti cicli di dissoluzione-cristallizzazione dei sali e quelli di idratazione-disidratazione. Inoltre, moti turbolenti dell'aria possono movimentare materiali incoerenti prodotti da sforzi meccanici; ciò provoca una ulteriore azione abrasiva nei riguardi della superficie da cui questo materiale si è distaccato.

1.6 IL MICROCLIMA

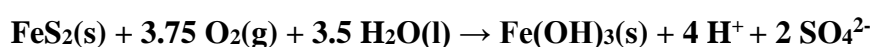
L'insieme delle variazioni di temperatura dell'aria, dell'umidità relativa, della temperatura superficiale del materiale, della radiazione solare incidente e dell'intensità del vento definiscono il microclima a cui è sottoposto un manufatto, ovvero

quell'insieme di fattori e leggi che regolano il degrado sia di tipo fisico che chimico del materiale stesso (Bonazza et al., 2009). La presenza di acqua allo stato liquido sulle superfici dei materiali porosi che, come già detto, da origine a fenomeni di gelività e cristallizzazione salina, è generalmente dovuta a processi di condensazione del vapore acqueo. Il fenomeno della condensazione si verifica quando il vapore d'acqua viene a contatto con una superficie più fredda, che abbia cioè una temperatura uguale o inferiore alla temperatura di rugiada (Camuffo, 2019).

L'acqua in fase liquida favorisce reazioni di tipo chimico che comportano non solo il degrado del materiale, ma anche l'inglobamento di particelle sospese negli strati di neoformazione. L'elevata umidità relativa dell'aria, soprattutto se permane per tempi molto lunghi, favorisce, inoltre, l'insorgere e la crescita di attività biologica sulle superfici lapidee, con conseguente danno alle superfici stesse.

1.7 L'ALTERAZIONE CHIMICA

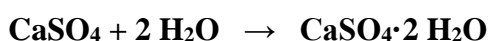
L'alterazione chimica consiste in una trasformazione più o meno radicale dei componenti mineralogici di una roccia. Le principali trasformazioni chimiche sono l'ossidazione, l'idrolisi e la solfatazione. Un importante fenomeno di deterioramento chimico, comune a tutte le rocce affioranti in qualsiasi luogo della Terra, è quello dell'ossidazione che avviene all'interfaccia litosfera-atmosfera. Qui le rocce ricevono acqua, per lo più da precipitazioni piovose o nevose e calore radiante dal sole. I risultati di queste interazioni variano in intensità con il clima, il tempo geologico, la topografia e l'attività biologica e sono funzione del tipo di roccia di partenza. In climi temperati umidi c'è una prevalenza di acque debolmente acide o neutre. Un esempio di processo ossidativo è l'ossidazione della pirite. L'ossidazione di questo disolfuro di ferro è un complesso processo biogeochimico che include diverse reazioni di ossidazione, riduzione, idrolisi e la formazione di ioni complessi controllati dalla solubilità e dagli effetti cinetici (Bigham et al., 1992). Il meccanismo di ossidazione della pirite è stato ampiamente studiato ed è generalmente semplificato dalla seguente reazione:



La reazione suggerisce come l'ossigeno e l'acqua siano la forza trainante dell'ossidazione che interessa sia lo zolfo che il ferro ferroso. Il tasso di ossidazione è

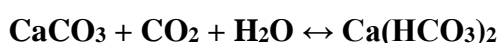
dipendente non solo dalla disponibilità di O₂ e H₂O ma anche dalla temperatura, dal pH e dalla presenza di comunità batteriche ferro- o solfoossidanti (Nordstrom, 1982). I prodotti finali sono l'idrossido ferrico insolubile e l'acido solforico. Si possono inoltre formare altri ossi-idrossidi insolubili, come la goethite, α-FeO(OH), e (raramente) la lepidocrocite, γ-FeO(OH) (Bigham et al., 1992).

Altri processi di alterazione chimica legati all'acqua sono l'idratazione e la dissoluzione. L'assunzione di acqua da parte di molti minerali delle rocce può portare ad aumenti di volume: un esempio è quello che avviene nella volpinite, una roccia affiorante nel Bergamasco, essenzialmente costituita da anidrite (solfato di calcio anidro). Questo minerale reagisce lentamente con l'acqua piovana o l'umidità atmosferica, per dare gesso, secondo la reazione:



Questa trasformazione avviene con un aumento di volume molare del 62%, e provoca uno "sfiorimento", cioè una polverizzazione superficiale accompagnata da imbianchimento, apprezzabile a occhio nudo sia sulla roccia *in loco*, che su lastre di Volpinite usate nel rivestimento di edifici.

Il processo di dissoluzione delle rocce carbonatiche da parte dell'acqua e dell'anidride carbonica è estremamente importante ed è alla base della distruzione di intere formazioni geologiche di calcari. La reazione fondamentale è la seguente:



La calcite a temperatura ambiente, è poco solubile nell'acqua pura (circa 0.02 gr/litro a 25 °C), anche se influiscono sulla solubilità parametri microstrutturali quali la natura cristallina della matrice, il grado d'interlocking tra gli elementi clastici o cristallini, la porosità e la superficie specifica. Sjöberg (1976) ha studiato approfonditamente la cinetica di dissoluzione della calcite evidenziando come la velocità di dissoluzione sia linearmente dipendente dalla sua superficie specifica. Pertanto materiali carbonatici che manifestano una particolare microstruttura (elevata microporosità, superfici con scabrezza micrometrica elevata, etc.) sono più rapidamente aggredibili. La solubilità del carbonato di calcio diventa apprezzabile (1 gr/litro a 25 °C) in acqua contenente anidride carbonica disciolta. Si forma in questo caso una soluzione di bicarbonato di calcio, dalla

quale per evaporazione di acqua e sviluppo di CO₂, può riprecipitare il carbonato. Anche la dolomite (CaMg(CO₃)₂), per quanto molto meno della calcite, è solubile in acqua carbonicata (0,03 gr/litro), mentre la solubilità dei silicati è generalmente molto bassa.

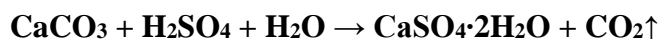
La solubilità del carbonato di calcio nei sistemi a bassissimo tasso d'inquinamento atmosferico è regolata dalla CO₂ atmosferica, la cui solubilità in acqua dipende dal valore della sua pressione parziale, come previsto dalla legge di Henry:

$$C = K \cdot P_{CO_2}$$

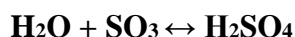
Le soluzioni acquose di CO₂, contengono in equilibrio, anche le specie derivanti dalla parziale dissociazione dell'acido carbonico. Considerando i vari equilibri, il valore del pH di una soluzione acquosa di acido carbonico in equilibrio con la CO₂ atmosferica risulta pari a 5.70. La solubilità del carbonato di calcio tende però a crescere in presenza di un aumento dell'anidride carbonica, con spostamento dell'equilibrio verso la formazione di bicarbonato di calcio. Concorreranno, quindi, ad aumentare il valore della solubilità del carbonato tutte le cause che determinano:

- ✓ un aumento della P_{CO₂};
- ✓ una diminuzione della temperatura, che aumenta la solubilità della CO₂ in acqua;
- ✓ una decomposizione di particolari sostanze organiche che tendono ad acidificare il sistema;
- ✓ un aumento generale di acidità dell'ambiente (per inquinanti, piogge e nebbie acide).

Un'altra importante alterazione delle rocce carbonatiche è relativa alla presenza in atmosfera di ossidi di zolfo e di azoto. La reazione di solfatazione delle rocce carbonatiche produce la formazione di gesso a spese della calcite attaccata da acido solforico:



L'acido solforico si forma ogni volta che la concentrazione di anidride solforica proveniente dall'atmosfera e disciolta in acqua di condensa è molto alta (caso di atmosfera inquinata):



Se il gesso di neoformazione viene a contatto con l'acqua, viene dilavato con conseguente perdita totale di materiale originario. Se il gesso di neoformazione rimane in zone non esposte al dilavamento, essendo molto poroso, assorbe facilmente particolato atmosferico e si consolida formando una crosta nera (Charola et al., 2007).

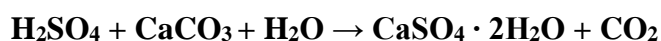
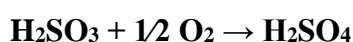
1.8 GLI EFFETTI DELL'INQUINAMENTO ATMOSFERICO

Alle cause naturali di alterazione se ne è aggiunta ormai da molti anni un'altra di origine antropica, rappresentata dall'inquinamento dell'aria (Van Grieken et al., 1998; Romeu & Silva, 2019; Vidorni et al., 2019; Rovella et al., 2021). Lo sviluppo delle attività industriali e l'aumento della popolazione hanno, infatti, provocato l'immissione massiccia nell'atmosfera di sostanze altrimenti presenti in concentrazione molto inferiore o addirittura assenti. Gli inquinanti atmosferici possono raggiungere le superfici dei manufatti sostanzialmente sia per via umida che per via secca (APAT, 2006). Le deposizioni umide implicano l'incorporazione degli inquinanti nelle nubi, nella pioggia, nella neve e il successivo trasferimento al suolo con le precipitazioni. La deposizione per via secca avviene invece con un processo più lento, ma più continuo di quello che caratterizza le deposizioni umide, ed è quell'insieme di fenomeni che comporta l'accumulo di particelle aerodisperse su superfici solide. Gli inquinanti si trovano in atmosfera sotto forma di gas o aerosols e si depositano sulla pietra per effetto della diffusione molecolare browniana, per fenomeni di turbolenza, per termoforesi, per "effetto Stefan" o per gravità (APAT, 2006). Come già visto nel paragrafo precedente, tra le sostanze inquinanti, quelle considerate maggiormente aggressive per i materiali lapidei sono l'anidride carbonica e gli ossidi di zolfo e azoto. L'anidride carbonica (CO_2) reagisce con l'acqua presente in atmosfera, dando origine ad una soluzione di acido carbonico (H_2CO_3) che con il carbonato di calcio (CaCO_3), che è la componente fondamentale dei materiali lapidei, porta alla formazione del bicarbonato di calcio $\text{Ca}(\text{HCO}_3)_2$ altamente solubile, con conseguente dissoluzione della matrice carbonatica costitutiva. Lo zolfo è un elemento che nell'atmosfera è presente principalmente come anidride solforosa (SO_2), acido solfidrico (H_2S) e solfati (SO_4^{2-}) presenti negli aerosol. Le principali sorgenti di emissione dello zolfo sono i processi di combustione che riguardano i combustibili fossili (carbone e petrolio) ed i processi di fusione di minerali non ferrosi. In tutti questi processi lo zolfo, contenuto come impurezza o come solfuri,

viene ossidato ad SO₂. La presenza del biossido di zolfo nell'atmosfera è la causa principale dei processi di solfatazione che interessano le superfici dei materiali lapidei e bronzei e che porta alla degradazione ed alla parziale perdita del materiale superficiale del manufatto. Le reazioni che caratterizzano il meccanismo di solfatazione nel caso di manufatti lapidei, possono essere schematizzate nel seguente modo:



oppure:



L'interazione tra acido solforico (H₂SO₄) e carbonato di calcio, come mostrato nelle reazioni sopra riportate, porta alla formazione di solfato di calcio biidrato, CaSO₄ · 2H₂O (gesso) facilmente dilavabile dalle piogge. L'azione negativa del gesso sulla pietra lapidea è soprattutto determinata dal suo diffondersi, penetrare e cristallizzare all'interno dei pori del materiale, causandone la disgregazione.

Gli ossidi di azoto (formula generica NO_x) sono composti tra l'azoto e l'ossigeno nei vari stati di ossidazione; questi si formano nei processi di combustione ad alte temperature e si ossidano nell'atmosfera ad acido nitrico (HNO₃) che esplica la sua azione corrosiva sui materiali calcarei e sui silicati aggredibili a pH acidi. I nitrati che si formano possono avere un effetto disgregante per meccanismi di migrazione e cristallizzazione.

Tra gli inquinanti, il particolato atmosferico ricopre un ruolo fondamentale nei processi di degrado, perchè rappresenta la principale causa dell'annerimento delle superfici esposte (de la Fuentea et al., 2013; Barca et al., 2014). Le Polveri Sospese Totali (PST) sono un insieme eterogeneo di particelle solide e liquide che restano in sospensione nell'aria a causa delle ridotte dimensioni (da pochi nanometri a qualche micrometro). Nel particolato atmosferico si distinguono diverse frazioni, in particolare il PM₁₀, caratterizzato da particelle di diametro aerodinamico inferiore a 10 µm, il PM_{2.5} con particelle di diametro aerodinamico inferiore a 2.5 µm e il PM₁ costituito da particelle di diametro aerodinamico inferiore a 1 µm. Tra le specie che costituiscono il particolato si ricordano gli ioni inorganici, provenienti da aerosol secondario fine, costituiti per esempio da NO₃⁻ (nitrato), NH₄⁺ (ammonio) e SO₄²⁻ (solfato), componenti cristallini,

componenti carboniose (composte da carbonio organico ed elementare) e aerosol marini. Il particolato sospeso è costituito anche da componente biologica, caratterizzata da particelle vitali e non vitali che depositandosi sul substrato lo arricchiscono di nutrienti e contaminanti.

La componente crostale è principalmente costituita da carbonati e silicati; le particelle generate da erosione o sospensione del terreno ne sono ricche. La componente carboniosa delle particelle è invece costituita da carbonio elementare (EC), e molecole organiche (OC). Questi composti sono presenti in grande quantità nelle polveri atmosferiche, specialmente in quelle di origine antropica. Il carbonio elementare (EC) si presenta in forma amorfa o sotto forma di grafite: quest'ultima è la componente in grado di assorbire la radiazione solare. Il carbonio organico (OC) deriva soprattutto dall'ossidazione di prodotti di combustione, quali i VOCs (Volatile Organic Compounds) e dalla loro successiva condensazione e dissoluzione in fase acquosa. Le particelle carboniose sono particelle sferiche di dimensione variabile da meno di 1 a 10 μm , spesso con presenza di zolfo, vanadio e nichel, prodotte in maggioranza dai processi di combustione di combustibili fossili. Esse sono contenute prevalentemente nella frazione fine del particolato atmosferico e sono presenti in concentrazioni elevate nelle aree urbane; sono state spesso ritrovate quali componenti delle croste nere che ricoprono i monumenti. La deposizione di particolato sulle superfici di opere di interesse storico-artistico non costituisce un semplice fenomeno di adsorbimento, in quanto le polveri vengono spesso cementate, divenendo così parte integrante del materiale, in un processo fisico-chimico che include la deposizione di un velo d'acqua e reazioni chimiche fra il materiale e gli acidi contenuti in questa soluzione corrosiva. Tali reazioni, oltre che avvenire in superficie, possono anche interessare strati più profondi del materiale.

1.9 LE CROSTE NERE

Come già detto, le superfici di edifici situati in ambienti urbani in cui è presente un'atmosfera inquinata, sono destinate a ricoprirsi di depositi scuri (di colore grigio o nero) che possono assumere forme e spessori diversi. Tali depositi, che si presentano sotto forma di incrostazioni eterogenee vengono definite "croste nere". Il componente principale delle croste nere è il gesso presente sotto forma di cristalli aghiformi con crescita perpendicolare alla superficie di alterazione (La Russa et al., 2013; Comite et al., 2020). La trasformazione della calcite in gesso e la formazione di nuovi cristalli

provocano tensioni all'interno della struttura causando decoesioni e distacchi di grossi frammenti di calcare. Inglobati nel gesso sono comunque presenti particelle di varia natura come particolato atmosferico, polline, ossalati, sostanze bituminose e carboniose (responsabili della colorazione grigio-nerastra), frammenti di calcite (di origine primaria o derivati da dissoluzione di carbonato di calcio (CaCO_3) e successiva riprecipitazione), cristalli di quarzo e feldspati (Ruffolo et al., 2015). In alcuni casi, dove alla crosta nera si sono sommati prodotti di deiezione di uccelli, sono stati identificati fosfati di calcio e di potassio. Le croste nere, in particolar modo se presenti su paramenti calcarei, possono rigonfiarsi o produrre esfoliazioni e scagliature (Figura 2); col tempo le croste tendono ad ispessirsi e ad indurirsi sempre più fino a divenire meno porose, accentuando così la diversità di comportamento meccanico e termico con la pietra sottostante. Il ruolo del microclima nel meccanismo di genesi della crosta nera è rilevante: condizioni di elevata umidità relativa e di frequente gelività sono fattori che incrementano la frequenza di formazione di tali depositi compatti.



Figura 2. Esempio di formazione di croste nere

1.10 L'AZIONE DEI BIODETERIOGENI

Il termine biodeterioramento è stato definito da Hueck (1965) come un “*qualsiasi cambiamento indesiderato nelle proprietà di un materiale, causato dall'attività vitale degli organismi viventi*”. Per molto tempo gli effetti biologici sui materiali da costruzione sono stati considerati dirette conseguenze dei processi di degrado fisici e chimici e immediati risultati dei fenomeni di inquinamento atmosferico; si pensava ad essi come ad un problema secondario, che si verifica solo dopo un avanzato stato di degrado. In altre parole si pensava che i fattori abiotici, inducendo delle modificazioni a carico del

substrato, ne condizionassero le proprietà facilitando la successiva colonizzazione biologica. Inoltre, si riteneva che i fenomeni di biodeterioramento andassero a modificare il substrato solo da un punto di vista estetico, inducendo la comparsa di patine e macchie colorate sulla superficie, in seguito al rilascio di pigmenti biogenici.

Recentemente, diversi approcci analitici hanno dimostrato il ruolo svolto dai microorganismi nei fenomeni di deterioramento, che, già nei primi stadi di esposizione, sono responsabili di modificazioni fisiche, chimiche ed estetiche della superficie colonizzata (Urzì et al., 2001). I microorganismi possono utilizzare la superficie come supporto per la crescita, servendosi delle componenti minerali o dei depositi superficiali quali metaboliti necessari per lo sviluppo. Oggi il concetto di biodeterioramento è inteso in un'accezione più ampia: si sa, infatti, che il fenomeno è controllato da rapporti sinergici e antagonistici tra microflora colonizzante e fattori ambientali e quindi non può essere considerato come un fenomeno isolato, in quanto si verifica in concomitanza con altri fenomeni di degrado. I beni architettonici vanno intesi, quindi, come ambienti complessi ed eterogenei; l'eterogeneità è legata alle numerose interrelazioni tra le varie popolazioni biologiche e tra queste e il substrato lapideo.

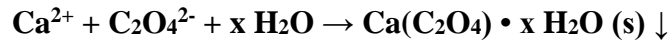
Tutto il patrimonio artistico monumentale è continuamente soggetto all'attacco biologico da parte di diverse forme di organismi viventi: batteri, funghi, alghe, licheni, muschi, piante vascolari e, non ultima, l'avifauna (Sterflinger & Piñar, 2013; Bartoli et al., 2014; Coutinho et al., 2015). Non esiste materiale lapideo che ne sia sicuramente immune o condizione ambientale che assicuri l'impossibilità di sviluppo di un qualche agente biologico. Naturalmente il biodeterioramento assume un'importanza diversa a seconda delle caratteristiche della pietra e dell'ambiente. In condizioni di inquinamento dell'aria e in climi con periodi piovosi e freddi, come quelli che caratterizzano la maggior parte dei paesi europei, probabilmente il danno, provocato dall'instaurarsi di meccanismi fisici come il gelo-disgelo e la cristallizzazione dei sali, è prevalente rispetto a quello di origine biologica, almeno nella maggioranza delle situazioni. Al contrario, in climi caldi e umidi le forme di alterazione prevalenti, o per lo meno le più vistose, sono quelle correlate alla presenza di biodeteriogeni. In ogni caso, i problemi di fronte ai quali ci si trova per la conservazione dei materiali lapidei si possono raggruppare in tre grandi categorie:

- a) identificazione degli agenti biodeteriogeni;
- b) definizione delle condizioni ambientali che ne favoriscono lo sviluppo;
- c) scelta degli interventi e valutazione della loro efficacia.

Per quel che riguarda il primo punto, lo studio comincia dall'osservazione delle forme di alterazione presenti sul monumento. I principali agenti di biodeterioramento sono comunque i microrganismi autotrofi, che in base alla fonte di energia utilizzata per l'organizzazione del carbonio si distinguono in chemiolitotrofi (ossidano anche alcuni composti inorganici) e fotoautotrofi (ricavano energia dalle radiazioni luminose). I microrganismi eterotrofi si instaurano sui resti organici inerti degli autotrofi. Di conseguenza, dal punto di vista dell'insediamento, essi vengono considerati agenti secondari del biodeterioramento. I parametri ambientali che maggiormente condizionano lo sviluppo e la crescita dei vari gruppi biologici sono la luce, essenziale per gli organismi fotosintetici, l'ossigeno, necessario per la respirazione cellulare, l'anidride carbonica, necessaria per l'organizzazione del carbonio operata dagli autotrofi, l'acqua, indispensabile a tutti gli organismi per lo svolgimento delle diverse funzioni metaboliche. Sono inoltre necessari alcuni sali minerali, che possono essere forniti dal materiale lapideo e, per gli organismi eterotrofi, una fonte di carbonio organico. I biodeteriogeni forse più diffusi sui manufatti in pietra e per i quali è più facile individuare l'effetto dannoso sono senza dubbio le alghe microscopiche. Spesso queste si impiantano sulla superficie di materiali molto porosi, o comunque già deteriorati, e penetrano entro le microfrazture o al di sotto di frammenti già parzialmente distaccati. Anche i licheni sono agenti molto diffusi, almeno in condizioni di scarso inquinamento dell'aria, e molto spesso sono facilmente riconoscibili, anche da non specialisti, grazie alle loro caratteristiche forme macroscopiche e dai colori vivaci, giallo, bianco e arancio. Non c'è unanimità di pareri da parte degli studiosi sugli effetti prodotti dai licheni e c'è addirittura chi li considera protettivi nei riguardi delle superfici sulle quali si sviluppano. In alcuni casi, comunque, è accertata un'azione corrosiva, soprattutto nei riguardi di materiali calcarei, prodotta dai loro metaboliti acidi.

La produzione di acidi organici da parte di organismi (funghi in particolare) è un fenomeno altamente studiato che ha profonde implicazioni nella conservazione dei materiali lapidei. La biosintesi dell'acido ossalico da glucosio, per esempio nei funghi, avviene per idrolisi dell'ossalacetato in ossalato e acetato ed è catalizzata dall'ossalacetasi citosolica; dall'acido citrico la produzione di ossalato avviene per ossidazione del gliossilato. L'acido citrico è un intermedio nel ciclo Ciclo di Krebs (ciclo degli acidi tricarbossilici).

L'acido ossalico nelle rocce calcaree è responsabile della precipitazione di ossalato di calcio (CaC_2O_4):



La formazione dell'ossalato di calcio, produce sali poco solubili ma più solubili del carbonato di calcio, che possono essere dilavati, producendo dei veli bruni sulla superficie delle rocce.

La maggior parte dei sali di acido ossalico (ossalati), presenti in natura, ha origine biogenica. Questi sono riscontrabili all'interno del biofilm sulla superficie delle rocce, come risultato di un'interazione dei prodotti del metabolismo di comunità microbiche litobiotiche (funghi microscopici, licheni e batteri) con rocce e minerali (Gadd et al., 2014; Kuz'Mina et al., 2019). Le due forme di ossalato di calcio presenti nei biofilm sono ossalato di calcio monoidrato (whewellite) e ossalato di calcio diidrato (weddelite).

Il ruolo dei batteri chemiosintetici, soprattutto quelli del ciclo dello zolfo e dell'azoto, nei processi di alterazione della pietra è ancora oggetto di studi e approfondimenti. Analogamente non è facile valutare il danno prodotto da funghi, attinomiceti e batteri eterotrofi, almeno quando sulla pietra non siano presenti residui di natura organica, come, ad esempio, protettivi applicati nel passato. In tal caso, i funghi possono rappresentare una causa importante di danno (Ghany et al., 2019). In questo ambito è importante porre attenzione alla valutazione della bioresistenza dei prodotti organici impiegati per il consolidamento e la protezione dei materiali lapidei. E' questo un requisito in genere non preso in considerazione da chi effettua i controlli sui trattamenti. D'altra parte, a parità di altre caratteristiche, l'impiego di prodotti non facilmente attaccabili dai vari biodeteriogeni potrebbe fornire certamente una maggiore garanzia di durabilità del trattamento.

Tra gli organismi macroscopici, le piante ruderali e infestanti rappresentano spesso un grave problema per la conservazione di strutture archeologiche, non solo in quanto con il loro sviluppo ne possono impedire o ridurre la visibilità, ma anche perché le radici, penetrando nei giunti tra i conci di pietra e dentro fessure preesistenti, esercitano una dannosa azione di cuneo. Oltre al danno meccanico entrano anche in gioco meccanismi chimici di scambio tra gli ioni H^+ delle radici e i cationi alcalini e alcalino terrosi dei minerali componenti la pietra che ne provocano una lenta trasformazione. Sia pure ad un livello quantitativo meno importante, il problema della vegetazione infestante riguarda anche strutture architettoniche non allo stato di rudere, che svolgono tuttora la funzione

per la quale sono state costruite. Non è raro infatti vedere su tetti e in altre parti difficilmente accessibili di chiese e palazzi ciuffi d'erba o piccoli arbusti che spuntano rigogliosi, a volte non privi di una loro bellezza, ma certamente poco benefici nei riguardi del monumento.

1.11 MICRORGANISMI CAUSA DEL BIODEGRADO

I Batteri. I batteri sono un vasto raggruppamento di microrganismi dall'aspetto e dimensione molto varia; riescono ad adattarsi a tutti gli ambienti e possono essere classificati in aerobi, quelli che utilizzano l'ossigeno libero per la respirazione e anaerobi, quelli che vivono in assenza di ossigeno. I batteri possono avere forme diverse a seconda delle fasi di sviluppo. Una ulteriore classificazione può essere effettuata a seconda del loro metabolismo. I batteri autotrofi sono in grado di costruirsi il proprio nutrimento organico, partendo da materiale inorganico e usando l'anidride carbonica come unica fonte di carbonio. Hanno esigenze nutritive molto semplici, che possono essere soddisfatte assorbendo tutti gli elementi necessari in forma inorganica. I prefissi foto- e chemio- indicano la fonte di energia che questi organismi utilizzano per effettuare tale processo: i chemioautotrofi estraggono energia da sostanze inorganiche ossidabili, i fotoautotrofi si servono come fonte energetica della luce solare. Eterotrofi, invece, sono i batteri le cui esigenze nutrizionali comprendono uno o più composti organici preformati che essi non sono in grado di sintetizzare: essi dipendono quindi dagli autotrofi.

I Cianobatteri. I cianobatteri sono organismi procarioti a fotosintesi ossigenica; possono vivere in ambienti estremamente inospitali e possono anche crescere in assenza di luce a spese di fonti organiche di energia. Alcuni tipi di cianobatteri fissano l'anidride carbonica producendo un polisaccaride di riserva: la cianoficina. La parete cellulare di molti cianobatteri è spesso pigmentata, soprattutto nelle specie che prediligono gli habitat terrestri. Questi organismi sono dotati di notevole adattabilità; alcuni di essi si dividono in epilittici, cioè vivono sulla superficie lapidee ed endolittici che si insinuano nelle fessure capillari del substrato. Alcuni generi prendono parte alla formazione dei licheni.

Le Alghe. Le alghe sono abbondanti in tutti gli ambienti umidi o acquatici; nelle acque dolci la maggior parte delle specie sono microscopiche, unicellulari, solitarie o coloniali e una buona parte forma fusti simili a piante. Le alghe che si organizzano in colonie mostrano un'estrema varietà di forme: ammassi globosi, filamenti o incrostazioni. Questi organismi eucarioti autotrofi possono essere unicellulari o pluricellulari e variamente

colorati. Le popolazioni algali crescono su un numero notevole di opere in pietra e possono produrre differenti forme di biodeterioramento mediante diversi tipi di meccanismi. Questi organismi possono ricoprire le superfici che sono già state corrose da agenti atmosferici e tale azione ricoprente è dovuta non solo alla loro stessa presenza, ma anche alla capacità delle colonie algali di assorbire pulviscolo atmosferico e fuliggine diventando possibili sedi per successive colonizzazioni. Possono esercitare anche azioni corrosive rilasciando metaboliti acidi. Tale danno può aggiungersi a quello già causato dalla diffusione delle alghe ricoprenti. Lo sviluppo di alghe può essere, infine, decoesivo, attraverso meccanismi fisici, a cui si aggiungono processi di reazione chimica attraverso il rilascio di sostanze dotate della capacità di legarsi con elementi minerali quali soprattutto calcio e magnesio. Le alghe infine possono entrare in simbiosi con i funghi per dare i licheni (Figura 3).

I Funghi. I funghi sono organismi eterotrofi, ma possono anche essere parassiti, saprofiti, o simbionti. I funghi possono essere provvisti di diversi pigmenti, soprattutto nei corpi fruttiferi: si tratta in genere di composti ciclici privi di azoto; non sono comunque mai presenti pigmenti fotosintetici. I funghi simbionti instaurano relazioni con altri organismi; i licheni, per esempio, sono associazioni di funghi e alghe o cianobatteri. I funghi possono agire anche da decompositori; infatti nell'ambiente essi degradano materiali organici complessi fino a semplici composti inorganici: così carbonio, azoto, fosforo ed altri costituenti fondamentali dei corpi vengono liberati e resi disponibili per altri organismi presenti all'interno del biofilm.

Il corpo o la struttura vegetativa di un fungo è detto micelio e può variare sia per la sua complessità che per le dimensioni. Esso è sempre formato da sottili filamenti semplici (le ife) molto spesso ramificati; possono essere unicellulari o se pluricellulari vengono definiti settati. Un ordine degli *Ascomycetes* di grandissima importanza è quello delle *Aspergillales*, i cui due generi principali sono *Aspergillus sp.* e *Penicillium sp.* che comprendono un gran numero di specie indicate spesso con il nome di Muffe. I funghi possono attaccare i manufatti lapidei (insediandosi in lesioni preesistenti causate da colonizzatori autotrofi), oppure, come colonizzatori secondari, utilizzare strutture cellulari morte come fonte di carbonio.

I funghi che colonizzano le rocce possono produrre diversi tipi di degrado sia chimico che fisico. Le ife fungine penetrano nella pietra provocandone la rottura, come conseguenza dell'espansione e contrazione provocate dai cicli caldo-freddo. Il fungo, durante il suo ciclo vitale, produce sostanze acide che alterano il pH della pietra

provocando la dissoluzione delle sue componenti (Negi & Sarethy, 2019). Tra gli acidi organici corrosivi rilasciati si ricordano l'acido citrico, l'acido gluconico, l'acido lattico, l'acido ossalico, l'acido malico, l'acido fumarico. La presenza di funghi all'interno degli ipogei, non solo ha un ruolo nel biodegrado, ma è responsabile anche di problemi legati alla salute dell'uomo. Le specie fungine liberano, infatti, delle spore e delle tossine nell'aria responsabili di alcune manifestazioni cliniche (Di Carlo et al., 2016).

I Licheni. I licheni sono agenti molto diffusi almeno in condizione di scarso inquinamento dell'aria; essi sono facilmente riconoscibili per le loro caratteristiche forme macroscopiche e per colori vivaci, giallo, bianco e arancio. I licheni sono formati da una simbiosi tra un fotobionte (un'alga o un cianobatterio a volte copresenti) ed un micobionte (un fungo). La simbiosi è una coesistenza sviluppatasi tra organismi differenti ed è vantaggiosa per entrambi. Nel caso dei licheni il fungo fornisce acqua e sali minerali all'alga o al cianobatterio, mentre quest'ultimo procura al fungo le molecole organiche di cui ha bisogno. Grazie a questo consorzio i licheni sono in grado di colonizzare ambienti diversi, anche in quelli caratterizzati da condizioni climatiche più estreme. I licheni sono, dunque, organismi pionieri per eccellenza.

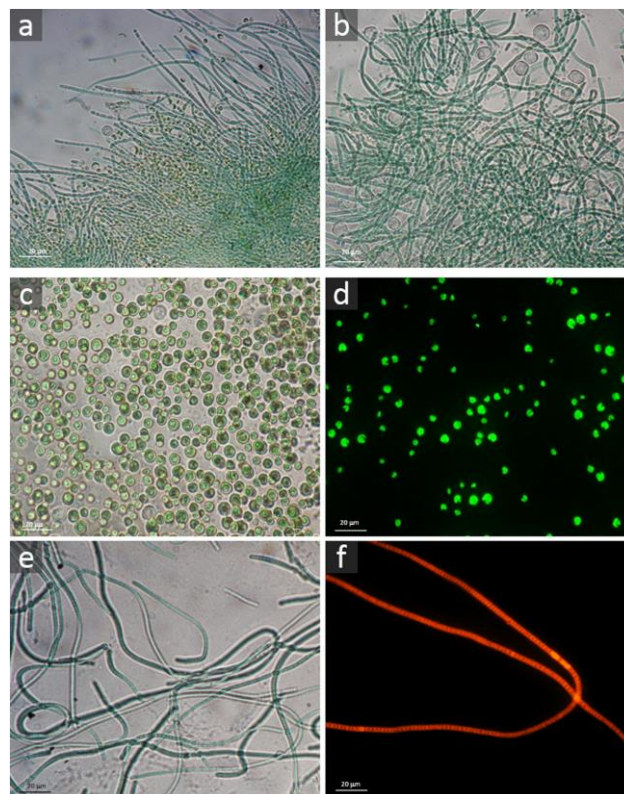
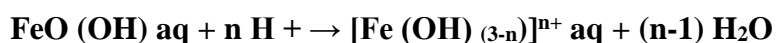


Figura 3. Immagini di biofilm su campioni di pietra: cianobatteri filamentososi insieme a microalghe verdi (a), spore fungine (b); microalghe verdi del genere *Chlorella* sp. (c, d); cianobatteri (e, f) (Gabriele et al. 2021).

1.12 ALTERAZIONI CROMATICHE PRODOTTE DALLA CORROSIONE DI METALLI

Tra le forme di degrado che interessano i materiali lapidei, di particolare rilevanza sono le alterazioni cromatiche delle superfici dovute alla diffusione di prodotti di corrosione del ferro. Tali macchie possono avere origine sia da componenti interne al materiale (ad es. minerali secondari come pirite o marcasite), che da componenti esterne, cioè elementi metallici soprammessi che si corrodono, provocando un degrado non solo di tipo estetico, ma anche chimico-fisico, difficile da rimuovere.

L'alterazione cromatica delle superfici carbonatiche dovute alla diffusione dei prodotti di corrosione del ferro, implica per prima cosa lo studio della genesi delle macchie, del loro rapporto con la matrice lapidea e, successivamente, l'individuazione di metodologie per la rimozione, attraverso procedimenti che siano ecocompatibili, efficienti e soprattutto che non compromettano l'integrità del materiale. Gli ossidi di ferro sono tra i più importanti e ubiquitari composti che si riscontrano nei fenomeni di corrosione: possono essere presenti come particelle discrete, oppure in forma di pellicole ricoprenti altri minerali (Schwertmann, 1991). In ogni caso, gli ossidi esistono sia come minerali cristallini, sia come materiali a scarso ordine cristallino, che tendono però nel tempo ad evolvere verso stati ad organizzazione strutturale più elevata, caratterizzati da maggiore stabilità. Le forme più comunemente diffuse in natura sono sia ossidi che idrossidi e ossiidrossidi di ferro, in cui il metallo è presente spesso in uno stato di ossidazione trivalente. La dissoluzione del ferro si basa fondamentalmente su tre reazioni principali che possono avvenire contemporaneamente o in sequenza: protonazione, riduzione, chelazione. La protonazione è una reazione che consiste nell'aggiunta di un protone (H^+) all'ossidrile dell'ossido di ferro con conseguente espulsione di una molecola di acqua:



Nel meccanismo proposto da Stumm e Furrer (1987), la reazione ha inizio sulla superficie lapidea, dove un atomo di Fe è coordinato ad una coppia OH/OH₂. Il gruppo OH assorbe un protone, cambiando così il gruppo FeOH₂ neutro, in un gruppo carico positivamente Fe(III)(OH₂)²⁺. Altri due protoni vengono adsorbiti, promovendo la polarizzazione e il conseguente indebolimento del legame Fe-O. Una volta che il legame con l'ossigeno è abbastanza debole, il ferro si stacca dal reticolo. L'adsorbimento di

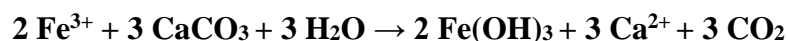
protoni sulla superficie dell'ossido è generalmente molto veloce e il distacco del ferro dal reticolo costituisce il fattore limitante.

In condizioni ambientali, la dissoluzione riduttiva è di gran lunga il meccanismo più importante in quanto ha luogo sia in sistemi biotici che abiotici. Come per la protonazione, l'entità della riduzione può essere fortemente influenzata dal legante e dal numero di protoni che possono essere adsorbiti sulla superficie dell'ossido. Il meccanismo di indebolimento dei legami strutturali tra gli atomi degli ossidi di Fe, studiato da diversi Autori, comporta la riduzione del Fe(III) a Fe(II) (Cornell & Schwertmann, 2003). Tale processo richiede il trasferimento di un elettrone, che può avvenire sia attraverso l'adsorbimento di un donatore di elettroni o tramite trasferimento di elettroni da un complesso di superficie. Di conseguenza, la riduzione è leggermente più complicata rispetto agli altri meccanismi di dissoluzione, e non può essere descritta mediante una semplice equazione di reazione. Quando il Fe(III) viene ridotto a Fe(II), la diminuzione della carica destabilizza la sfera di coordinazione facilitando il distacco del Fe(II) dal reticolo. Poiché il legante riducente è di solito una specie carica, il pH, attraverso il suo effetto sull'adsorbimento del legante, ha una forte influenza sulla velocità della dissoluzione riduttiva. È prevedibile che questa diventi più veloce all'aumentare dell'attività del riducente: più è basso il potenziale redox (Eh) del sistema acquoso, più è veloce la dissoluzione. Additivi organici e inorganici che spostano il potenziale redox verso una direzione più negativa sono in grado di accelerare la dissoluzione degli ossidi di Fe (Frenier & Growcock, 1984).

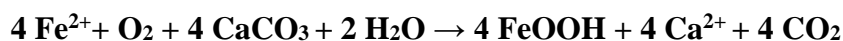
Negli ossidi e idrossidi di Fe, la carica superficiale dipende soprattutto dalla presenza dei gruppi OH legati agli atomi di Fe. La presenza di liquidi in varie forme, come ad es. pioggia, umidità relativa, nebbia, ecc., può condurre ad una interazione sia fisica che chimica con la matrice carbonatica. Dal punto di vista fisico, l'ossidazione dei minerali ferrosi all'interno della matrice cristallina, come ad esempio la Pirite, porta ad un incremento di volume degli strati superficiali, dovuto alla penetrazione dell'ossigeno nel reticolo cristallino. Nel caso di un perno in ferro, l'espansione di volume induce il ferro metallico ad estrudere atomi dallo strato superficiale, per formare un nuovo strato. Le forze che originano da queste reazioni, possono arrivare ad esercitare pressioni estremamente elevate sulle aree circostanti, con conseguente formazione di fessurazioni e polverizzazione del materiale.

Dal punto di vista bibliografico, sull'argomento "macchie" non esistono studi approfonditi, tranne lavori su trattamenti preventivi e metodi di pulizia (Bams &

Dewaelem, 2007). Molto più ricca è invece la letteratura in campo geologico, dove l'interazione tra calcite e ferro risulta ampiamente studiata (Kremenetskaya et al., 2007). Questa può essere riassunta da semplici reazioni:

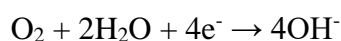


e

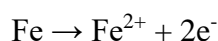


La precipitazione degli ossidi di Fe in presenza di Calcite rappresenta un importante processo e ha implicazioni anche per quanto riguarda la disponibilità di Fe per piante in terreni calcarei.

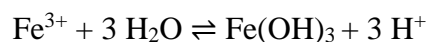
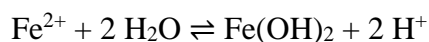
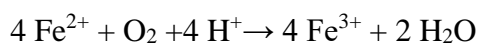
Macchie di ruggine prodotte dalla corrosione di oggetti in ferro posti in prossimità di marmi o pietre carbonatiche, come frequentemente osservato nel caso di monumenti antichi e moderni, sono state facilmente caratterizzate mediante analisi di superficie (Langerame et al., 2016), identificando tipicamente composti come la lepidocrocite, che tende a trasformarsi nel tempo in forme meglio definite, come la goethite e l'ematite (Cornell & Schwertmann, 2003). I dati riscontrati in letteratura consentono di realizzare anche una rappresentazione schematica della formazione dinamica delle macchie di ferro (Figura 4). Partendo dalla formazione di ioni ferro solubili in acqua, formati in seguito all'ossidazione del ferro metallico, e dalla formazione di soluzioni colloidali di ioni ferrici, questi possono diffondere dalla superficie della matrice carbonatica verso l'interno, attraverso gli spazi inter-granulari, i difetti e i piani di sfaldatura. Esaminando la corrosione del ferro dal punto di vista elettrochimico, si possono individuare le equazioni fondamentali che delineano le reazioni di corrosione. La reazione chiave è quella dell'ossigeno:



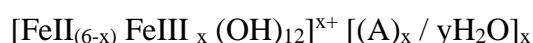
poiché si formano ioni idrossido, questo processo è fortemente influenzato dalla presenza di acidi. Infatti, la corrosione di molti metalli da parte dell'ossigeno, viene accelerata a bassi valori di pH. A fornire gli elettroni per la reazione di cui sopra è l'ossidazione del ferro che può essere descritta come segue:



Seguono poi altre reazioni redox e acido base in presenza di acqua:



Al procedere della corrosione, gli ioni ferrosi diffondono lontano e subiscono ulteriori reazioni, secondo l'umidità, pH e disponibilità di ossigeno al contorno. Se i livelli di ossigeno sono alti e il pH locale è inferiore a 6, gli ioni ferrosi possono rimanere in soluzione in quanto in soluzione acida il tasso di ossidazione da ioni ferroso a ferrico è lento. Se i livelli di ossigeno sono bassi, si possono formare composti come l'idrossido ferroso o cloruro ferroso (se presente Cl^-) che non sono particolarmente stabili; questi composti se sottoposti ad ulteriore ossidazione formano le “ruggini verdi” o “Green Rusts” (GRs). Le GRs (idrossidi di ferro verde-blu) sono fasi intermedie nella formazione di ossidi di Fe (magnetite, lepidocrocite, goethite). La formula generica per le GRs è la seguente:



dove x che varia da 0,9 a 4,2, A è un anione n-valente (tipicamente CO_3^{2-} , Cl^- o SO_4^{2-}) e y indica le quantità variabili di acqua (varia tipicamente da 2 a 4 per la maggior parte delle GRs) (Schwertmann & Fechter 1994; Legrand et al., 2004; Guilbaud et al., 2013).

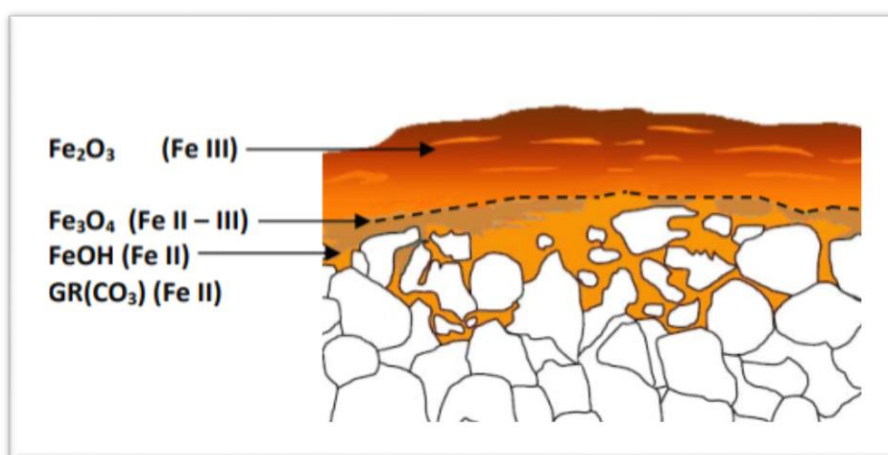


Figura 4. Rappresentazione schematica della formazione di una macchia di ferro su superfici lapidee

Un fattore importante è la predisposizione della superficie lapidea ad essere macchiata, cioè quanto i composti del ferro riescano a penetrare nel mezzo poroso. Ad esempio, marmi poco inclini a lasciarsi permeare, possono aumentare la sensibilità all'acqua in presenza di composti acidi che inducono fenomeni di solubilizzazione della calcite. In tal caso, il processo di solubilizzazione si innesca in corrispondenza dei contatti intergranulari che sono le aree più reattive per la permeazione dei prodotti di corrosione. In realtà, le problematiche connesse alla presenza degli ossidi di ferro sul materiale lapideo non riguardano il solo aspetto estetico, ma spesso anche un degrado chimico-fisico del substrato. Infatti, fratturazioni, fessurazioni e decoesione sono forme di degrado riconducibili alla presenza del ferro, conseguenti alla variazione di volume dei prodotti di corrosione (Zhao et al., 2011). Il metodo per la rimozione di queste macchie di corrosione deve essere dunque scelto in funzione del materiale costitutivo il manufatto, del suo stato di conservazione e del materiale da rimuovere, a seguito di opportune analisi *in situ* e di laboratorio. Infatti, i prodotti di corrosione che si vengono a formare durante i processi di formazione delle macchie, mostrano una variabilità legata sia alle caratteristiche del supporto che all'azione del tempo e soprattutto allo stato di speciazione e struttura cristallina dei composti del ferro.

1.13 INTERVENTI CONSERVATIVI DEL MATERIALE LAPIDEO

Già nel 1931, con la pubblicazione della Carta Italiana del Restauro e della Carta di Atene, venivano poste le premesse per un'innovativa concezione del restauro, tramite l'introduzione del concetto di "restauro conservativo", basato sulla scientificità degli interventi tesi alla salvaguardia e alla fruibilità dell'oggetto artistico (Torsello, 2005). Dall'affermazione del restauro "critico" degli anni '50 - '60 del Novecento, sancita nelle Carte di restauro (Carta di Venezia, 1964; Carta Italiana del Restauro, 1972) si è andata imponendo una prassi sempre più rispettosa del manufatto, della sua storia e dei caratteri estetici peculiari, che ha reso necessaria una adeguata preparazione storico-tecnica degli operatori (Silva, 1983). Oggi pertanto i criteri base sui quali impostare qualunque operazione di restauro e conservazione sono riassumibili nei seguenti tre punti: compatibilità, durabilità e reversibilità.

Tali criteri riguardano i materiali e i prodotti impiegati, che in alcuni casi devono, se necessario, poter essere rimossi nel tempo per essere sostituiti con altri più innovativi, come nel caso dei protettivi. In questo caso, la compatibilità fisico-chimica tra materiali

vecchi e nuovi è importante ai fini di una efficace azione di conservazione. Con lo scopo di determinare correttamente e oggettivamente i danni presenti su un manufatto lapideo, e di conseguenza i trattamenti conservativi da effettuare, sono stati stilati nel corso degli anni '80 del secolo scorso, da parte di esperti dell'Istituto Centrale del Restauro (ICR) e del CNR alcuni documenti (denominati NORMAL) che prendono in esame le differenti forme di alterazione e/o degradazione che possono essere riscontrate sui monumenti. I vari gruppi di studio hanno elaborato un elenco completo dei danni presenti su materiali lapidei naturali e artificiali, destinato alle Soprintendenze e a quanti operano nel settore del restauro e della conservazione (UNI, 2001).

Tale documento, periodicamente oggetto di revisione, presenta fra l'altro la descrizione dei metodi di restauro, le tecniche e i prodotti migliori da impiegare, individuati grazie alle specifiche conoscenze derivate dallo studio dei materiali, del loro degrado e delle cause responsabili (ICR, 1988). Purtroppo, fino a qualche decennio fa gli interventi di conservazione effettuati sui monumenti non erano documentati; questo ha rappresentato un grave danno sia perché, avendo a disposizione quelle informazioni, nei successivi restauri si sarebbe potuto intervenire in maniera mirata e consapevole, sia perché in questo modo si è persa la possibilità di conoscere il comportamento di determinati trattamenti nel tempo. Un altro fattore importante da tenere in considerazione è l'ambiente in cui "vive" il manufatto, che deve essere considerato come un sistema termodinamico che evolve continuamente nel tempo e da cui non si può prescindere per elaborare un progetto di restauro. A questo scopo sono indispensabili principalmente il rilevamento e il monitoraggio climatico: temperatura, umidità dell'aria, esposizione solare nell'ambiente circostante (irraggiamento), valutazione della presenza o meno di vegetazione nei pressi del manufatto, posizione di quest'ultimo rispetto ai venti e rispetto al mare, presenza e intensità del traffico veicolare nelle zone limitrofe all'area in cui il manufatto è collocato. Per quanto concerne il trattamento conservativo, la scelta di quello più adeguato deve essere fatta seguendo come detto tre fattori principali: la compatibilità, la durabilità e la reversibilità. È necessario, dunque, fare indagini diagnostiche accurate sullo stato di conservazione del materiale e raccogliere un certo numero d'informazioni sul materiale stesso mediante analisi chimico-fisiche, test chimici e prove meccaniche. Per selezionare poi i prodotti e i metodi applicativi più adatti bisognerà utilizzare dei provini di materiale simile a quello da trattare, per effettuare dei test preventivi, che a seguito di idonee analisi, potranno fornire preziose informazioni sulla compatibilità chimica tra i materiali, sulla durabilità, sulla profondità di penetrazione del prodotto nella

matrice e su eventuali alterazioni cromatiche. I test di laboratorio sono evidentemente importanti, ma sarebbe sempre meglio associarli a dei test *in situ*; tale operazione non è sempre di facile realizzazione poiché molto spesso si tratta di prove distruttive. Qualsiasi tipo di trattamento deve essere poi preceduto da un'operazione di pulitura della superficie in modo da rendere più efficace l'applicazione e l'adesione del prodotto. Il metodo più adatto andrà scelto in base al materiale e al suo stato conservativo, così da evitare microlesioni e modificazioni della superficie. In alcuni casi sarà necessario intervenire con un preconsolidamento prima di passare alle altre operazioni. La pulitura delle superfici deve avere in qualunque caso, esclusivamente fini conservativi e solo indirettamente estetici. Essa segue un'unica indicazione di metodo da tempo riconosciuta, ovvero il controllo, inteso come limitazione dell'azione di pulitura ad un livello ottimale, vale a dire fino al primo strato di sporco presente sulla superficie del materiale. Rispettando la "patina" a diretto contatto con la pietra si esplica un'azione conservativa, in quanto essa funge da "pelle" per il monumento proteggendolo dalle aggressioni esterne. Il processo di pulitura deve essere controllabile, graduabile, selettivo, allo scopo di assicurare il rispetto dei materiali nonché degli operatori. Quest'ultimo aspetto, tutt'altro che trascurabile, è oggetto di studio solo da pochi anni. I prodotti utilizzati nell'ambito dei restauri, infatti, possiedono alcune caratteristiche di pericolosità. Per quanto riguarda la protezione dopo la pulitura, essa ha lo scopo di diminuire il contatto con gas, vapori acidi e acqua, frenando la loro penetrazione all'interno dei materiali. Gli strati di materiale protettivo devono essere, infine, reversibili in quanto la loro caratteristica peculiare è la sostituibilità una volta deteriorati: essi sono spesso denominati "strati di sacrificio" e devono essere rinnovabili dopo un certo numero di anni.

1.14 LA PULITURA DELLE SUPERFICI E IL RISCHIO CHIMICO

Il valore di antichità e di autenticità di un'opera d'arte è dato, secondo John Ruskin (2021), dalla "patina nobile" che la ricopre, segno del tempo che testimonia la sua vita e la sua individualità materiale (Pirazzoli, 1988). Il dibattito sul concetto di patina ad oggi non si è ancora esaurito, ma la definizione universalmente accettata è quella di una "alterazione strettamente limitata a quelle modificazioni naturali della superficie dei materiali non collegabili a manifesti fenomeni di degradazione e percepibili come una variazione del colore originario del materiale". Si delimita quindi una netta distinzione

tra patina, testimonianza del tempo, e incrostazioni, sporco o macchie dovute all'incuria dell'uomo. In quest'ultimo caso è necessaria la pulitura, ovvero quel processo che attraverso la rimozione delle alterazioni artificiali o accidentali, conduce alla rivalutazione della patina nobile.

La pulitura delle superfici è l'operazione più comune ed anche la più delicata dell'intervento di restauro; spesso è necessario fare uso di sostanze chimiche, comunque caratterizzate da una certa tossicità per la salute umana, e di prodotti che prevedono l'impiego di solventi organici, in qualità e quantità differenti in base alla superficie su cui si opera. L'utilizzo dei solventi organici è stata pratica comune: efficacia e rapidità di azione, nonché il basso costo e l'apparente semplicità di utilizzo, hanno rappresentato, soprattutto per il restauratore privato, requisiti così inderogabili da non prendere nemmeno in considerazione metodi alternativi che invece presentano numerosi vantaggi, sia perché permettono una migliore selettività nei confronti dei materiali, e quindi riducono il rischio per l'integrità dell'opera d'arte, sia perché consentono una forte riduzione dei rischi per l'ambiente di lavoro. L'uso di prodotti tossici deve, pertanto, essere il più limitato e razionale possibile e se esistono le condizioni di compatibilità con l'opera da trattare, l'utilizzo di metodi alternativi deve rappresentare una scelta obbligata.

C'è poi da considerare la difficoltà di stabilire a priori il comportamento chimico-fisico delle sostanze che vengono utilizzate e le interazioni nel tempo con il substrato sulle quali vengono adoperate: questo dipende dalla loro natura e dallo stato fisico in cui si trovano. Non vi è dubbio che la normativa prodotta negli ultimi dieci anni abbia contribuito in positivo a modificare radicalmente l'atteggiamento nei confronti dell'ambiente di lavoro e del modo di lavorare. Gli studi e le ricerche hanno permesso un notevole sviluppo di tecniche alternative, così come hanno permesso di mettere al bando numerosi prodotti pericolosi. Le metodologie e le tecniche operative finalizzate alla prevenzione e al recupero dei danni causati dal deterioramento delle opere d'arte hanno permesso di valutare i rischi in cui incorrono gli operatori del settore. In questo momento uno dei punti cardine su cui si dovrebbe puntare per una profonda trasformazione e inversione di rotta nel mondo del restauro dovrebbe essere l'applicazione del principio di sostituzione particolarmente importante in un tipo di lavorazione non a ciclo chiuso. Questi principi dovrebbero essere maggiormente applicati anche in seguito all'approvazione del regolamento europeo sulle sostanze chimiche, il REACH (Registration, Evaluation, Authorisation and restriction of Chemicals), che rafforza il concetto dell'informazione lungo la filiera di produzione di una sostanza, prevedendo la

elaborazione di un “Chemical Safety Report” (Galert & Hassold, 2021). La sostituzione di sostanze pericolose per la salute dell’operatore e dell’ambiente, laddove risultasse possibile, determina, oltretutto, una maggiore maneggevolezza nello smaltimento dei rifiuti prodotti durante le operazioni di restauro. Il corretto smaltimento di questa tipologia di rifiuti rappresenta, infatti, un problema di non poco conto e spesso avviene in maniera poco congrua, con ulteriori danni all’ambiente.

Senza dubbio gli studi e le ricerche realizzati hanno portato ad eliminare dal mercato numerosi prodotti pericolosi, ma la scommessa ancora da vincere è il raggiungimento di livelli più elevati di tutela della salute di chi lavora in questo campo e dell’ambiente. È importante quindi operare per avere sia da parte della ricerca, sia da parte del sistema normativo e della formazione, gli strumenti adeguati per dare ulteriore slancio al settore del restauro nel nostro Paese, che potrebbe aggiungere all’elevato standard di professionalità, anche un maggiore livello di innovazione e di responsabilità.

1.15 ENZIMI E BENI CULTURALI

Nel settore dei Beni Culturali lo studio di attività enzimatiche riveste grande importanza sia per aspetti positivi che negativi. Anche se in questi ultimi anni la biotecnologia ha fornito tecniche innovative utili nel campo dell’analisi del biodeterioramento, gli enzimi prodotti da organismi biodeteriogeni possono rivelarsi dannosi, in quanto catalizzano la “digestione” di diversi materiali organici che costituiscono i supporti di opere d’arte, come ad esempio oli, cellulosa, vernici, etc. Al contrario, diversi ceppi batterici, con specifiche attività cellulari, sono stati utilizzati per rimuovere resine organiche (*Pseudomonas stutzeri*), croste nere (*Desulfovibrio vulgaris*), strati organici sovrapposti (proteine, oli, amidi) dalla superficie di opere artistiche (Bellucci, et al., 1999; Cappitelli et al., 2006).

In questo ambito, una delle attività di ricerca nell’ambito del Dottorato ha riguardato la eliminazione di macchie di corrosione su materiali lapidei, sfruttando sistemi naturali per la rimozione di ossidi di ferro, senza danno per la matrice calcarea. Prendendo spunto dalle capacità di alcune proteine di chelare il ferro e in linea con la promozione di materiali e metodologie “green”, sono stati individuati sistemi naturali in grado di sostituire composti chimici di sintesi con benefici ecologici tangibili. La scelta è ricaduta sia su chelanti naturali o utilizzati in ambito farmaceutico, sia su proteine ampiamente diffuse in natura, come la Lattotransferrina (Ltf) e l’Ovotransferrina (Ovt), entrambe

appartenenti alla famiglia delle Transferrine, proteine importanti per il trasporto del ferro all'interno dell'organismo (Hirose, 2000).

L'Ovotransferrina o Conalbumina (Ovt), è la seconda proteina più abbondante nel bianco d'uovo dopo l'Ovalbumina (~12-13% delle proteine totali dell'uovo). È un potente agente antimicrobico naturale e il suo ruolo consiste nel trasporto del ferro dall'intestino ai vari tessuti dell'organismo. Nell'albume il suo significato è meno chiaro, nonostante l'Ovotransferrina abbia la capacità di legare tenacemente il ferro, riducendo così la quota libera a disposizione dei batteri per una loro moltiplicazione (Abdallah & Chahine, 1999). L'Ovotransferrina è una glicoproteina monomerica composta da 686 aminoacidi e 15 legami disolfuro, avente peso molecolare 76 kDa e un punto isoelettrico di 6,1 (Wu & Acero-Lopez, 2012). Esistono due forme proteiche dell'Ovt: l'apo-ovotransferrina è priva di ferro, mentre l'olo-ovotransferrina è satura di ferro. Una caratteristica particolare è quella di essere dotata di molti ponti disolfuro (chelanti per il ferro), fatto questo di grande interesse dal momento che i ponti disolfuro in una proteina raramente vengono persi. La molecola ha una struttura bilobulare (Figura 5) in cui i due domini sono rappresentati dall'estremità N e dall'estremità C della sequenza. I lobi N e C mostrano un'omologia di sequenza del 38% circa. Quindici ponti disolfuro stabilizzano la struttura. Sei di questi sono conservati in entrambi i lobi, mentre tre sono presenti solo nel lobo C, conferendo ai lobi una diversa affinità per il metallo. Ogni lobo ha la capacità di legare in modo reversibile uno ione ferrico Fe^{3+} con un anione carbonato CO_3^{2-} . Sebbene ogni lobo mostri un'omologia ad alta sequenza, essi hanno diverse proprietà leganti verso il ferro. Questa differenza è dovuta alla presenza, nel lobo C, di un legame disolfuro interdominio extra che conferisce meno flessibilità e probabilmente meno affinità verso lo ione Fe^{3+} (Giansanti et al., 2015).

La Lattotransferrina (Ltf), nota anche come Lattotferrina, è una glicoproteina globulare multifunzionale solubile in acqua, che possiede due siti di legame per lo ione ferrico Fe^{3+} . È presente nel latte e nel colostro ad una concentrazione di circa 10 mg/mL ed è la seconda proteina più abbondante nel latte dopo le caseine. La proteina è composta da 703 aminoacidi e ha un peso molecolare di 77-80 kDa. Ha una singola catena polipeptidica, che si ripiega in due lobi globulari (regioni terminali C e N) collegati da un α -elica che fornisce flessibilità alla molecola. Entrambi i lobi, N a sinistra e il lobo C a destra, sono divisi in quattro domini, etichettati N1, N2, C1, C2, che creano siti di legame dove gli ioni di ferro vengono a trovarsi in profondità nelle fessure interdominali. In Figura 6 è

illustrata la struttura della proteina: le sfere rosse rappresentano i due ioni ferrici in ciascun sito legante.

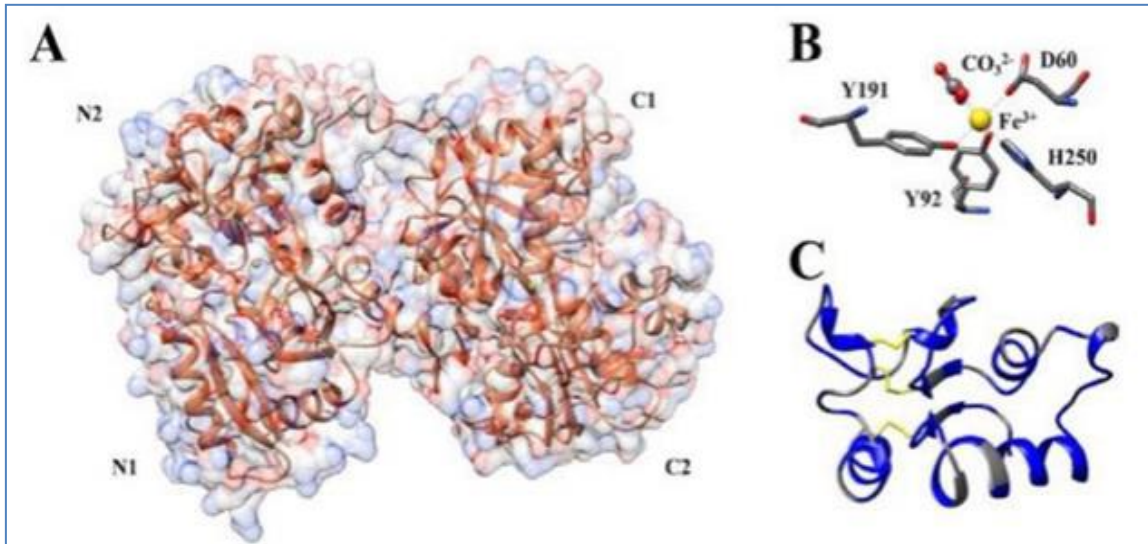


Figura 5. Rappresentazione della struttura della olo-OVT. Gli amminoacidi coinvolti nel legame con il ferro (sfera gialla) sono mostrati come bastoncini. I tre legami disolfuro sono rappresentati in giallo.



Figura 6 Struttura tridimensionale della olo-Ltf

La Ltf ha una forte affinità di legame per il ferro ed è l'unica proteina della famiglia delle Transferrine in grado di trattenere il ferro in un ampio intervallo di pH, fattore particolarmente importante nei siti infiammatori, dove il pH può diminuire al di sotto di

4,5 a causa dell'attività metabolica di batteri. La proteina svolge anche un ruolo importante in diverse funzioni immunologiche; ad esempio, controlla la crescita di batteri diminuendo il livello di ferro libero, fattore essenziale per la crescita nei batteri ferro-dipendenti. L'elevata capacità chelante delle due proteine, ha rappresentato dunque l'elemento di stimolo per esplorare la loro effettiva applicabilità nella eliminazione di macchie di ferro su superfici lapidee nella prospettiva dell'utilizzo di prodotti naturali nelle operazioni di pulitura e della riduzione di rifiuti tossici.

CAPITOLO 2 – PARTE SPERIMENTALE

2.1 TECNICHE STRUMENTALI

Le tecniche strumentali utilizzate nell'ambito del lavoro di tesi sono state prevalentemente rivolte alla caratterizzazione delle superfici dei materiali di studio, per valutare sia le modificazioni indotte da fenomeni di degrado, sia l'efficacia di sistemi innovativi di trattamento e rimozione, soprattutto di prodotti di corrosione del ferro. Tecnica di elezione è stata, in particolare, la Spettroscopia Fotoelettronica a Raggi X (XPS).

2.2 SPETTROSCOPIA FOTOELETRONICA A RAGGI X (XPS)

La spettroscopia di fotoelettroni a raggi X (X-Ray Photoelectron Spectroscopy), nota anche con l'acronimo ESCA (Electron Spectroscopy for Chemical Analysis), è una tecnica che permette di ricavare informazioni chimiche relative ai primi strati superficiali (da 5 a 10 nanometri) di un materiale. Con questa tecnica si ottengono informazioni sugli elementi chimici presenti (analisi qualitativa), sul loro stato chimico (analisi di speciazione) e sulle relative percentuali (analisi quantitativa). La spettroscopia XPS si basa sulla teoria dell'effetto fotoelettrico (Figura 6), introdotta da Einstein e in seguito sviluppata da Kai Siegbahn, premio Nobel per la fisica nel 1981, per il suo contributo allo sviluppo della spettroscopia degli elettroni ad alta risoluzione. Irradiando la superficie di un materiale con raggi X con energia pari a $E = h\nu$, si ha l'emissione di elettroni dei livelli energetici più interni; h è la costante di Plank; ν la frequenza della radiazione nella regione dei raggi X (fra 30 PHz – 300 EHz). Gli elettroni negli atomi si trovano su orbitali caratterizzati da una determinata energia di legame (BE = Binding Energy). Misurando l'energia cinetica (KE = Kinetic Energy) degli elettroni fotoemessi si può determinare la BE, mediante la seguente formula:

$$KE = h\nu - BE \quad (1)$$

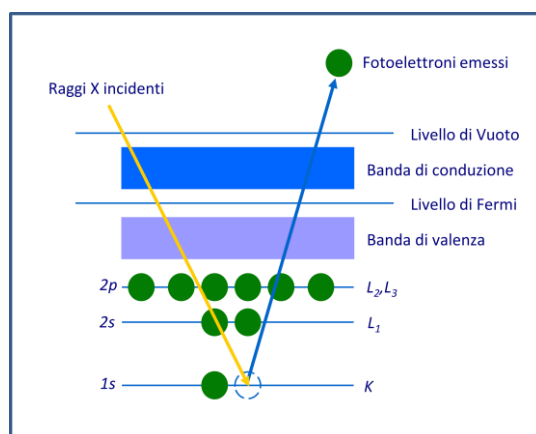


Figura 6. Effetto fotoelettrico

Nell'equazione (1), KE e BE sono riferite al livello di vuoto. Nella pratica sperimentale, tuttavia, risulta più utile riferire queste grandezze al livello di Fermi (livello energetico massimo di una particella posta all'interno di un sistema di particelle identiche soggetto alla statistica di Fermi-Dirac e alla temperatura dello zero assoluto). Si introduce, allora, la funzione lavoro Φ pari alla differenza di energia fra il livello di vuoto (E_V) e il livello di Fermi (E_F):

$$\Phi = E_V - E_F \quad (2)$$

Quando esiste un buon contatto elettrico fra campione conduttore e spettrometro, si genera una differenza di potenziale nella zona di contatto. Questa differenza di potenziale porta i livelli di Fermi di campione e spettrometro ad eguagliarsi: si può allora fare riferimento soltanto alla funzione di lavoro dello spettrometro.

Quest'ultima può essere determinata tramite calibrazione con elementi la cui energia di legame riferita al livello di Fermi per un dato orbitale è nota (ad esempio, Au $4f_{7/2}$, Cu $2p_{3/2}$, Ag $3d_{5/2}$). Man mano che gli elettroni vengono espulsi, sulla superficie del campione si genera un caricamento elettrostatico. Nel caso di campioni conduttori, questo caricamento è trascurabile, poiché gli elettroni emessi sono continuamente rimpiazzati da altri elettroni attraverso il buon contatto elettrico fra campione e spettrometro. Nel caso di semiconduttori e/o isolanti, invece, la velocità con cui gli elettroni sono emessi per effetto fotoelettrico è superiore alla velocità con cui essi vengono rimpiazzati, e si genera un caricamento superficiale non trascurabile S . Per determinare il valore di S si utilizza un riferimento interno al campione stesso e si correggono tutte le energie di legame, in base a valori noti di energia di legame del riferimento scelto. Considerando quindi il caricamento superficiale del campione e la funzione lavoro, è possibile riscrivere l'equazione (1) di Einstein come segue:

$$BE_F = h\nu - KE - (\Phi_S + S) \quad (3)$$

I fotoelettroni emessi possono subire una serie di urti anelastici con gli atomi e le molecole del campione perdendo energia tale da non poter fuoriuscire da esso. Solo gli elettroni provenienti dagli strati superficiali del materiale possono essere dunque emessi senza perdite significative di KE.

Per questo motivo la tecnica XPS è considerata una tecnica di analisi di superficie. Gli elettroni provenienti dagli strati più interni subiscono urti anelastici all'interno della matrice solida e, se riescono a giungere all'analizzatore, lo fanno con energia cinetica inferiore, contribuendo al rumore di fondo (background). Gli elettroni una volta raccolti e analizzati, daranno luogo ai picchi fotoelettronici caratteristici di ogni elemento e del suo intorno chimico.

Gli spettri XPS riportano l'intensità degli elettroni emessi in funzione della loro energia cinetica (o di legame). Quando la sorgente dei raggi X non è monocromatica, la componente del background che domina lo spettro a basse energie di legame è generata dalla radiazione di Bremsstrahlung, che riesce ad attraversare la finestra di alluminio interposta come filtro tra la sorgente e il campione da analizzare.

L'acquisizione di uno spettro completo, detto "wide", su tutto l'intervallo di energia cinetica esplorabile, consente di eseguire una analisi qualitativa del campione, attraverso l'assegnazione dei picchi fotoelettronici.

Si acquisiscono poi gli spettri "dettagliati" nelle regioni dei segnali di interesse, con una risoluzione spettrale dieci volte superiore a quella utilizzata per gli spettri completi. In questo modo, si riesce ad apprezzare lo spostamento di energia dovuto all'intorno chimico e/o allo stato di ossidazione degli elementi presi in esame, e quindi ad eseguire analisi di speciazione dei componenti del campione analizzato.

In uno spettro XPS, sovrapposte e/o associate al background, compaiono strutture primarie, derivanti dall'eccitazione diretta da parte dei raggi X incidenti, e strutture secondarie, prodotte da fenomeni paralleli all'eccitazione diretta, anch'esse di utilità nell'interpretazione spettrale.

La struttura di uno spettro XPS, pertanto, risulta costituita da:

- **Strutture Primarie** : picchi dovuti alla fotoemissione di elettroni dagli orbitali interni e agli elettroni di valenza.

- Strutture Secondarie; processi di shake-up e shake-off, multiplet splitting e picchi fantasma.
- Picchi dovuti all'emissione Auger (*Auger Electron Spectroscopy*, AES).

Quando un elettrone viene emesso da un orbitale, la lacuna elettronica che si genera può essere riempita da un elettrone proveniente da un orbitale più esterno. L'energia liberata in questo processo può trasformarsi in una radiazione, dando luogo al fenomeno della fluorescenza, oppure può provocare l'emissione di un terzo elettrone, detto "Auger" dal nome del suo scopritore (Pierre Victor Auger). L'energia di un elettrone Auger non dipende dalla sorgente di raggi X usata, ma soltanto dalla differenza di energia tra i tre orbitali coinvolti nella transizione.

Nello spettro XPS sono generalmente presenti segnali secondari la cui identificazione rende più completa l'interpretazione dello spettro e la conseguente analisi qualitativa.

Tra i segnali secondari importanti sono da considerare i picchi shake-up e i multiplet splitting.

I picchi shake-up, satelliti dei picchi principali, sono importanti per comprendere lo stato di ossidazione dell'elemento in esame. Infatti, prima di lasciare l'atomo, l'elettrone foto-emesso dal livello di core, può a sua volta eccitare un elettrone di valenza trasferendogli parte della sua energia cinetica, per promuoverlo ad un livello superiore vuoto (shake-up) se la struttura elettronica lo permette. L'elettrone foto-emesso perde energia e fornirà segnali a più bassi valori di energia cinetica rispetto al picco principale. L'intensità di tali segnali è generalmente molto minore rispetto a quella del picco principale, anche se in alcuni casi può essere $\frac{1}{4}$ o $\frac{1}{2}$ del picco principale.

I multiplet splitting si generano quando quando l'atomo fotoemittente ha uno o più elettroni spaiati negli orbitali di valenza e la ionizzazione di un elettrone di core dà luogo a più di uno stato finale. Queste strutture si originano dall'interazione dello spin dell'elettrone rimasto spaiato, a seguito della fotoemissione, con gli spin degli elettroni appartenenti a livelli elettronici superiori. Ciò porta alla formazione di livelli elettronici ad energia diversa e quindi alla generazione di picchi multipli.

Per un primo approccio qualitativo, come già detto, può essere utilizzato lo spettro "wide", ossia uno spettro allargato a tutta la regione, che permette di individuare gli elementi presenti nel campione, attraverso la valutazione delle energie dei picchi ottenuti.

Per ogni elemento è possibile scegliere il picco più intenso e acquisire a maggior risoluzione la regione selezionata. Le regioni individuate sono esaminate in maggior

dettaglio effettuando un “*curve fitting*”, al fine di ottenere ulteriori informazioni qualitative (stati chimici) e ricavare informazioni quantitative (aree di picchi). L’ottimizzazione di un *curve-fitting* si ottiene tramite il metodo dei minimi quadrati non lineare (Non Linear Least Square Refinement), che richiede l’introduzione di alcuni parametri iniziali, come posizione, altezza e ampiezza a metà altezza del picco e i relativi parametri di background per adattare la curva calcolata a quella sperimentale.

Le aree dei picchi sono trasformate poi in percentuali atomiche attraverso una procedura di normalizzazione che tiene conto sia del numero di accumuli dello spettro, sia dei fattori di sensibilità (SF) appropriati per lo spettrometro utilizzato.

Nel presente lavoro, il software utilizzato per l’analisi degli spettri è stato il Googly che permette di analizzare sia i picchi fotoelettronici, che il background associato a ciascuno di essi (Castle et al., 2000; Castle & Salvi, 2001). L’interpolazione dei dati sperimentali è stata eseguita tramite una funzione di Voigt. Quest’ultima è una combinazione della funzione Lorentziana, attraverso la quale si tiene conto del profilo naturale del picco, legato al tempo di vita della lacuna fotoelettronica, e della funzione Gaussiana, che permette di considerare l’allargamento dovuto a fattori strumentali quali la larghezza della riga della sorgente e la risoluzione dell’analizzatore.

In tal modo è possibile ottimizzare i picchi e i loro relativi background. Il software Googly, inoltre, è in grado di riconoscere automaticamente i picchi satelliti. Le assegnazioni di picco (incertezza +/- 0,2 eV) si riferiscono anche a dati di letteratura e al database di riferimento standard NIST (2012).

Le aree dei picchi sono convertite poi in composizione atomica percentuale (At %) con procedure e fattori con sensibilità appropriata (SF) per assicurare il corretto bilancio di massa elementare, nei limiti della precisione della tecnica (Briggs & Seah, 1992; Briggs & Grant, 2003; Salvi et al., 2012).

Tutte le analisi XPS sono stati condotte con lo spettrometro XPS PHOIBOS 100-MCD5 a doppio anodo (Mg K α e Al K α) del Dipartimento di Scienze – Università della Basilicata (Figura 7).

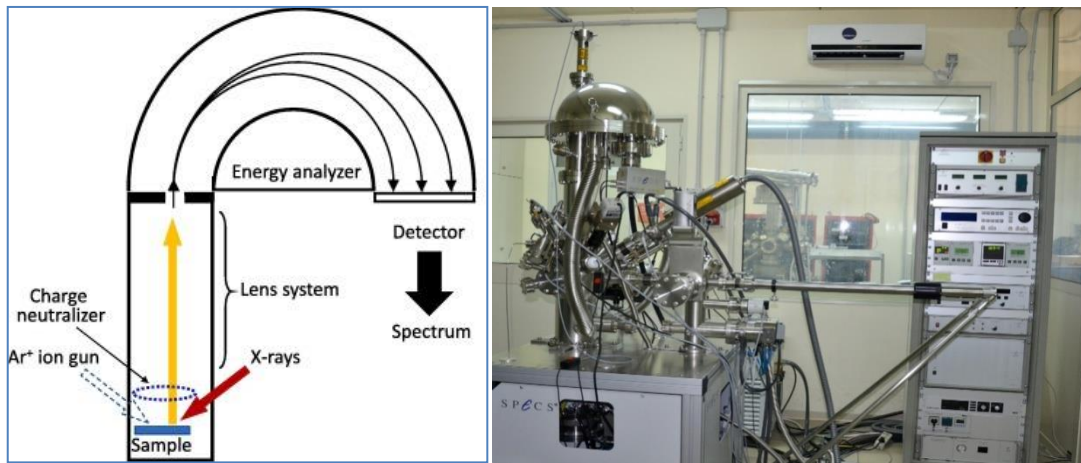


Figura 7. Rappresentazione schematica dello spettrometro XPS (a sinistra); lo spettrometro Phoibos 100-MCD 5 (a destra)

Lo spettrometro era equipaggiato con un detector multi channel che permette di lavorare ad alta risoluzione laterale (e in energia), mantenendo sensibilità elevate nel conteggio elettronico. Le caratteristiche dello strumento erano:

- sistema integrato di pompaggio per un ultra alto vuoto (UHV) e centralina di raffreddamento;
- analizzatore provvisto di un meccanismo per la selezione delle fenditure di ingresso e di uscita e di un sistema di lenti che permette quattro principali modalità operative: High and Medium Magnification (small areas: diametro spot fino a circa 100 μm), Large e Medium area per studi ad angolo (in depth profile);
- software SPECS-LAB per l'acquisizione e l'elaborazione on spot degli spettri;
- modalità di acquisizione FRR (Fixed Retarding Ratio, $I \propto KE$) e FAT (Fixed Analyzer Transmission, $I \propto 1/KE$), di preferenza utilizzate per l'analisi qualitativa e quantitativa, rispettivamente.

Con l'ausilio di un "laser pointer" combinato a una videocamera è stato possibile selezionare dell'area del campione da analizzare. Gli spettri sono stati acquisiti con la sorgente Mg $K\alpha$ (1253.6 eV) operativa a 10 kV e 100 mA, in modalità 'medium area' con uno *spot* laterale di ca. 2 mm. Gli spettri wide sono stati acquisiti in tutto l'intervallo di KE esplorabile dalla sorgente a raggi-X (100-1500 eV); quando necessario per assicurare un'analisi qualitativa più accurata, è stata utilizzata per confronto anche la sorgente Al $K\alpha$, leggermente più energetica (1486.6 eV). L'energia di passo E_0 (energia di ingresso degli elettroni nell'analizzatore) era di 20 eV per la modalità FAT. mentre il fattore di ritardo per la modalità FRR era $B=30$ (con $B=(KE-Wf)/E_0$). In Figura 8 è riportata una rappresentazione schematica del funzionamento dello strumento.

Gli spettri dettagliati sono stati acquisiti in modalità FAT, con E_0 e ampiezza di canale pari a 9 eV e 0.1 eV, rispettivamente, mentre il cosiddetto “dwell time”, il tempo di “raccolta” degli elettroni raccolti è stato sempre di 0.5 secondi. Per gli spettri wide è stata effettuata una sola scansione, mentre per le regioni selezionate per gli spettri dettagliati sono state eseguite più scansioni, quelle necessarie per il raggiungimento di un buon rapporto segnale/rumore.

Tutte le aree dei picchi ottenuti via “curve-fitting” sono state normalizzate per il fattore di sensibilità (FS) associato all’orbitale dell’elemento in esame, mentre le energie di legame (BE), rappresentate dalla posizione del picco principale, sono state corrette per lo spostamento spettrale indotto dal caricamento elettrostatico superficiale del campione (non conduttore). I valori di BE delle regioni dettagliate presentavano un’incertezza strumentale di ± 0.1 eV pari all’ampiezza di canale delle acquisizioni. L’incertezza si estendeva a ± 0.3 per le BE di picchi non ben risolti negli spettri individuati mediante curve-fitting. Tutti i picchi comunque sono stati associati alle varie specie chimiche per confronto con il database NIST, riferimenti bibliografici e con i dati ricavati dalle analisi di composti standard acquisiti con lo spettrometro Phoibos.

2.3 MICROSCOPIA ELETTRONICA A SCANSIONE SEM

Le analisi in microscopia elettronica a scansione per vari campioni in esame sono state effettuate presso il CNR – IMAA (Istituto di Metodologie per l’Analisi Ambientale del Consiglio Nazionale delle Ricerche, Tito Scalo, Potenza) utilizzando un Microscopio Elettronico a Scansione con sorgente ad Emissione di campo (FESEM), modello Zeiss *Supra 40*, equipaggiato con Sistema di microanalisi in Dispersione di Energia (EDS) Oxford INCA *Energy 350* e detector X-act SDD (Silicon Drift Detector) LN2-free (Figura 8).



Figura 8. Il microscopio con sorgente ad emissione di campo Zeiss *Supra 40* (CNR-IMAA)

Questo strumento permette di ottenere immagini ad alta risoluzione (nanometrica) utilizzando un detector “in-lens” degli elettroni secondari. Per la caratterizzazione chimica e morfologica di provini di marmo utilizzati nello studio per la rimozione di ossidi di ferro, una piccola porzione (4 cm²) del campione è stata fissata sullo stub in alluminio (12 mm in diametro), utilizzando un biadesivo in grafite, successivamente ricoperto con uno strato di grafite per renderne conduttiva la superficie. Trattandosi, infatti, di campioni lapidei non conduttivi, la superficie agisce come una trappola per elettroni. L’accumulo di elettroni sulla superficie viene definita “charging” e crea delle aree bianche sul campione. Per questo motivo, per ottenere un’immagine di elevata qualità, è stata effettuata l’operazione di *metallizzazione con grafite*. La superficie resa conduttiva fa sì che gli elettroni del fascio primario, che colpiscono il campione, siano scaricati a massa e non carichino elettricamente il campione stesso.

Per ciascun campione sono state analizzate diverse aree a diversi ingrandimenti, utilizzando una tensione di accelerazione di 15 kV e apertura da 60 µm. Mediante SEM sono state ottenute immagini sia dagli elettroni secondari, che danno informazioni sulla morfologia superficiale, sia dagli elettroni retro diffusi attraverso cui è possibile riconoscere differenze nella composizione elementare del campione. Con il sistema di microanalisi EDX è stato, inoltre, possibile marcare tali differenze attraverso l’acquisizione degli spettri RX ottenuti puntualmente sulla superficie del campione.

2.4 MICRO-DIFFRAZIONE A RAGGI X

L’analisi di diffrazione di raggi X micro (µXRD) è una tecnica di analisi strutturale che consente l’esame di aree molto piccole di campione. Come la strumentazione XRD convenzionale, la µXRD si basa sulla doppia natura onda/particellare dei raggi X per ottenere informazioni sulla struttura dei materiali cristallini. A differenza dell’XRD convenzionale, che ha una tipica risoluzione spaziale che varia da diverse centinaia di micrometri fino a diversi millimetri, la µXRD utilizza l’ottica a raggi X per focalizzare il raggio di eccitazione su un piccolo punto sulla superficie del campione in modo da analizzare con elevata sensibilità piccole caratteristiche del campione. In questo lavoro, le analisi in diffrazione a raggi X sono state effettuate con microdiffrattometro X Rigaku D-max Rapid presso il CNR-IMAA, munito di monocromatore di grafite, rivelatore imaging plate, collimatori intercambiabili con diametro da 0.01 a 0.8 mm, microscopio e

portacampioni motorizzato con movimenti di rivoluzione (angolo Omega) e rotazione (angolo Phi) (Figura 9).

Con l'utilizzo di tale tecnica sono state eseguite analisi su campioni di materiale lapideo. Le analisi sono state effettuate con collimatore di 0.3 mm di diametro, tempo di raccolta di 15 minuti, angolo Omega e angolo Phi fissi, fatta eccezione per un'analisi in cui Phi è stato fatto oscillare di 20°. Altre analisi sono state effettuate con collimatore di 0.1 mm di diametro, tempo di raccolta di 3 ore: un'analisi con angoli Omega e Phi fissi, l'altra con Omega fisso e Phi oscillante di 135°. I risultati mediati sono stati ottenuti come immagini bidimensionali. In seguito si è proceduto alla conversione in diffrattogrammi I-2θ tramite il software Rigaku R-Axis Display.



Figura 9. Il microdiffrattometro X Rigaku D-max Rapid (CNR-IMAA)

2.5 ANALISI SPETTROCOLORIMETRICA E MICROSCOPIA DIGITALE

Poiché il colore indica una proprietà fisica degli oggetti legata ad una particolare esperienza dell'osservatore, che riguarda in particolare la percezione visiva, per ottenere una quantificazione univoca e accurata di tale parametro si deve ricorrere alla spettrocolorimetria che misura il colore e lo identifica mediante una terna di numeri e/o un curva di riflettanza. Si misura in sostanza la luce riflessa da un oggetto, riferendosi a degli standard di calibrazione internazionali. In questo lavoro è stato adottato come riferimento il sistema CIELAB (Comission Internationale de l'Eclairage, 1986, 1995) ovvero uno spazio colorimetrico tridimensionale definito dalle coordinate cromatiche $L^*a^*b^*$, in cui L^* esprime la chiarezza (Lightness), mentre a^* e b^* definiscono la tinta di un colore. Lo spazio CIE $L^*a^*b^*$ viene proposto come spazio uniforme. La coordinata L^* va, per convenzione, da 0 (luminosità nulla) a 100 (luminosità massima); a^* e b^* rappresentano le due gamme di colori che vanno rispettivamente dal verde al rosso e dal blu al giallo ($-a^*$ = verde; $+a^*$ =rosso; $-b^*$ =blu; $+b^*$ =giallo).

Lo strumento utilizzato per l'analisi colorimetrica su provini di marmo macchiati con ruggine è stato uno spettrocolorimetro Konica Minolta CM-2600d del Dipartimento di Chimica, dell'Università "La Sapienza di Roma", impostato con i seguenti parametri di misura:

- Gamma di lunghezze d'onda spettrali tra 360 nm e 740 nm, con una risoluzione di 10 nm.
- CIE Standard Illuminant D65, dove il pedice 65 indica la temperatura di colore apparente espressa in centinaia di gradi Kelvin, ovvero un bianco che simula la luce diurna media (UNI, 2007).
- Osservatore a 10°: si riferisce alla possibilità di confrontare aree che sottendono all'incirca 10° di arco, con un' area di misura sensibile pari a 8 mm.

Le curve di riflettanza sono state utilizzate, in particolare, per valutare su provini di marmo la rimozione delle macchie da ossidi di ferro dopo trattamento con opportuni chelanti. In ogni area trattata sono state effettuate 12 misurazioni e calcolato il valore medio. La variazione di colore è stata valutata con un microscopio digitale portatile, Dino-Lite AM4815ZT, e le microfoto acquisite prima e dopo i trattamenti sono state elaborate con il software per analisi delle immagini "Image J" (<https://imagej.nih.gov/ij/index.html>). Occorre specificare che il microscopio Dino-Lite non ha un illuminante standard e geometrie di illuminazione/rilevazione costanti e quindi la misura di colore non è in valore assoluto in coordinate CieLab ma serve per fare misure di variazione del colore. Utilizzando il plug-in del profiler RGB (Red/Green/Blue) per l'elaborazione del colore, è stato possibile ottenere istogrammi dei valori RGB medi dei singoli pixel, utili per valutare le variazioni cromatiche relative alla rimozione degli ossidi di ferro.

2.6 SITI DI STUDIO E PRELIEVO DEI CAMPIONI

Nell'ambito del progetto di dottorato, i siti di studio e campionamento hanno riguardato due chiese rupestri di interesse storico-culturale presenti nel territorio di Matera (Bonomo et al., 2017). La prima è stata la Chiesa di San Pietro Barisano, perfetto esempio della tipica struttura architettonica dei Sassi di Matera. La chiesa ha una facciata in tufo con l'interno quasi completamente scavato (Figura 10). La chiesa risale all'anno

mille ed era conosciuta in passato col nome di *San Pietro in Veteribus*. La facciata, che oggi si presenta, risale però al 1755 anno in cui la chiesa fu ristrutturata e in parte modificata. La facciata consta di tre portali architravati, con il centrale più grande, due finestre ovali e un insolito rosone quadrilobato. La chiesa è stata recentemente restaurata in quanto, dopo lo sfollamento dei Sassi negli anni 50' del secolo scorso, ha subito un lungo periodo di abbandono e decadenza, subendo furti e atti vandalici. L'interno è costituito da tre navate divise da imponenti pilastri scavati che sorreggono archi a tutto sesto e consta di sei altari anch'essi ricavati dal tufo. L'altare maggiore è settecentesco ed è in legno dorato. Nella navata destra da notare una piccola apertura vicino al primo altare dedicato a San Giuseppe: è un vano risalente alle modifiche quattrocentesche che nel 700 fu murato ed utilizzato come ossario. Durante gli ultimi restauri, il muro è stato rimosso con le moltissime ossa conservate, portando alla luce antichi affreschi paradossalmente protetti da questa muratura.



Figura 10. *La chiesa di San Pietro Barisano con la facciata e l'interno.*

San Pietro Barisano ospita a livello inferiore gli spazi ipogei (Figura 11) denominati in passato “*Putridarium*” e un tempo dedicati alla scolatura dei cadaveri. E' un ambiente privo di luce naturale e ricambio di aria in cui sono visibili sulle pareti evidenti fenomeni di colonizzazione biologiche prevalentemente derivati da funghi e batteri.

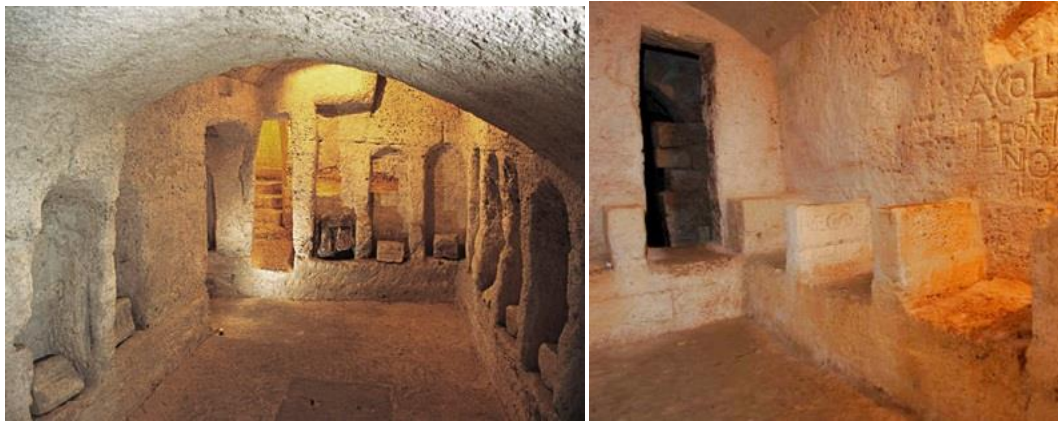


Figura 11. Ipogeo di San Pietro Barisano e particolare del “Putridarium”.

La “Madonna dei Derelitti” è una piccola chiesa rupestre che si trova nel sito denominato “Sasso Barisano” (Figura 12). È un monumento architettonico molto semplice e poco strutturato con le pareti interne decorate con affreschi. Attualmente è ancora visibile un solo affresco, intitolato a San Nicola. La chiesa è stata scavata all'incirca nel Tardo Medioevo in blocchi di pietra composti principalmente da calcite. Sfortunatamente, è stata esposta negli anni a un pesante degrado causato da fattori sia abiotici che biotici che hanno degradato la pietra, le superfici e gli affreschi. Le azioni negative sono dimostrate da estetiche alterazioni (scolorimento) e danni strutturali (difetti e crepe). Inoltre, sulle pareti sono evidenti crescita microbica con formazione di biofilm, degradazione dei leganti organici, presenza di microrganismi (tra cui funghi) sia sulle pareti che sugli affreschi (Mang et al., 2020).



Figura 12. La chiesa rupestre Madonna dei Derelitti.

Nelle due chiese sono state avviate campagne di studio e prelievi di campioni sulle pareti interne, soprattutto in corrispondenza di aree fortemente degradate, sia per le indagini analitiche (es. spettroscopia XPS) che biologiche.

Un ulteriore sito di campionamento è stato individuato, al di fuori del progetto “Smart Cities”, presso la sede di Taranto dell’Istituto di Ricerca sulle Acque del CNR, per la sua peculiare esposizione a importanti problematiche di inquinamento atmosferico. L’edificio storico (Figura 13), costruito nel 1931 per dare sede all’allora Laboratorio Demaniale di Biologia Marina, è stato dichiarato “Bene Culturale”, anche se oggi presenta, soprattutto sulla facciata esterna, fenomeni di degrado derivante anche da esposizione all’inquinamento atmosferico nell’area di Taranto. Con la Legge 426/1998, infatti, il Ministero dell’Ambiente ha definito l’area di Taranto “Sito di interesse nazionale (SIN)” per le bonifiche e, successivamente, con Decreto del 10 gennaio 2000, ha approvato il perimetro del SIN, pubblicandone la cartografica. Le motivazioni della individuazione del SIN derivano dalla elevata concentrazione industriale nell’area e dalla presenza di inquinanti tossici e persistenti nelle varie matrici ambientali. Nella Figura 13 è mostrato un particolare della facciata con fenomeni di degrado costituiti da croste nere e fenomeni di corrosione per “fall out” di particolato e inquinanti atmosferici. In questo sito è stata sperimentata la metodologia di pulizia messa a punto su provini di marmo in laboratorio basata su agenti chelanti supportati su gel.



Figura 13. L’edificio sede del CNR –IRSA di Taranto e particolari del degrado della facciata

2.7 PRELIEVO DEI CAMPIONI PER ANALISI XPS

Sotto la supervisione della Tab Consulting S.r.l. di Potenza sono stati effettuati diversi sopralluoghi nella chiesa di San Pietro Barisano allo scopo di individuare e studiare i

fenomeni di degrado legati alla particolare costituzione del materiale lapideo e al microclima presente. La struttura muraria è prevalentemente costituita da calcareniti di Gravina, con predominanza della componente bioclastica formatasi nel basso pleistocene dall'accumulo di gusci e apparati scheletrici di organismi prodotti all'interno di un ambiente di piattaforma, risultante dalla parziale sommersione della paleo-isola di Matera. I bioclasti sono rappresentati da frammenti di lamellibranchi, gasteropodi, scafopodi, brachiopodi, balanidi, echinoidi, briozoi, alghe calcaree, coralli, serpulidi bentonici e foraminiferi planctonici.

La composizione della calcarenite presenta principalmente carbonato di calcio CaCO_3 (più del 90%) nella fase mineralogica di calcite: sono presenti, inoltre, fillosilicati, piccole percentuali di quarzo e sali solubili (solfati, cloruri e nitrati) la cui percentuale si aggira intorno allo 0,2%. Questa può sembrare una concentrazione molto bassa; al contrario, gli effetti possono essere importanti, a causa della concentrazione del sale, che si verifica quando i blocchi di pietra sono attraversati da acqua capillare, che evapora poi in prossimità alla superficie. Negli spazi intergranulari ed intragranulari prossimi alla superficie si concentrano sovente cristalli di cloruro di sodio e gesso sotto forma di criptoeflorescenze. Le soluzioni saline formatesi in seguito ad assorbimento di acqua, tendono, in seguito all'evaporazione del solvente, a cristallizzarsi con conseguente aumento di volume. I pori del materiale lapideo subiscono pressioni superiori alle capacità di resistenza del materiale, si sfaldano dando origine al fenomeno di alveolizzazione (Figura 14).



Figura. 14. Alveolizzazione mista a erosione differenziale nella calcarenite di gravina dei Sassi di Matera (Bonomo et al., 2020).

All'esame visivo, la calcarenite nella Chiesa di San Pietro Barisano presentava elevata porosità e fenomeni di alveolizzazione piuttosto marcati (Bonomo et al., 2017). Dopo analisi visiva e individuazione delle aree di maggior degrado, sono stati effettuati sulle pareti n. 9 campionamenti (Figura 15), asportando dalla superficie con una spatola campione in polvere o schegge, raccolti poi in provette Eppendorf.

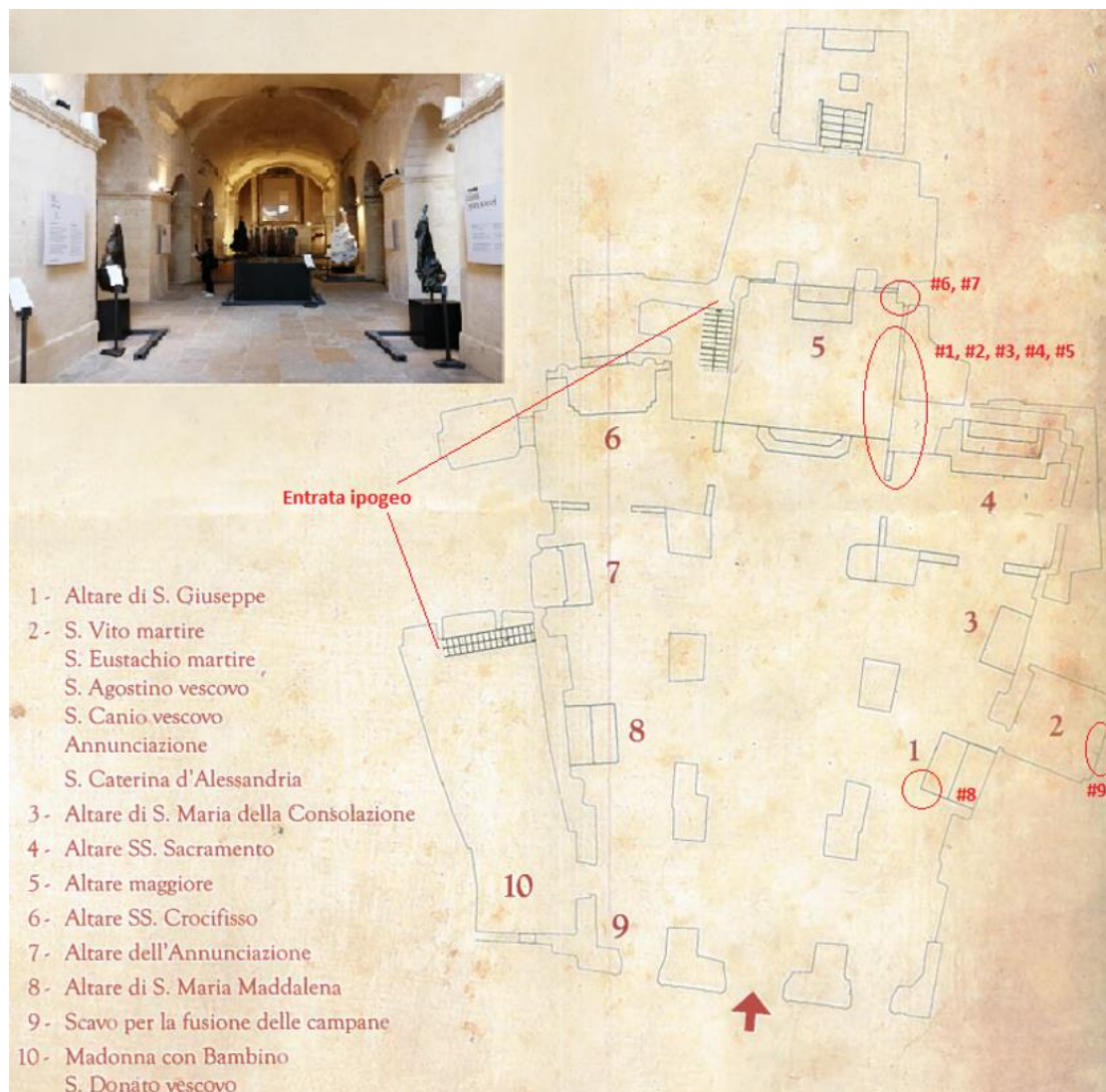


Figura 15. Aree di prelievo (aree cerchiato) all'interno della chiesa di San Pietro Barisano

In laboratorio, i campioni, ridotti in polvere fine, sono stati omogeneizzati in mortaio di agata, depositati su un nastro adesivo di rame adagiato su un porta campione di acciaio e analizzati mediante spettroscopia XPS. I risultati ottenuti sono stati poi elaborati mediante Principal Component Analysis (PCA), utilizzando il software CAT (Chemometric Agile Tool: <http://www.gruppochemiometria.it/index.php/software/19-download-the-r-based-chemometric-software>).

2.8 BIODETERIORAMENTO: CARATTERIZZAZIONE E RIMOZIONE

La prima fase di questa attività ha riguardato lo studio delle alterazioni indotte dalle comunità biologiche presenti su superfici lapidee delle due chiese rupestri di Matera oggetto di studio. L'ambiente rupestre è, infatti, caratterizzato da microclimi con elevata umidità relativa, risalita capillare, infiltrazioni d'acqua e scarsa ventilazione. Il principale inconveniente di questi ambienti è che le superfici in pietra di cava risultano bagnate con un contenuto di umidità spesso superiore al 90%. In generale, la biorecettività di un materiale lapideo dipende dalle sue caratteristiche mineralogiche e strutturali come la porosità, la permeabilità, la capillarità e la rugosità superficiale, ma anche da particolari condizioni microclimatiche quali umidità, esposizione alla luce solare e al vento, inquinamento e, soprattutto, presenza d'acqua. Le calcareniti di Gravina sono caratterizzate da porosità e capillarità, dunque sono un materiale idoneo allo sviluppo di microorganismi, primi colonizzatori dei biofilm. La presenza di acqua è fondamentale nel processo di biodeterioramento in quanto genera le condizioni favorevoli allo sviluppo di microorganismi e microflora sulle superfici (Bonomo et al., 2017).

Estesi fenomeni di biodeterioramento sono stati riscontrati nelle due chiese oggetto di studio. In una sezione di una balaustra d'altare della Chiesa rupestre di San Pietro Barisano, ad esempio, sono stati individuati biofilm composti principalmente da microalghe verdi e cianobatteri filamentosi. L'ipogeo di San Pietro Barisano presenta caratteristiche idonee alla proliferazione di specifici microrganismi. In questi ambienti l'abbondanza di nutrienti nei substrati della roccia, prodotti dal metabolismo microbico, l'apporto di composti dall'aria circolante e dalle acque percolanti, il flusso continuo di visitatori, che forniscono una fonte di calore e di CO₂, e l'elevata umidità combinata con la presenza di illuminazione artificiale, forniscono una "nicchia" ideale soprattutto per lo sviluppo di quei organismi fotosintetici che possono sfruttare l'emissione spettrale delle lampade artificiali. In queste condizioni, proliferano principalmente i cianobatteri i quali, essendo organismo fotoautotrofi, sono i responsabili della formazione di biofilm sulle superfici. Allo stesso tempo i prodotti della fotosintesi forniscono il nutrimento per specie eterotrofe come funghi e batteri, il cui sviluppo induce un aumento dell'attività biologica sulla superficie colonizzata. In queste condizioni sono riscontrabili diverse specie di cianobatteri filamentosi e coccoidi, alghe verdi, diatomee e muschi (Albertano et al., 2003).

Per l'eliminazione delle contaminazioni biologiche sulle superfici di manufatti storico-artistici, sino ad oggi sono stati utilizzati sia composti inorganici (borati, solfati, nitrati, agenti sbiancanti come ipoclorito, perossido di idrogeno e cloro nativo), sia composti organici come formaldeide, esteri, metil-fosfati, clorammine etc. (Blazquez et al., 2000). Queste sostanze possono essere dannose sia per l'uomo che per l'ambiente e possono produrre danni anche su materiali architettonici (Balliana et al., 2016).

La ricerca pertanto in questo settore è rivolta a trovare approcci innovativi ed ecologici basati su biocidi derivanti da composti naturali, che hanno la capacità di interferire, a livello molecolare, con il sistema di comunicazione microbica, denominato “*quorum sensing*”, inibendo la fase iniziale di formazione dei biofilm, passaggio fondamentale per successive colonizzazioni (Ansari et al., 2012; Scrano et al., 2020).

2.9 I GLICOALCALOIDI

Tra i biocidi naturali che potrebbero essere utilizzati con successo in trattamenti di biocleaning, l'attenzione è ricaduta in questo lavoro sui glicoalcaloidi che esibiscono attività antimicrobica e fanno parte delle difese chimiche della pianta contro agenti patogeni quali funghi, batteri e virus. Una serie di indagini effettuate sui glicoalcaloidi isolati da diverse specie di piante del genere *Solanum* hanno dimostrato per questo tipo di composti attività antimicotica ((Fewell & Roddick, 1993; Fewell et al., 1994; Shamim et al., 2004) e antimicrobica (Rani & Khullar, 2003). Una gamma di glicoalcaloidi ha anche dimostrato attività antivirale. Nell'ambito di questi composti, solamargina e solasonina sono in grado di inattivare anche varie forme di Herpes (Milner et al., 2011). La solasodina estratta dai fiori di *Solanum dulcamara* inibisce anche la crescita di *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*.

I glicoalcaloidi sono formati da precursori come gli steroidi e presentano due componenti strutturali: una delle unità è agliconica e consiste in uno scheletro carbonioso idrofobico di tipo steroideo con azoto incorporato nell'anello. L'unità idrofila è un carboidrato attaccato alla catena laterale, alla posizione 3-OH. Glicoalcaloidi della specie *Solanum* hanno meccanismi d'azione come ad esempio l'inibizione della acetilcolinesterasi e la rottura della membrana cellulare. L'unità agliconica si lega in maniera irreversibile agli steroli della membrana, formando dei legami glicoalcaloide-sterolo, che inducono la rottura della membrana stessa provocando la morte della cellula. Una review sull'attività

biologica dei glicoalcaloidi è stata redatta da diversi Autori (Milner et al., 2011; Al Sinani & Eltayeb, 2017; Lelario et al., 2018; Thawabteh et al., 2019).

I glicoalcaloidi utilizzati in questo studio sono stati quelli estratti da bacche acerbe di *Solanum nigrum*, una pianta spontanea appartenente alla famiglia delle Solanaceae, (Figura 16) utilizzando il metodo proposto da Cataldi et al, 2005. Le bacche liofilizzate sono state poste in una soluzione acquosa di acido acetico all'1%. Per facilitare il contatto tra tessuto vegetale e solvente di estrazione, la sospensione è stata agitata per circa 2 ore e quindi centrifugata a 4000 rpm per 20 min. Il pellet ottenuto è stato sospeso in acido acetico all'1%, agitato, centrifugato e filtrato attraverso su filtro di nylon da 0,22 µm (Whatman, Maidstone). Gli estratti, caratterizzati mediante cromatografia liquida – spettrometria di massa (LC-ESI-MS) contenevano quantità simili dei due glicoalcaloidi principali, la solamargina e la solasonina, e altri componenti meno abbondanti (Milner et al., 2011). L'estratto è stato liofilizzato e risospeso in acqua per ottenere una soluzione madre di solamargina (componente principale) alla concentrazione di 500 µM (Scrano et al., 2020).

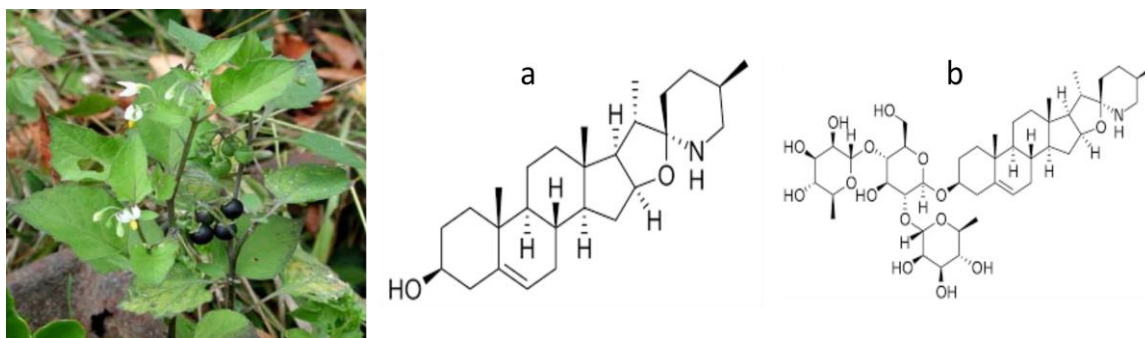


Figura 16. *Solanum nigrum* e strutture della Solasonina (a) e Solamargina (b) (principale componente dell'estratto)

2.10 BIODETERIORAMENTO: ANALISI E UTILIZZO DI BIOCIDI

Tra gli agenti biodeteriogeni, certamente i funghi e i batteri rappresentano una classe importante di organismi. Il trattamento delle superfici per l'eliminazione di questi organismi e il restauro funzionale di superfici lapidee è affidato spesso a biocidi di origine chimica dannosi per l'ambiente e la salute umana. Il lavoro di ricerca in questo ambito ha voluto valutare e mettere a confronto l'attività biocida di composti naturali (es. a base di glicoalcaloidi) con quella di composti chimici su pareti degradate delle chiese rupestri oggetto di studio. A tale proposito, nell'ipogeo della Chiesa di San Pietro

Barisano, vista l'entità del degrado riscontrato, sono state svolte prove di trattamento delle superfici con glicocalcoloidi; a tal proposito, all'interno di una stanzetta dell'ipogeo (Figura 17) sono state individuate due pareti di intervento, una verticale e una orizzontale. Prima del trattamento, con l'aiuto di una spatola, è stato prelevato un campione di superficie, cercando di rimuovere prevalentemente la patina verdastra, indice della presenza di colonie di microrganismi, senza intaccare il substrato sottostante calcareo. I campioni in laboratorio sono stati analizzati tramite spettroscopia XPS e analisi biologica al fine di riconoscere le specie presenti.

Successivamente, ogni area è stata suddivisa in 3 porzioni sulle quali sono state eseguite prove di biocleaning utilizzando rispettivamente soluzioni di glicocalcoloidi senza gel supportante e glicocalcoloidi supportati su gel. Per quanto riguarda questi ultimi, sono stati sviluppati presso i laboratori del Dipartimento di Chimica dell'Università di Roma 1 due gel aventi la seguente composizione: gel 1 (PVA (7%) + AlgNa (2%) + CaCl₂ 10%) e gel 2 (PVA (4%) + borace 8%). Relativamente alla soluzione biocida, 500 mg di glicocalcoloidi estratti, liofilizzati e polverizzati, sono stati aggiunti a 10 mL di acqua. Essendo l'ipogeo un ambiente ad elevata umidità, non è stato necessario ricoprire il gel con pellicola trasparente per evitarne l'essiccazione. Il trattamento è durato 4 settimane al termine delle quali i campioni di superficie sono stati rianalizzati, rimuovendo i gel nelle aree dove era stato applicato. Al fine di monitorare l'azione biocida dei glicocalcoloidi nel tempo, su una porzione di superficie della parete orizzontale, trattata solo con glicocalcoloidi non supportati da gel sono stati prelevati campioni anche dopo 1 e 2 settimane e 4 mesi.



Figura 17. Ipogeo di San Pietro Barisano: parete trattata

Per quanto riguarda, invece, la chiesa rupestre Madonna dei Derelitti, dove si è anche osservata la presenza sulle superfici di elevata colonizzazione biologica, in collaborazione con il Dipartimento di Chimica e Fisica dell'Università dell'Aquila, è

stato testato un processo di “pulitura” con un composto a base di cloro. A tal proposito, in sei aree individuate per il maggior degrado (Figura 18) sono stati effettuati campionamenti ed analisi prima e dopo il processo di pulizia.

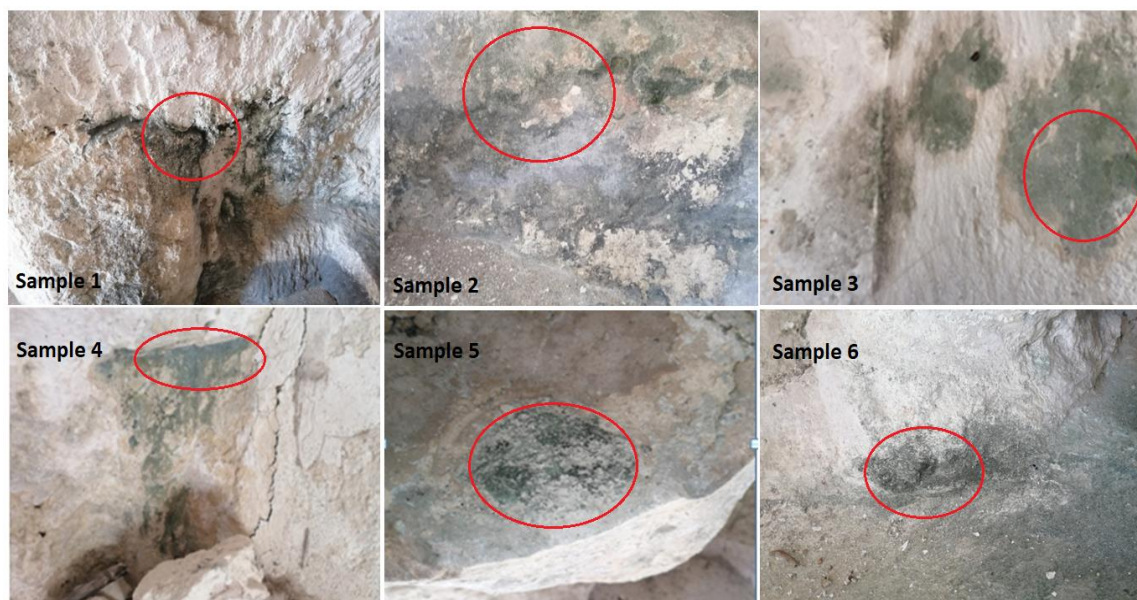


Figura 18. Aree con biodeterioramento nella Chiesa Madonna dei Derelitti

Al contrario della chiesa di San Pietro Barisano dove L’Università dell’Aquila aveva sperimentato la rimozione della colonizzazione superficiale in un tratto di balaustra dell’altare con l’utilizzo di un biocida composto da alginato di sodio (5%) e ipoclorito di calcio $\text{Ca}(\text{ClO})_2$ (0.4%) (Gabriele et al., 2021), per il trattamento di biocleaning nella chiesa Madonna dei Derelitti è stato utilizzato un idrogel addizionato di sodio dicloroisocianurato (NaDCC), già sperimentato in laboratorio su pietra leccese con ottimi risultati (Casieri et al., 2021). Il dicloroisocianurato sodico è un biocida organico che in soluzione libera acido ipocloroso e acido isocianurico (Figura 19).

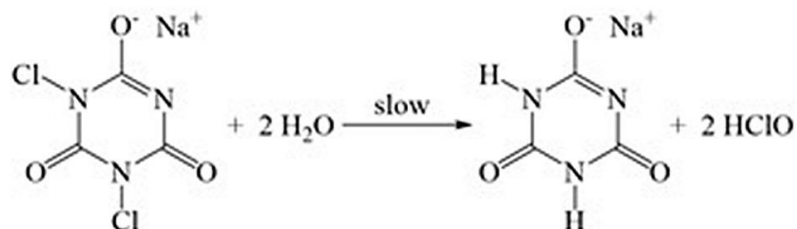


Figura 19. La decomposizione del sodio dicloroisocianurato

La composizione in peso del Biogel era la seguente: alginato di sodio (5%), NaDCC (0.8%), CaCl_2 (0.3%). Il gel è stato applicato utilizzando come supportante delle garze,

per facilitarne la rimozione una volta essiccato l'idrogel. La completa asciugatura dell'idrogel si è rivelata fondamentale per una sua totale rimozione, proprio per evitare di lasciare residui che potrebbero ostruire i pori superficiali della pietra. In quasi tutte le aree selezionate, il Biogel è risultato particolarmente efficace già dopo una sola applicazione. In tutti i casi, prima e dopo i trattamenti, è stata effettuata la caratterizzazione dei campioni superficiali mediante analisi XPS.

2.11 ANALISI DEI FUNGHI

Per la caratterizzazione delle specie fungine caratteristiche dei biofilm nelle due chiese oggetto di studio, è stato effettuato un campionamento non distruttivo sulle pareti utilizzando un tampone di cotone imbevuto di acqua distillata sterile, secondo la tecnica descritta da Mang et al., 2020. I tamponi sono stati immediatamente inseriti in fiale sterili contenenti 1 ml di acqua bidistillata, portati nel laboratorio del Dipartimento di Biologia, Difesa e Biotecnologie Agro-forestali dell'Università della Basilicata e conservati in frigorifero a 4°C fino al momento dell'analisi. Per l'isolamento dei funghi e le analisi morfologiche, da ciascun campione, 100 µL di sospensione sono stati direttamente inseriti su piastre Petri contenenti "Potato Dextrose Agar" (PDA) modificato con kanamicina (1 mg/L) e streptomina (1 mg/L). Le piastre sono state poste in un incubatore a 24 °C ± 1 °C al buio e incubate per 7 giorni. Le colture fungine così ottenute sono state utilizzate per ulteriori analisi morfologiche e molecolari. L'identificazione preliminare degli isolati fungini puri è stata effettuata utilizzando un microscopio (Axioscope, Zeiss-Germania) in base alle caratteristiche macroscopiche e microscopiche degli isolati. Per l'isolamento del DNA genomico il micelio è stato raschiato dalla superficie della colonia e omogeneizzato finemente utilizzando azoto liquido. Il DNA genomico (gDNA) è stato estratto da circa 100 mg di ciascun campione utilizzando il kit NucleoSpin Plant II™ (Macherey-Nagel, Germania). Il gDNA di ciascun isolato fungino puro è stato sottoposto poi a Polymerase Chain Reaction (PCR) utilizzando oligos ITS5 e ITS4 o primer Bt2a e Bt2b che hanno amplificato un frammento dell'Internal Transcribed Spacer (ITS) e il gene della beta tubulina (TUB-2), rispettivamente. I prodotti della PCR sono stati rilevati mediante elettroforesi su gel di agarosio all'1,2% (p/v), precolorati con SYBR Safe DNA Gel Stain (Invitrogen Inc., Carlsbad, CA, USA) e fotografati. Gli ampliconi sono stati sequenziati, utilizzando la tecnologia "Illumina" e gli stessi primer della PCR. Le sequenze nucleotidiche per tutti i geni e le regioni delle sequenze fungine

sono state confrontate con quelle del database pubblico GenBank (NCBI) utilizzando il programma BLASTn (Basic Local Alignment Search Tool) per caratterizzare i funghi isolati a livello di genere e specie (Altschul et al., 1990). Per assegnare correttamente i taxa identificati, sono state escluse le specie fungine non coltivate e quelle di dubbia identificazione.

2.12 AGENTI CHELANTI PER LA RIMOZIONE DI MACCHIE DI FERRO

Tra le forme di degrado che interessano i materiali lapidei costituenti i Beni Culturali, di particolare rilevanza, come già discusso, sono le alterazioni cromatiche delle superfici dovute alla diffusione di prodotti di corrosione, soprattutto del ferro. La presenza di composti metallici (es. composti del ferro) su materiale lapideo rappresenta uno dei tipi di degrado la cui rimozione rappresenta un problema di non facile soluzione. Sebbene alcuni materiali, come il marmo, siano relativamente stabili, la relativa superficie è sfortunatamente soggetta a macchie quando interagisce con l'ambiente esterno. La generazione di macchie deriva da prodotti di ossidazione del ferro. In aggiunta alla ossidazione di composti ferrosi costituenti la pietra, ad esempio pirite (FeS_2) e siderite (FeCO_3), un'altra causa è la vicinanza di metalli ferrosi, che vengono ossidati all'aria o in presenza di pioggia. Gli ioni solubilizzati vengono trasportati sulla superficie del materiale o all'interno di essa, con conseguente formazione di ruggine (Cushman & Wolbers, 2007; Varadachari et al., 2006; Bams & Dewaele, 2007; Macchia et al., 2011; Pinna et al., 2015).

Le macchie possono essere rimosse mediante trattamento chimico. Il metodo per la eliminazione comporta l'applicazione su opportuni supporti di diversi composti ad azione complessante e/o riducente. Uno dei complessanti più utilizzati è stato il citrato (Matero & Tagle, 1995; Gervais et al., 2010), sebbene siano stati sperimentati anche altri sali di acidi carbossilici, come l'acido ossalico e tartarico. Altri metodi hanno previsto l'uso di EDTA (Thorn, 2005) o di un legante esadentato (TPEN = N,N,N',N'-tetrakis-(2-pyridylmethyl)ethylenediamine) che, contrariamente all'EDTA, ha un'alta affinità verso il ferro e una bassa affinità verso il calcio (Cushman & Wolbers, 2007). Quest'ultimo composto ha mostrato risultati eccellenti anche se il metodo di applicazione è piuttosto costoso. I vari complessanti sono stati usati sia singolarmente che in combinazione con agenti riducenti, come il tiosolfato e il ditionito di sodio (Stambolov & Van Rheedem, 1968; Rueda et al., 1992). L'acido tioglicolico e il tioglicolato di ammonio sono stati

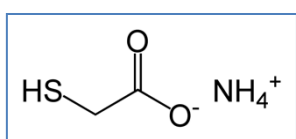
applicati in diversi trattamenti di pietre calcaree (Thorn, 2005). Il tioglicolato è presumibilmente un legante efficiente per la pulizia del marmo macchiato da ruggine (Thorn, 2005; Gervais et al., 2010); tuttavia, l'acido tioglicolico è un composto chimico tossico ed è quindi difficile da acquisire e maneggiare da parte dei restauratori. Oltre a questo, un colore leggermente violaceo può comparire sul marmo durante il trattamento e questo richiede una seconda operazione di pulizia (Thorn, 2005).

Amminoacidi contenenti gruppi sulfidrilici o ponti disolfuro, come la cisteina e la metionina miscelate anche con sodio ditionito, sono stati anche utilizzati con buoni risultati (Spile et al., 2016; Macchia et al., 2016). La cisteina reagisce come agente riducente nei complessi con Fe(III), portando alla formazione di complessi incolori, mentre la metionina forma complessi soprattutto con il Fe(II). Rispetto alla cisteina, la metionina è un amminoacido alifatico non polare con caratteristiche antiossidanti. Cisteina e metionina sono state utilizzate in combinazione anche per la chelazione e l'escrezione di metalli dal corpo umano. In campo medico chelanti come la Deferoxamina e il Deferiprone (3-idrossi-1,2-dimetilpiridin-4(1H)-one) sono chelanti utilizzati nella terapia specifica per il sovraccarico cronico di ferro (Hatcher et al., 2009; Simanova, 2011).

Con specifico riferimento alla problematica sopra illustrata, in collaborazione con il Dipartimento di Chimica dell'Università "La Sapienza di Roma", sono stati sperimentati approcci innovativi per la rimozione di macchie da corrosione da ferro, considerando in particolare:

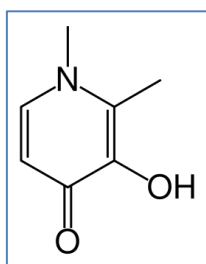
- Uso di chelanti non tossici ferro-selettivi rispetto al calcio.
- Gel supportanti possibilmente a base "green" per un restauro sostenibile.

Per quanto riguarda i chelanti metallici, oltre all'EDTA ed al Sodio Esametafosfato, chelanti di riferimento in Chimica Analitica (Thorn, 1993), l'attenzione è stata rivolta a chelanti quali l'Ammonio Tioglicolato, il Deferiprone e il Glutatione. La verifica dell'efficacia di questi composti è stata valutata sulla rimozione di macchie di ossido-idrossido ferrico prodotte artificialmente su campioni di travertino e/o marmo di Carrara. Di seguito è illustrata una breve descrizione dei chelanti considerati.



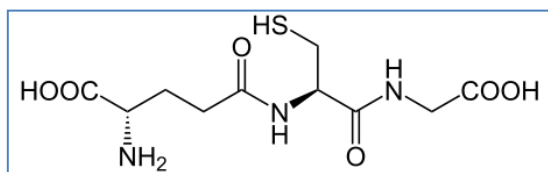
Il *Tioglicolato di ammonio*, sale di ammonio dell'acido tioglicolico, è un intermedio utile nelle reazioni chimiche quali l'addizione, l'eliminazione e la ciclizzazione. Il gruppo tiolico reagisce con basi, acidi, chetoni e composti organici alogenati, mentre il gruppo

carbossilico reagisce preferenzialmente in presenza di alcoli o ammine. Le reazioni principali con il ferro portano alla formazione di due complessi contenenti Fe(II): $\text{Fe}(\text{OH})(\text{RS})^-$ (giallo), e $\text{Fe}(\text{RS})^{2-}$ (rosso). Il tioglicolato è presumibilmente il legante più efficiente per la pulizia del marmo macchiato di ruggine, tuttavia, l'acido tioglicolico è un composto tossico e questo ne limita l'utilizzo (Leussing & Kolthoff, 1953).



Il *Deferiprone*, 3-idrossi-1,2-dimetilpiridin-4(1H)-one (HPO) è un chelante tridentato ampiamente studiato e utilizzato nella cura per il sovraccarico di ferro nelle talassemie. La molecola mima le unità chelanti bidentate identificate nei siderofori. È un composto isoelettrico come i catecolati, ma si deprotona in maniera simile agli idrossammati.

Dalla reazione tra HPO e Fe (III) si forma un complesso rosso che può essere descritto come tre molecole chelanti del deferiprone (i tre gruppi idrossilici deprotonati) che reagiscono con uno ione Fe^{3+} (Figura 20). Il comportamento del Deferiprone, come di altri agenti chelanti, dipende dal pH in funzione della sua costante di acidità. Una variazione di pH di una soluzione “pulente” contenente Deferiprone può quindi influire sulle capacità di chelazione, aumentando la selettività verso lo ione ferro. Queste considerazioni sono particolarmente importanti nell'ambito della pulitura di materiali lapidei, dove va rimossa solo la macchia di ferro senza intaccare il carbonato di calcio del substrato.



Il *Glutathione* è un tripeptide formato dai tre aminoacidi cisteina, acido glutammico e glicina, che presenta proprietà sia chelanti che ossidanti. Sulle sue proprietà chelanti nei

confronti del Fe (III) sono stati condotti numerosi studi. A pH fisiologico possiede sei potenziali siti di legame: due gruppi carbossilici, uno amminico, un gruppo solfidrico e due gruppi ammidici. Poiché i siti di legame non possono essere coordinati simultaneamente ad un singolo ione metallico, la chimica di coordinazione del glutathione è caratterizzata dalla formazione di complessi protonati e policiclici. È stata testata la capacità del Glutathione di chelare il Ferro nell'ambito di uno studio di ipossia, condizione patologica determinata da una carenza di ossigeno nell'intero corpo (ipossia generalizzata) o in una sua regione (ipossia tissutale) (Hide & Kong, 2011). Nel caso in cui il ferro viene ossidato da Fe(II) a Fe(III), il sangue non è più in grado di trasportare

ossigeno, causando ipossia e morte qualora la percentuale della metaemoglobina salga a livelli superiori al 20-30 %. Il Glutatione è in grado di invertire questo processo, riportando il ferro nel suo stato ferroso e rendendo il sangue di nuovo capace di trasportare l'ossigeno indispensabile per la respirazione cellulare. In laboratorio, mescolando Glutatione ridotto (GSH) e Fe(III), sono stati preparati anaerobicamente vari complessi; a questi è stato aggiunto ossigeno molecolare, osservando la produzione di una specie rossa transitoria, la cui velocità di produzione dipende dalla concentrazione di ossigeno e richiede una molecola di ossigeno ogni due atomi di ferro (Hamed et al., 1983). Dopo aver mescolato Fe(III) al Glutatione ridotto, si forma spontaneamente Fe(II), attraverso il trasferimento di un elettrone dal tiolo al Fe(III). Fe(II) forma un complesso Fe-GS con il tiolo deprotonato, la cui formazione è pH dipendente. Le condizioni che favoriscono la formazione di questo complesso sono: rapporto GSH/Fe di almeno 5:1, al fine di prevenire l'idrolisi del Fe(II) e valori di pH nel range 8-9. Se esposto all'ossigeno, il complesso ferro (II)-GS forma un complesso rosso che dà luogo all'ossidazione autocatalitica del tiolo. La stechiometria del complesso rosso è di due atomi di ferro per ogni molecola di ossigeno, cioè $(\text{Fe-GS})_2 \cdot \text{O}_2$ (Figura 21).

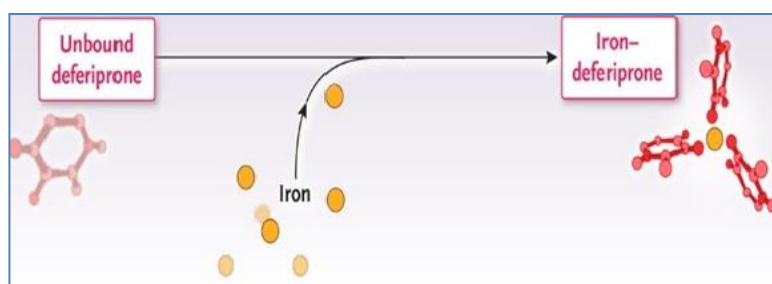


Figura 20. Struttura e processo di chelazione del Ferro(III) del Deferiprone

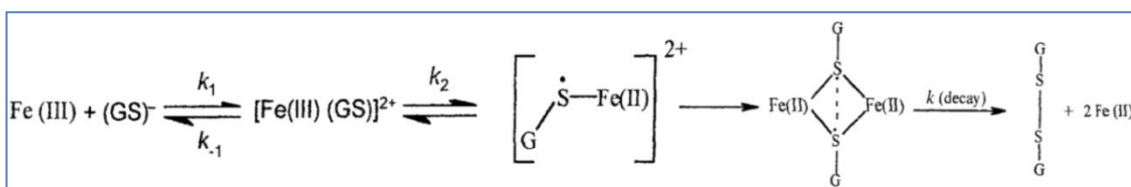


Figura 21. Processo di chelazione del Ferro con Glutatione

Per testare l'efficacia dei chelanti selezionati nella rimozione di macchie di ferro, i test sono stati condotti su provini di marmo di Carrara e travertino di dimensioni 50x50x20 mm. I campioni macchiati sono stati forniti dal Dipartimento di Chimica dell'Università "La Sapienza" di Roma. Le macchie sono state ottenute facendo ossidare delle barre o

cubetti di ferro in ferro sulla superficie dei campioni attraverso esposizione annuale in ambiente esterno. Come luogo per l'esposizione è stato scelto il terrazzo del Dipartimento di Chimica dell'Università La Sapienza di Roma. L'ossidazione, favorita dalla pioggia e dalla presenza di umidità atmosferica, ha dato luogo alla formazione delle macchie come mostrato nella Figura 22.

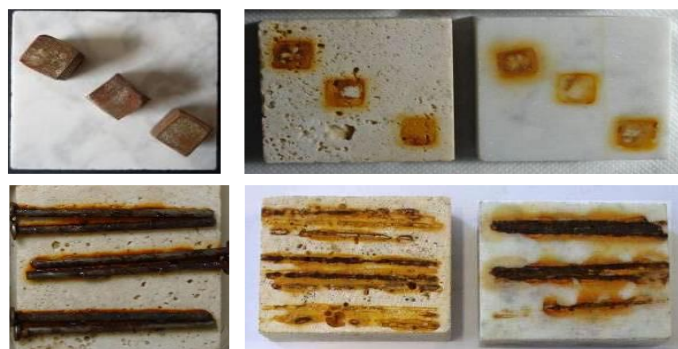


Figura 22. *Provini di marmo di Carrara con ferro sovrapposto e macchie di ruggine originate (Reale, 2017)*

I provini di marmo sono stati poi opportunamente dimensionati per l'analisi XPS ($\approx 1,5 \times 1,0$ cm). Superfici di marmo non trattate sono state utilizzate come bianco di riferimento. Per le prove di rimozione delle macchie sono state preparate soluzioni dei vari chelanti a concentrazioni variabili tra 0.2 / 2 %, a pH spontaneo o portato a valori leggermente alcalini (pH tra 7 e 9). Come supporto dei chelanti, sono stati testati alginato di sodio, polvere di *Psyllium plantago* (fibra vegetale con capacità chelanti nei confronti del ferro) (Fernandez, & Phillips, 1982), PoliVinil-Alcol (PVA) (Carretti et al., 2009) e tetraborato di sodio. Nel corso della sperimentazione le caratterizzazioni analitiche delle superfici dei provini sono state effettuate mediante spettroscopia XPS e Microscopia Elettronica a Scansione (SEM), eseguita presso il laboratorio di Geologia Medica ed Ambientale del CNR-IMAA di Tito Scalo (Pz).

2.13 GEL DI SUPPORTO DEI CHELANTI

I chelanti testati per la rimozione delle macchie su provini di marmo sono stati supportati su appositi gel scelti preferenzialmente tra composti naturali o poco tossici. Il gel ha lo scopo di evitare la dispersione del chelante utilizzato, permettendo una maggiore interazione dello stesso col materiale lapideo. La tipologia e composizione del gel da utilizzare è stata definita in base alle seguenti esigenze: buona adesione e allo stesso

tempo facile e completa rimozione dalle superfici e, soprattutto, mancanza di interazioni con la superficie da pulire.

I vantaggi nell'utilizzo dei gel consistono nei tempi di contatto con la superficie relativamente prolungati e in una azione confinata all'area da trattare, evitando o riducendo al minimo la diffusione e dispersione di materiale. Per la preparazione dei gel sono stati presi in considerazione l'alginato di sodio, la polvere di *Psyllium plantago*, il PoliVinil-Alcol (PVA) e il tetraborato di sodio.

L'alginato di sodio è un polisaccaride naturale che viene estratto dalle pareti cellulari delle alghe brune che proliferano nei mari freddi. È costituito dall'unità monomeric $C_8H_8O_6$ che oltre ad avere una funzione strutturale, conferisce resistenza e flessibilità al tessuto dell'alga e svolge un ruolo simile a quello della cellulosa nelle piante. È scarsamente solubile in acqua, dove forma una soluzione viscosa e in presenza di ione Ca^{2+} forma l'alginato di calcio, insolubile in acqua. La presenza di calcio induce il fenomeno denominato sferificazione (Figura 23), processo di gelificazione in cui le fasi liquide sono trasformate in sfere semi solide, ripiene di liquido o gel (Blandino et al., 1999). Le soluzioni di alginato di sodio sono stabili in un intervallo di pH tra 5.5 e 10, mentre tendono a formare un gel a valori di pH inferiori a 5.5; a pH pari a 3.8 la viscosità aumenta notevolmente e a pH inferiori precipita l'acido alginico.

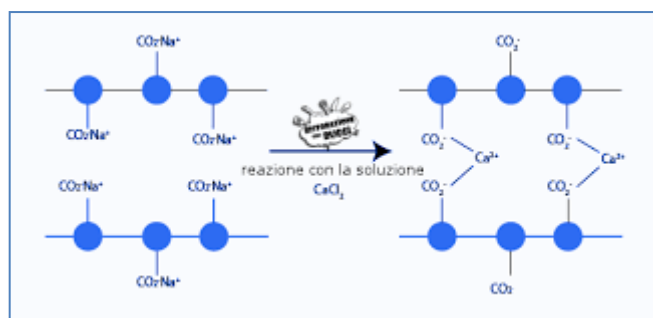


Figura 23. Sferificazione dell'alginato di sodio con cloruro di calcio

Le fibre di *Psillyum plantago* sono costituite da polisaccaridi eterogenei (emicellulose) che con acqua danno mucillagini, ovvero soluzioni colloidali non adesive (a differenza delle gomme). Dal punto di vista chimico le fibre sono costituite da arabinosio, xilosio, aucubina, acido galatturonico, e oli.

L'alcool polivinilico (PVA) è un polimero termoplastico sintetico solubile in acqua ma non nei solventi organici, ottenuto da polivinil acetati mediante sostituzione dei gruppi acetati con gruppi ossidrilici. E' costituito da elevate unità di alcol vinilico, con formula

$[\text{CH}_2\text{-CH-OH}]_n$, è biodegradabile e biocompatibile e può essere impiegato per la formulazione di soluzioni acquose adesive ed emulsionanti, come film protettivi solubili in acqua e come materiale di partenza per la preparazione di altre resine. L'alcol polivinilico è igroscopico, molto solubile in acqua opportunamente riscaldata, ma insolubile nei comuni solventi organici. Queste caratteristiche dipendono dal grado di polimerizzazione, il cui valore porta a differenze sostanziali nella viscosità nella soluzione. Un'altra importante caratteristica del PVA è la sua capacità di formare una particolare pellicola trasparente che non offre permeabilità ai gas.

Il tetraborato di sodio decaidrato ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10 \text{H}_2\text{O}$) viene usato ampiamente in detergenti, addolcitori d'acqua, saponi, disinfettanti e insetticidi. Quando le soluzioni di PVA e di tetraborato di sodio vengono mescolate, gli ioni borato $\text{B}(\text{OH})_4^-(aq)$ reagiscono con i gruppi ossidrilici (OH) del PVA (Figura 24), con la formazione di deboli legami trasversali tra le catene di polimero che tendono a produrre un gel viscoso ed elastico. L'alta solubilità in acqua del PVA suggerisce la presenza di diffusi legami a idrogeno tra le sue unità e l'acqua.

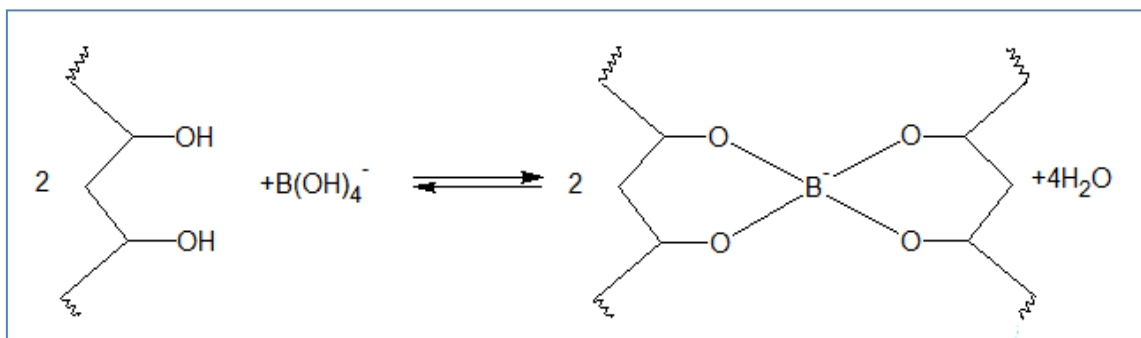


Figura 24. La reazione del PVA con il borace

I gel testati presso il Dipartimento di Chimica dell'Università di Roma 1 per la rimozione delle macchie di ferro su provini di marmo, sono stati ottenuti da diverse combinazioni: 1) Alcool polivinilico/Alginato di sodio/Glicerolo; 2) Alcool polivinilico/Tetraborato di sodio; 3) Alginato di sodio/ *Psyllium plantago*. Sono state provate varie formulazioni al fine di ottenere un gel che soddisfacesse alle proprietà di consistenza, efficacia come supportante dei chelanti e facilità di deposizione.

Dalle varie prove effettuate i due gel più performanti dal punto di vista applicativo si sono rivelati quelli costituiti da Polivinilalcol/Alginato di Sodio/Glicerolo (formulazione 4) e Polivinilalcol/Tetraborato di Sodio anidro (formulazione 2), Tabella 2.

Per la preparazione della soluzione di PVA, al fine di evitare la formazione di grumi, il PVA è stato aggiunto lentamente all'acqua distillata, sotto continua agitazione, mantenendo una temperatura minore di 90°, per evitare di rompere il reticolo polimerico. Successivamente sono state mescolate in un becher le soluzioni di PVA e alginato di sodio secondo le quantità riportate in Tabella 2. Gli atomi di ossigeno dei gruppi OH dell'alginato si legano a quelli di idrogeno dei gruppi OH del PVA o viceversa. In questo modo le catene vengono collegate fra loro e il polimero si reticola e non risulta più solubile in acqua. Il pH del gel, misurato con elettrodo a vetro, è risultato pari a 8.3. La quantità di cloruro di calcio aggiunta per la sferificazione dell'alginato di sodio non è stata costante ma è stata valutata in base alla consistenza desiderata del gel finale.

Per il trattamento delle macchie sui provini di marmo macchiati con ferro, al gel sono stati aggiunti i chelanti quali Deferiprone e Glutazione. Come si può notare, tra i chelanti alla fine è stato escluso il tioglicolato di ammonio per la sua tossicità. I gel così preparati sono stati distesi sulla superficie da trattare (provini di marmo) e l'intero campione è stato ricoperto con pellicola trasparente, al fine di evitare la disidratazione del gel, che è stato lasciato adeso alla superficie del campione per una durata di circa 20 ore. Tale accorgimento ha reso superfluo poi l'utilizzo del glicerolo, la cui capacità idratante serviva a non produrre l'essiccazione del gel troppo velocemente. Analisi di superficie mediante spettroscopia XPS sono state effettuate sui provini di marmo prima e dopo l'applicazione del gel.

Tabella 2 - Quantità relative per la preparazione dei gel testati

Reagenti	Gel 1	Gel 2
PVA 5%	30mL	-
Alginato di sodio 2%	30 mL	-
Glicerolo 40%;	1.2 ml	-
PVA 4%	-	50 mL
Tetraborato di Sodio 8%	-	20 mL

Dopo i vari test di laboratorio e le varie ottimizzazioni, prove di rimozione reale di macchie in situ sono state effettuate presso l'edificio sede dell'Istituto di Ricerca sulle Acque del CNR di Taranto. Come si può notare dalla Figura 25, evidenti macchie di ferro miste a particolato atmosferico depositato sono state individuate su una colonna della facciata dell'edificio. Qui sono stati prelevati e analizzati n. 2 campioni (pre e post trattamento). Come agente chelante è stato utilizzato il Deferiprone, supportato su un gel

di PVA + AlgNa, che, dopo la sperimentazione in laboratorio, è risultato il chelante dalle prestazioni più soddisfacenti.



Figura 25. Particolare del piedistallo di una colonna della facciata dell'Istituto CNR-IRSA di Taranto

2.14 ELIMINAZIONE DELLE MACCHIE DI FERRO CON PROTEINE CHELANTI

Lo scopo di questa parte del lavoro è stato quello di verificare l'utilizzo di due proteine, Lattotransferrina (Ltf) e Ovotransferrina (Ovt), come chelanti innovativi per la pulizia di superfici lapidee da macchie di ruggine. A tale scopo sono stati utilizzati campioni di marmo di Carrara, esposti in ambiente outdoor a contatto con barrette di ferro metallico. Le due proteine, appartenenti entrambe alla famiglia delle transferrine, sono state scelte per la loro elevata affinità per gli ioni ferrici in vivo (Aasa, et al., 1963; Hirose, 2000; Abdallah & Chahine, 2000) e come alternativa ai vari composti chimici in commercio, che, seppur efficienti, presentano una certa tossicità. Le proteine utilizzate sono state estratte dalle loro matrici naturali. L'estrazione di Ltf è stata effettuata da latte fresco commerciale e intero tramite la procedura adottata da Parkar et al. (2016). 40 ml di latte sono stati centrifugati per 10 min a 4000 rpm e 4 °C. Dopo separazione della parte grassa, è stato aggiunto un uguale volume di acqua deionizzata e HCl 1 N fino a pH 4.6 per far precipitare la caseina. Dopo centrifugazione a 2000 rpm per 10 min, il surnatante è stato rimosso e conservato in frigo a 4 °C. Alla soluzione si è poi aggiunto lentamente

sotto agitazione NaOH 1 N fino a pH 6.0. È stato annotato il volume e aggiunto un uguale volume di una soluzione di ammonio solfato al 45 %, sotto agitazione per un'ora a 100 rpm a temperatura ambiente. Sono stati poi aggiunti HCl 1N fino a pH 4 e successivamente NaOH 1 N fino a pH 8. A pH 8.0 è stato aggiunto un volume uguale di soluzione di solfato di ammonio all'80% sotto costante agitazione magnetica a 100 rpm, gradualmente aumentata a 420 rpm per 1 ora. Il campione è stato incubato a 4°C per una notte per precipitare la lattoferrina. Dopo centrifugazione a 4000 rpm per 10 minuti a 4°C, il precipitato di lattoferrina ottenuto (circa 80 mg) è stato risospeso in 20 ml di Tampone Fosfato Salino (PBS) 0.01M a pH 7.4 e conservato in frigo a 4°C.

L'estrazione della Ovt dalle uova di gallina è stata eseguita come descritto da Abeyrathne et al. (2013). 150 mL di bianco d'uovo (4 uova fresche commerciali) sono stati diluiti con 300 ml di acqua distillata e omogeneizzati manualmente. Il pH di partenza 9.37 è stato regolato a 4.60 con HCl 3N. La soluzione è stata centrifugata a 3400 rpm, per 30 minuti a 4 °C. Dopo centrifugazione, al surnatante sono stati aggiunti solfato di ammonio 5 % p/V, acido citrico 2.5 % p/V, solfato di ammonio 2.0 % p/V, acido citrico 1.5 % p/V. La soluzione è stata conservata in frigo per una notte a 4 °C. Il giorno successivo la soluzione è stata centrifugata a 3400 rpm per 20 minuti a 4 °C. Il precipitato è stato separato, pesato e addizionato con 20 mL di acqua distillata. La soluzione risultante è stata dializzata in tubo da dialisi. Dopo aver recuperato la soluzione dializzata, sono stati aggiunti solfato di ammonio 2 % e acido citrico 2.5 %. La soluzione è stata conservata in frigo per una notte. Infine, la soluzione è stata centrifugata a 3400 rpm per 20 minuti a 4 °C. Il precipitato finale contenente 4.3 g Ovt (1.075 g per uovo) è stato poi risospeso in tampone PBS 0.0.1 M (1:1 p/v).

Per le applicazioni riportate in questo lavoro, le proteine estratte (20 ml della soluzione in PBS) sono state immobilizzate utilizzando polpa di cellulosa bianca e deresinata (Arbocel BWW40), composta da fibre naturali, in grado di trattenere una quantità di acqua pari a 5 volte il proprio peso (Vergès-Belmin et al., 2011).

Il pH delle soluzioni è stato mantenuto vicino alla neutralità (pH = 7,4) per entrambe le proteine con l'uso del tampone fosfato salino (PBS). La polpa di cellulosa appartiene alla categoria dei supporti inerti che agiscono per rigonfiamento diretto delle fibre cellulosiche per imbibizione di solventi puri (acqua, alcool ecc.) o delle loro miscele (Vergès-Belmin et al., 2011). La polpa rappresenta uno dei supportanti comunemente utilizzati nell'ambito dei Beni Culturali essendo un prodotto naturale utilizzabile a pH neutro.

Le proteine supportate sono state poi applicate su provini di marmo di Carrara (100x100x20 mm) sezionati opportunamente, in cui le macchie sono state ottenute ponendo barre di ferro sulla superficie e favorendo la corrosione mediante esposizione all'ambiente esterno. Prima dell'applicazione della polpa di cellulosa, è stato rimosso ogni eventuale frammento polverulento aderente alla superficie. I campioni ricoperti di polpa sono stati protetti poi con una pellicola di polietilene per rallentare l'evaporazione e prolungare così l'azione pulente delle proteine. Dopo 12 ore, la pellicola è stata rimossa e le superfici sono state pulite con un batuffolo di cotone immerso in acqua deionizzata. La superficie trattata è stata poi monitorata sia fotograficamente che con osservazioni al microscopio digitale Dino-Lite. L'efficacia della pulizia per entrambe le proteine immobilizzate è stata infine verificata mediante analisi di superficie con spettroscopia XPS.

2.15 PIATTAFORMA TECNOLOGICA DI PREDIZIONE E PROGRAMMAZIONE DEGLI INTERVENTI PREVENTIVI DI MANUTENZIONE

Il degrado di un'opera d'arte inizia subito dopo la sua realizzazione e la velocità con cui procede dipende, come già visto, da fattori fisici, chimici e biologici, sia naturali che antropici. I tempi e le modalità del processo di deterioramento sono funzione anche del tipo di materiale e degli agenti chimico-fisici e biologici coinvolti. Lo studio di tali fenomeni è reso più complesso dalle difficoltà di separare i vari contributi, poiché nessun fattore agisce singolarmente. Di norma la corretta conservazione dei beni di interesse storico-artistico può essere assicurata solo nel caso in cui questi beni siano allocati in luoghi ove le condizioni ambientali siano opportunamente controllate, per limitare la velocità dei processi di deterioramento e intervenire, in tempi utili, con opportune azioni. Questo non è sempre possibile, soprattutto per i manufatti esposti all'ambiente "outdoor".

Lo scopo del Progetto di ricerca nazionale "Smart Cities" (SCN), denominato "Innovazione di prodotto e di processo per una manutenzione, conservazione e restauro sostenibile e programmato del patrimonio culturale" è stato quello di sviluppare metodologie e procedure che consentano da un lato di acquisire una visione quanto più possibile completa dello stato conservativo del bene, indispensabile per eseguire correttamente gli interventi di manutenzione, dall'altro di agire in un'ottica preventiva, ottimizzando i costi degli interventi in funzione del minimo rischio.

Una parte importante del progetto “SCN” è stata rivolta allo studio e alla sperimentazione di una piattaforma tecnologica per l'elaborazione dei modelli e di supporto decisionale per la manutenzione dei beni culturali e la prevenzione dei processi di degrado. Gli obiettivi hanno riguardato la prototipazione di un sistema integrato che, partendo dai dati raccolti in campo, anche attraverso sistemi di monitoraggio *on line*, consentisse ai gestori del patrimonio soggetto a tutela, di amministrare in maniera efficace ed efficiente il processo di manutenzione. A tale scopo è stata valutata l'applicabilità di modelli matematici per la previsione dell'entità del degrado e della perdita di valore di un bene in funzione di particolari condizioni ambientali.

In questo ambito, una delle attività del dottorato è stata svolta presso la Tab Consulting S.r.l. di Potenza, capofila nella progettazione della piattaforma, e presso il Dipartimento di Chimica dell'Università “La Sapienza di Roma”; il contributo fornito è stato prevalentemente bibliografico, al fine di implementare nella piattaforma modelli predittivi del degrado.

I modelli possono fornire previsioni mediante una base di conoscenza costruita a priori (anche sito-specifica) e/o acquisita da esperienze pregresse. In questa ottica risulta fondamentale integrare la raccolta di informazioni sulla collocazione dell'oggetto, sullo stato di conservazione, etc., con dati di monitoraggio di parametri meteo/climatici (temperatura, umidità relativa, illuminamento nell'arco del giorno, radiazione ultravioletta) e chimico-fisici del sistema “ambiente-monumento”.

Nei processi decisionali e di diagnostica oggettiva, possono senz'altro fornire un utile contributo anche l'analisi di immagini e di studi pregressi sulla evoluzione del degrado. A tale riguardo sono state svolte attività propedeutiche tra cui lo studio delle tipologie di degrado materico, gli indicatori atti a prevedere l'insorgenza e l'evoluzione di meccanismi di degrado dei materiali lapidei, lo studio di modelli predittivi della perdita del valore di un bene sottoposto a degrado.

2.15.1 DESCRIZIONE DELLA PIATTAFORMA

La Piattaforma sviluppata dalla Tab Consulting S.r.l. è uno strumento software complesso ed articolato in moduli specializzati per l'acquisizione, gestione e condivisione di dati descrittivi e di classificazione dei beni. Di interesse sono i dati ambientali, ottenuti tramite l'utilizzo diretto di reti di sensori o interfacciamento con altre reti o fonti di dati eterogenei, e indicatori per il supporto alle decisioni nel contesto della

tutela del patrimonio culturale e monumentale. L'architettura della Piattaforma, vista nelle sue componenti principali e in una ottica di microservizi, è riportata nella Figura 26. La Piattaforma tecnologica è divisa in tre macro-sezioni: “Dashboard”, “Gestione beni” e “Gestione piani attività”, in cui sono inserite anche informazioni circa le attività di manutenzione e alcuni indicatori di monitoraggio, come ad esempio quelli presenti nella norma UNI 10829 (1999). Il modello informatico implementato nella Piattaforma si basa su funzioni matematiche applicate ai materiali lapidei che, considerano la perdita di valore del bene attraverso l'analisi di parametri ambientali, che permettono di valutare l'intervallo di tempo intercorrente tra due successivi interventi di manutenzione.

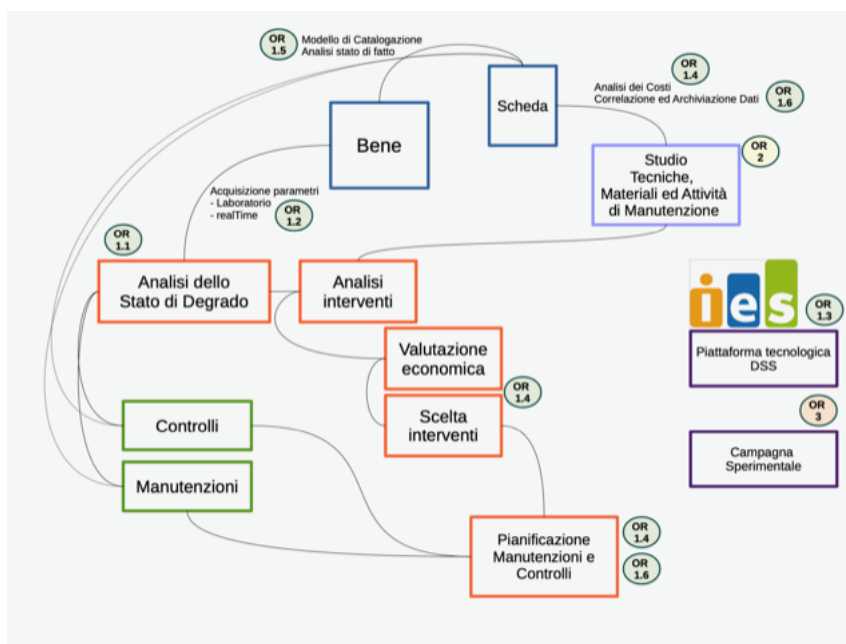


Figura 26. Architettura della Piattaforma (Tab Consulting, 2019)

Generalmente i modelli di predizione della vita utile di un'opera sono raggruppati in: modelli deterministici, modelli stocastici, modelli ingegneristici (questi ultimi, di fatto sono fusione fra i due altri modelli). I modelli deterministici sono basati sullo studio dei fattori di degrado, sulla comprensione dei relativi meccanismi e, infine, sulla loro quantificazione per la traduzione in funzioni di degrado. Questi metodi presentano vantaggi significativi: sono facili da applicare e possono essere facilmente implementati e mantenere la loro operatività anche quando non tutte le variabili relative ai fenomeni modellati siano conosciute. Seppure da alcuni criticati, questi metodi si sono imposti producendo soluzioni pratiche e sono ampiamente utilizzati, avendo anche fornito la base per standard internazionali di previsione della vita degli edifici (ISO 15686, 2011). All'interno dei metodi deterministici sono stati sviluppati metodi empirici, basati sui dati

raccolti durante il lavoro sul campo o simulato in laboratorio, per valutare la durata nello “status quo” originario al momento dello studio. In questi metodi la caratterizzazione delle condizioni di degrado è eseguita attraverso la definizione di un sistema di classificazione di difetti e alterazioni, pervenendo in base a essa a vere e proprie funzioni di degrado. Per utilizzare le funzioni di degrado è necessario acquisire i dati relativi alle condizioni meteo-climatiche, unitamente alle concentrazioni di inquinanti principali dell’aria. Nel caso di un monitoraggio “outdoor” occorre conoscere anche la chimica delle precipitazioni. Per ogni recettore, le funzioni di danno appropriate sono definite in funzione della perdita in massa (ML), tempo di esposizione (t), umidità relativa % (Rh), temperatura (T), concentrazione di inquinanti in atmosfera (es [SO₂], [O₃], etc.). Per l’esposizione outdoor occorre aggiungere anche dati relativi al pH delle precipitazioni (media annuale) e alla composizione chimica delle stesse. La Piattaforma tecnologica sviluppata permette l’inserimento dei parametri chimico-fisici sopraindicati, consentendo di prevedere non solo la quantificazione del deterioramento subito da un singolo materiale, ma anche di effettuare la valutazione economica del danno, ai fini del ripristino che ne deriva. L’algoritmo a cui si fa riferimento punta a stabilire la frequenza ottimale di manutenzione programmata con il miglior rapporto costi/benefici in un ciclo decennale sulla base della velocità di degradazione e delle risorse a disposizione.

Partendo da questo presupposto, in collaborazione con l’Università di Roma, l’attenzione è stata rivolta all’analisi di funzioni “dose-risposta” con particolare riferimento all’azione degli inquinanti atmosferici, alla perdita netta di materiale (erosione), che si verifica soprattutto nelle zone esposte all’azione dilavante della pioggia, all’annerimento, determinato dal deposito di particelle carboniose sulla superficie e allo stress fisico determinato da fattori climatici e microclimatici (de la Fuente et al., 2013). Per i materiali lapidei, una delle funzioni matematiche di danno più diffuse ed applicate è quella di Lipfert (1989), in cui la recessione superficiale, proposta per qualsiasi tipo di calcare (indicata con L ed espressa in µm/anno), è stimata in funzione delle precipitazioni, del pH della pioggia, delle concentrazioni di SO₂ e di acido nitrico (HNO₃). La formula è la seguente (1):

$$L = 18,8 \cdot \text{Rain} + 0,016 \cdot \text{H}^+ \cdot \text{Rain} + 0,18 [\text{VdS} \cdot [\text{SO}_2] + \text{VdN} \cdot [\text{HNO}_3]] \quad (1)$$

- ✓ L = recessione superficiale nell’unità di tempo (µm/anno);
- ✓ 18.8 = coefficiente che rappresenta la solubilità di CaCO₃ in equilibrio con 330 ppm di CO₂;

- ✓ Rain = quantità di pioggia (mm/anno);
- ✓ H^+ = concentrazione di ioni idrogeno (nmol./cm³);
- ✓ VdS = velocità di deposizione di biossido di zolfo (cm/s);
- ✓ [SO₂] = concentrazione del biossido di zolfo in aria (µg/m³);
- ✓ VdN = velocità di deposizione di acido nitrico (cm/s);
- ✓ [HNO₃] = concentrazione di acido nitrico in aria (µg/m³).

I tre termini dell'equazione rappresentano rispettivamente i tre meccanismi di degrado di un materiale lapideo: effetto carsico ($18,8 \cdot \text{Rain}$), effetto pioggia acida ($0,016 \cdot [H^+] \cdot \text{Rain}$), deposizione secca ($0,18 [VdS \cdot [SO_2] + VdN \cdot [HNO_3]]$).

La funzione di Lipfert, valida per valori di pH compresi tra 5 e 6, sovrastima però il contributo dell'effetto carsico e non considera quello del particolato atmosferico che nelle aree urbane è presente in concentrazioni significative (Bonazza et al., 2009).

Nella sua più recente formulazione (2), proposta da Kucera nell'ambito del progetto europeo Multiassess (2007), la recessione superficiale dei materiali lapidei (indicata con R ed espressa in µm/anno) è stata stimata in funzione delle precipitazioni, del pH della pioggia, dell'umidità relativa e delle concentrazioni di SO₂, HNO₃ e particolato atmosferico (PM₁₀) (Kucera et al., 1993, 2007).

$$R = 4 + 0.0059 \cdot [SO_2]RH_{60} + 0.054\text{Rain}[H^+] + 0.078[HNO_3]RH_{60} + 0.0258 PM_{10} \quad (2)$$

- ✓ R= recessione superficiale nell'unità di tempo (µm/anno);
- ✓ [SO₂] = concentrazione di SO₂ (µg/m³);
- ✓ RH₆₀ = misura dell'umidità relativa quando RH > 60, altrimenti = 0;
- ✓ Rain = precipitazioni (mm/anno);
- ✓ [H⁺] = concentrazione di H⁺ nelle precipitazioni;
- ✓ [HNO₃] = concentrazioni di HNO₃ (µg/m³);
- ✓ PM₁₀ = concentrazione di particolato atmosferico (µg/m³).

In generale, è' possibile ricavare le concentrazioni di HNO₃ a partire da quelle di NO₂ e O₃ mediante la formula derivata dal progetto Multiassess (3):

$$[HNO_3] = 516 \cdot \exp [-3400/(T+273)] \cdot ([NO_2] \cdot [O_3] \cdot Rh) 0.5 \quad (3)$$

- ✓ [HNO₃], [NO₂], [O₃] = concentrazioni (in µg/m³) di acido nitrico, biossido di azoto e ozono
- ✓ T = temperatura (°C), Rh = umidità relativa (%).

La funzione di danno (2), è stata ricavata da campagne sperimentali, considerando campioni di materiale lapideo esposti a situazioni *multi-pollutants*, caratteristiche delle aree urbane. Per quanto concerne la definizione della “velocità accettabile” di deterioramento si è fatto riferimento a studi sui materiali condotti nell’ambito del programma “ICP Materials” (International Co-operative Programme on Effects on Materials, including Historic and Cultural Monuments), i cui risultati sono stati ottenuti esponendo diversi materiali all’attacco di selezionate sostanze inquinanti (Tidblad et al., 2012; U.N.–WGE, 2009)).

Dalla formula di Kucera si ricava come limite di tolleranza annuo un valore di $R < 8 \mu\text{m}/\text{anno}$ (soglia di tolleranza).

La recessione superficiale può anche essere calcolata tramite la formula (4):

$$R(\mu\text{m}) = \Delta W / A \cdot \rho \quad (4)$$

- ✓ $R(\mu\text{m})$ = recessione superficiale
- ✓ $\Delta W(\text{g})$ = variazione in peso
- ✓ $A(\text{cm}^2)$ = Area totale superficie esposta
- ✓ $P(\text{g}/\text{dm}^3)$ = densità

La velocità di deterioramento (K_a) è definita come multiplo della velocità di degrado “naturale” (o di “background”) (K_b) (5):

$$K_a = n \cdot K_b \quad (5)$$

Il valore di n è generalmente pari a 1.5, 2 e 2.5. A tali valori corrisponderebbe quindi una velocità di deterioramento accettabile che può essere ricavata dal calcolo delle “funzioni di danno”. A causa delle variazioni della composizione dell’atmosfera e della natura dei materiali che vengono generalmente analizzati, è spesso necessario utilizzare metodi statistici per calcolare il valore di K_a per casi di studio reali.

Per quanto riguarda la “Recessione Tollerabile” il valore calcolato per il 2020 era di $8 \mu\text{m}/\text{anno}$; la previsione per il 2050 è di $6.4 \mu\text{m}/\text{anno}$, tenendo conto delle azioni a livello globale per ridurre l’inquinamento atmosferico. Dall’analisi delle funzioni di danno inserite nella Piattaforma, si vede come, attraverso il monitoraggio di parametri ambientali, è possibile stimare la perdita di materiale e valutare i fattori che influenzano i costi degli interventi di conservazione, stabilendo la frequenza ottimale di manutenzione programmata.

In particolare, per uno specifico “Elemento lapideo” occorre rilevare sperimentalmente il valore delle variabili della Formula di Lipfert (modello aggiornato) con cadenza annuale e compilare, anno per anno, la tabella illustrata nella Figura 27, calcolando il valore medio annuale relativo agli anni “n” di osservazione. All’interno del modulo di classificazione dei Beni Culturali è possibile anche prevedere l’intervallo di tempo fra due successivi interventi di manutenzione, minimizzando così i costi complessivi. La Piattaforma tecnologica implementa dunque il modello di calcolo previsionale basato su serie storiche, utilizzando i risultati di rilevazioni in continuo di un insieme di parametri ambientali. Questo permette di segnalare con anticipo situazioni di allarme e di aggiornare il modello matematico che predice la perdita del valore del bene.

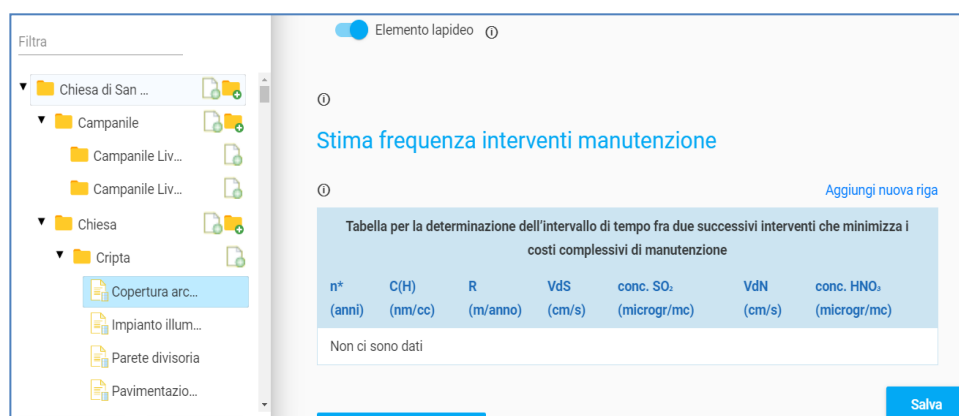


Figura 27. Stima temporale degli interventi su materiale lapideo inserita nella Piattaforma

Un fattore importante è anche l’acquisizione, l’elaborazione e la gestione di parametri indicatori di contesti indoor ed outdoor, includendo anche indicatori di diagnosi strutturale. Da questo punto di vista è possibile archiviare e visionare informazioni utili a identificare lo spazio in cui sono stati svolti i rilievi, i periodi di svolgimento, gli operatori, i procedimenti adottati, le tecniche e le strumentazioni impiegate.

Tutte queste considerazioni hanno contribuito a sviluppare e definire all’interno della Piattaforma il protocollo “He-Main” (Heritage Maintenance Innovation) che si configura principalmente come strumento innovativo per la gestione programmata del processo di manutenzione di beni di rilevanza storico-artistica. La Piattaforma è quindi uno “Strumento di Supporto alle Decisioni”, in continuo aggiornamento per intervenire, pianificare e programmare le azioni da compiere per il mantenimento di quella “materia identitaria” da tramandare. Procedure e dati scientifici e tecnici su casi di studio reali possono essere continuamente aggiunti e contribuiscono all’avanzamento della

conoscenza su esperienze concrete e ripetibili. A proposito dei casi di studio, nell'ambito del progetto "Smart Cities", la chiesa di San Pietro Barisano in Matera ha rappresentato il caso di studio reale più importante per l'applicazione dei protocolli revisti dalla Piattaforma (Tab Consulting, 2019).

2.15.2 LA CHIESA DI SAN PIETRO BARISANO: RETE DI SENSORI "INDOOR" E MONITORAGGIO "OUTDOOR"

Il monitoraggio di parametri chimici e micro-climatici ha rappresentato un utile bagaglio di dati da inserire nella Piattaforma tecnologica sia per memoria storica, che per la valutazione dei processi evolutivi di deterioramento. In ambiente "outdoor" di solito in presenza di elevata contaminazione, non è sempre possibile abbassare le soglie di rischio; in ambienti "indoor", invece, i parametri climatici e chimico-fisici possono essere controllati più facilmente tramite sistemi di gestione della climatizzazione, del riscaldamento, del ricambio di aria, etc.. La norma UNI EN 15757 (2010) individua per ogni materiale specifici intervalli microclimatici, es. di umidità relativa (UR) e temperatura dell'aria, oltre i quali non sono da trascurare i rischi di danni fisici causati, ad esempio, da tensione-deformazione soprattutto in materiali igroscopici. Queste categorie di materiali includono componenti strutturali e non come pavimenti, porte, rivestimenti, architravi, dipinti, etc.

Fatte queste premesse, considerando la particolare tipologia della chiesa di San Pietro Barisano e le particolari caratteristiche dell'ambiente "indoor", all'interno della chiesa sono state individuate 18 postazioni dove installare una serie di sensori e testare un sistema di monitoraggio "on line" dei principali parametri microclimatici (temperatura, pressione, umidità relativa, illuminamento, radiazione ultravioletta). Lo scopo di tale simulazione è stato solamente quello di verificare le potenzialità della piattaforma, mostratasi in grado quindi di raccogliere i parametri microclimatici da una rete di sensori in una simulazione di monitoraggio. In Figura 28 è mostrata l'ubicazione dei sensori sulla pianta della chiesa di San Pietro Barisano. Il punto di misura 3, con la scritta ripetitore, identifica un nodo device/ripetitore, che trasmette al nodo gateway, oltre ai dati direttamente rilevati, anche quelli trasmessi da altri nodi device.

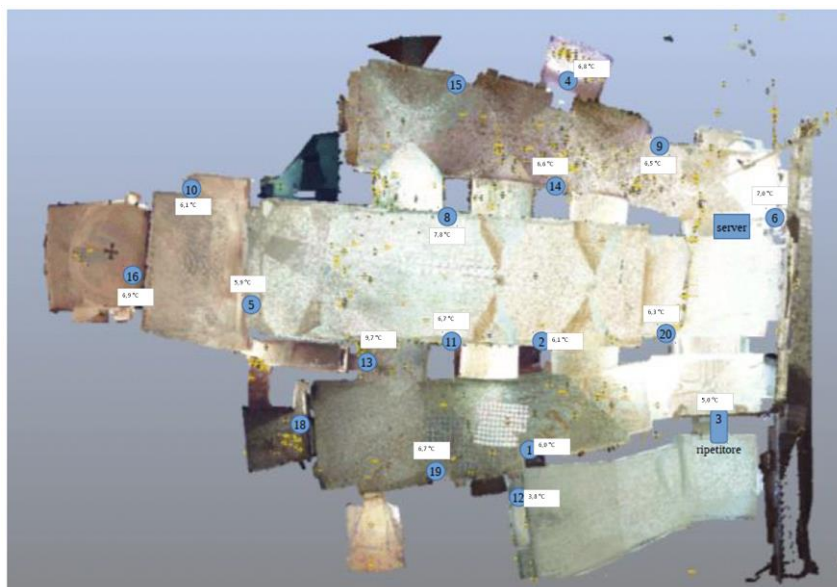


Figura 28. Ubicazione dei sensori di monitoraggio del microclima “indoor” della chiesa di San Pietro Barisano (Tab Consulting, 2019)

Per ogni punto di misura, attraverso la Piattaforma tecnologica, è stato possibile acquisire i vari dati, elaborarli, calcolare i valori medi, massimi e minimi dei parametri monitorati e le escursioni su base giornaliera e su intervalli di tempo ritenuti significativi.

La Piattaforma permette di visionare anche le elaborazioni nel tempo, i valori di riferimento e di scostamento dei vari indicatori. I dati ottenuti nel corso dello studio effettuato nell’ambito del progetto “Smart Cities” hanno consentito, per il periodo di misura di qualche mese, di delineare e valutare le condizioni meteo-climatiche all’interno della chiesa.

In riferimento alla norma UNI EN 16242 (2013), dai dati acquisiti dai sensori, è stato possibile ricavare altre grandezze a partire da parametri di base quali temperatura (t), umidità relativa (RH) e pressione atmosferica (p). Tra i parametri più utili dal punto di vista del monitoraggio dei Beni Culturali, sono stati considerati il rapporto di mescolanza, l’umidità assoluta e la temperatura di rugiada. Oltre agli indicatori microclimatici, la Piattaforma ha consentito di archiviare anche i dati relativi al monitoraggio “outdoor”. Nel caso di studio, questi ultimi sono stati acquisiti in una campagna sulla qualità dell’aria condotta all’esterno della chiesa, con l’utilizzo di un laboratorio mobile dotato di stazione meteorologica, analizzatori in continuo per l’analisi di inquinanti e di un campionatore di particolato atmosferico (PM_{10} e $PM_{2.5}$). La campagna, effettuata nel periodo ottobre-dicembre 2019, si è resa necessaria vista la carenza di dati sulla qualità dell’aria nel sito di studio. Gli inquinanti monitorati, con frequenza giornaliera, sono stati: monossido di carbonio (CO) e di azoto (NO), ossidi di

azoto (NO_x), ozono (O₃), biossido di zolfo (SO₂), benzene, toluene, etilbenzene, m,p-xileni, o-xilene, metano (CH₄), idrocarburi totali (THC), composti non metanici (NMHC). Sono stati, inoltre, registrati i parametri meteorologici: temperatura dell'aria, pressione atmosferica, umidità relativa, precipitazioni, radiazione solare globale, velocità e direzione del vento. I dati ottenuti e le relative elaborazioni sono stati poi inseriti in Piattaforma (Tab Consulting, 2019). Una sintesi dei risultati ottenuti per i vari parametri, i cui valori non hanno mai superati i limiti di legge (D.Lgs 155, 2010), è illustrata nella relazione tecnica E.B.C. (2020). A conclusione delle attività di monitoraggio è stata condotta un'attività sperimentale *in situ* rivolta alla valutazione comparativa dell'efficacia di prodotti e tecniche di pulitura delle superfici, nonché consolidamento e protezione, soprattutto per la facciata esterna alla chiesa.

CAPITOLO 3: RISULTATI E DISCUSSIONE

3.1 DEGRADO DELLE SUPERFICI NELLA CHIESA DI SAN PIETRO BARISANO

La chiesa rupestre di San Pietro Barisano presenta sia all'esterno, ma soprattutto all'interno, evidenti fenomeni di degrado della calcarenite da cui è composta la struttura. Nella calcarenite di Matera, la componente bioclastica è quella prevalente (38-48%), mentre il contenuto litoclastico è mediamente presente nel range 22-33 %. Le superfici interne appaiono porose, con valori di porosità compresi tra il 9.6% e il 18.9% e un contenuto di cemento tra 11.2% e 18.7% (Bonomo et al, 2017, 2020).

La prima fase delle indagini sul degrado delle pareti interne della chiesa ha riguardato l'analisi visiva e macroscopica dello stato delle superfici; questa ha consentito di valutare la presenza di un notevole degrado in varie aree, derivante soprattutto da contaminazione biologica, infiltrazioni di acqua, microclima interno influenzato da inadeguata ventilazione e alta concentrazione di CO₂, legata soprattutto all'affluenza turistica. In alcuni punti è stata osservata rilevante alterazione cromatica delle superfici lapidee con presenza di patine, colature, efflorescenze, alveolizzazioni e distacco di porzioni delle pareti.

Fenomeni di umidità e risalita di acqua lungo le pareti sono stati messi in evidenza da indagini termografiche condotte nell'ambito del progetto "Smart Cities" con Termocamera Flir E8. Attraverso la termografia e l'interpretazione delle relative immagini acquisite, è stato possibile ricavare preziose informazioni per la diagnostica delle superfici.

E' noto, infatti, che la fonte principale della radiazione infrarossa è il calore o la radiazione termica. Attraverso l'analisi termografica in infrarosso è possibile valutare fenomeni come presenza di umidità superficiale (misurando i flussi evaporativi in atto e quindi sfruttando il calore latente di evaporazione dell'acqua), i distacchi di intonaci, le fessurazioni e le cricche sub-superficiali in paramenti murari sottili.

Nella Figura 29 è riportata una foto termica dell'altare di San Giuseppe in San Pietro Barisano, realizzata da ricercatori dell'Università dell'Aquila, dove sono evidenziate le aree più umide e fredde (in blu), probabilmente dovute a flussi evaporativi di acqua, che ha un ruolo dominante sia nel degrado della chiesa, che nella crescita di patine biologiche.

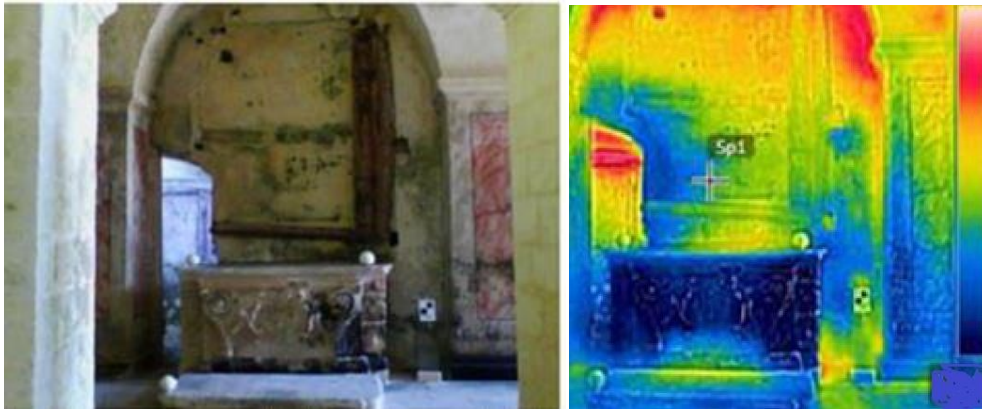


Figura 29. Foto termica (a destra) dell'altare di San Giuseppe con evidente risalita di acqua (Tab Consulting, 2019)

Queste indagini preliminari hanno confermato che l'ambiente rupestre della chiesa è caratterizzato da elevata umidità relativa (variabile tra il 60 e l'80%), infiltrazioni di acqua e scarsa ventilazione. Le superfici in pietra appaiono spesso “bagnate”, con contenuto di umidità, misurato con igrometro a contatto, talvolta superiore al 90%. È importante sottolineare che questa situazione è presente anche e soprattutto nell'ipogeo della chiesa, che si estende al di sotto della navata centrale e di quella laterale sinistra. Dopo le osservazioni visive e la identificazione delle pareti maggiormente deteriorate, l'attenzione è stata rivolta alla caratterizzazione superficiale, soprattutto in quelle aree dove era presente una estesa colonizzazione biologica.

3.1.1 INDAGINI BIOLOGICHE

Per la caratterizzazione delle colonizzazioni biologiche, le indagini sono state condotte presso i laboratori SAFE e DiCEM del Dipartimento delle Culture Europee e del Mediterraneo dell'Università della Basilicata, su campioni di patine prelevati dalle pareti, soprattutto in corrispondenza dell'altare maggiore della chiesa. Il prelievo è stato effettuato seguendo la Raccomandazione 3/80 del Ministero per i Beni e le Attività Culturali (CNR-ICR, 1980). In laboratorio, i campioni, conservati in provette Eppendorf sterili, sono stati sospesi in un volume noto di terreno di coltura, per isolare i ceppi batterici e procedere alla successiva estrazione e caratterizzazione del DNA. Le analisi sono state condotte secondo le procedure indicate da Scrano et al. (2020). Dai campioni sono state isolate e caratterizzate colonie batteriche in base alle loro differenti morfologie. I ceppi isolati sono stati purificati e il loro DNA è stato utilizzato per

l'identificazione molecolare. I ceppi batterici identificati sono elencati in Tabella 3 (tra parentesi percentuali di identificazione).

Tabella 3 - Specie batteriche identificate sulle superfici interne di San Pietro Barisano

<i>Staphylococcus warneri</i> (84%)	<i>Bacillus licheniformis</i> (80%)
<i>Paenibacillus profundus</i> (91%)	<i>Bacillus thuringiensis</i> (91%)
<i>Bacillus cereus</i> (86%)	<i>Planococcus massiliensis</i> (82%)
<i>Bacillus sonorensis</i> (93%)	<i>Paenibacillus dendritiformis</i> (96%)

Tra i batteri identificati alcune specie sono responsabili anche di infezioni nell'uomo. Sui muri interni della chiesa sono state identificate anche, mediante microscopia ottica, alcune Briofite come *Grimmia pulvinata* e *Tortula muralis*, localizzate prevalentemente in corrispondenza di zone umide a limitata areazione. La prima è una specie predominante presente in genere su rocce basiche (contenuto in silice tra il 52 e il 45%), ed è un membro peculiare delle comunità murarie, mentre la seconda è il più comune muschio che si rinviene su muri di malta con diverse sfumature (Atherton et al., 2010). Tra i colonizzatori primari, le Briofite producono materiale organico che funge da substrato per i colonizzatori secondari. Le specie sono anche indirettamente responsabili di apporto di azoto all'ecosistema, prodotto da cianobatteri spesso associati ai germogli dei muschi (Rousk et al., 2013).

Oltre alle briofite, anche specie fungine sono state identificate nelle patine biologiche delle pareti, tra cui principalmente *Aspergillus spp* e *Penicillium spp*. appartenenti al genere degli Ascomiceti (famiglia *Aspergillacee*), specie indicate spesso con il nome di Muffe grigio-verdi (Figura 30).

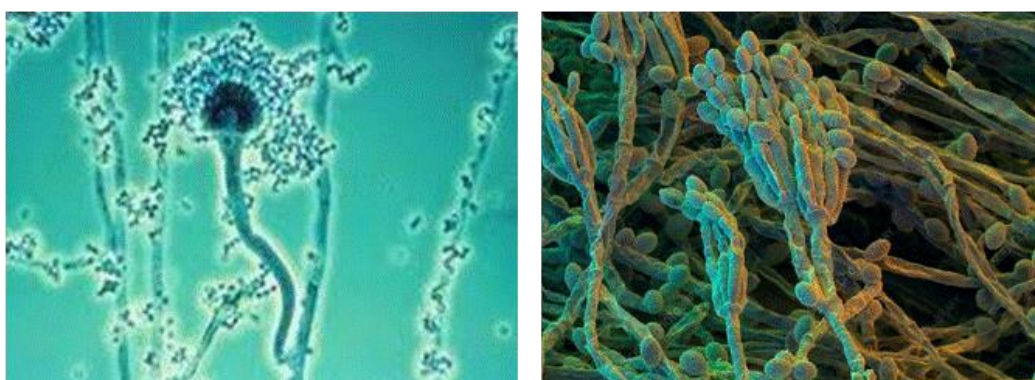


Figura 30. Caratteristiche colonie di *Aspergillus spp* (a sinistra) e *Penicillium spp*. (a destra)

Le due specie fungine identificate sono quelle più diffuse; per quanto riguarda le specie appartenenti al genere *Aspergillus*, sebbene ne esistano diverse centinaia, solo poche sono patogene per l'uomo, tra cui *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus flavus* e *Aspergillus Tenus*. I funghi che colonizzano le superfici calcarenitiche sono responsabili sia di un degrado "biochimico", per la capacità di produrre metaboliti (es. acidi organici che intaccano i calcari), sia biofisico, per la espansione e contrazione delle ife che causano fratture nella roccia. La presenza di funghi all'interno della chiesa di San Pietro Barisano e del suo ipogeo non ha solo un ruolo negativo in questo senso, ma può essere responsabile anche di problemi legati alla salute dell'uomo. Le specie fungine liberano, infatti, nell'aria spore e tossine responsabili di manifestazioni cliniche, come allergie e infezioni del tratto respiratorio.

3.1.2 CARATTERIZZAZIONE DELLE PATINE SUPERFICIALI MEDIANTE ANALISI XPS

Dal quadro delineato dalle indagini sia di tipo visivo che biologico, le ricerche sono state indirizzate alla caratterizzazione, mediante spettroscopia XPS, di aree superficiali interne alla chiesa, soprattutto dove era evidente la presenza di patine o efflorescenze. Sono stati individuati allo scopo nove punti di campionamento caratterizzati da differenti tipologie di degrado.

Nella Figura 31 è riportata in pianta la disposizione dei principali elementi architettonici della chiesa e le zone di prelievo, cerchiato in rosso. Il prelievo dei campioni è stato effettuato asportando delicatamente una piccola porzione di patina o superficie dalle pareti con una spatola di acciaio, evitando di raccogliere campione da strati profondi. In particolare, i campioni #1, #2, #3, #4, #5 (Figura 31) sono stati prelevati su una parete degradata situata sul lato destro dell'altare maggiore (punto 5 in pianta Figura 31). Altri due campioni, #6 e #7, sono stati prelevati su una colonna accanto alla parete precedente, che presentava segni di affreschi, ormai non più visibili. Su questa colonna la superficie non presentava biodegrado evidente, ma distacchi e fenomeni di concrezione, dovuti a infiltrazioni di acqua e probabile risalita di umidità. Il campione #8 è stato prelevato in corrispondenza dell'altare laterale di San Giuseppe, posto in prossimità dell'entrata della navata laterale destra (punto 1 in pianta, Figura 31).

Accanto all'altare di San Giuseppe è stato aperto nel 1995 un varco di accesso a un ossario ricavato nella parte terminale di una cappella cinquecentesca completamente

affrescata. La stanza era caratterizzata in passato dalla presenza di numerosi affreschi, ormai in stato di degrado, al di sotto dei quali è visibile una estesa colonizzazione biologica. In questa stanza (punto 2 nella pianta, Figura 31) è stato prelevato il campione #9, in una area in cui ricercatori dell'Università dell'Aquila avevano sperimentato una operazione di biocleaning della superficie con idrogel a base di alginato di sodio (5% in peso) e $\text{Ca}(\text{ClO})_2$ (0.4 % in peso) (Gabriele et al., 2021 a e b).

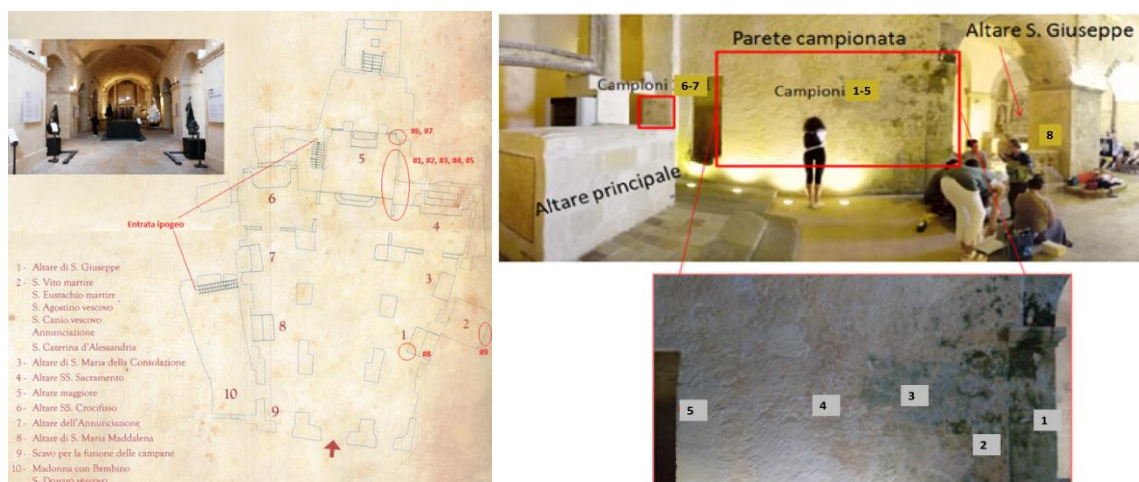


Figura 31. Pianta della Chiesa di San Pietro Barisano (a destra) e punti di prelievo

Per le analisi XPS, i campioni in laboratorio sono stati omogeneizzati in mortaio di agata, pressati su nastro biadesivo di rame, opportunamente fissato su un portacampione in acciaio e introdotti in sicurezza nella camera di analisi dello spettrometro SPECS Phoibos 100-MCD5. Le condizioni operative delle analisi sono quelle descritte nel Capitolo 2. Per una visione qualitativa e per individuare gli elementi principali presenti nei campioni in esame, è stato acquisito preliminarmente lo spettro “wide”, ovvero uno spettro esteso a tutto l’intervallo di energie cinetiche (KE) esplorabili dalla sorgente a raggi X (100-1500 eV). Ogni spettro è stato acquisito sia in modalità FAT (Fixed Analyzer Transmission) che FRR (Fixed Retarding Ratio). Ogni picco dello spettro, relativo a un segnale primario o secondario, è associabile ad uno specifico livello orbitalico di un dato elemento.

Lo spettro “wide” ha permesso di individuare per ogni elemento i picchi più intensi e di acquisire poi a maggior risoluzione le regioni di interesse (spettri dettagliati). Gli spettri dettagliati sono stati acquisiti in modalità FAT, con un'energia di passo costante di 9 eV e larghezze di canale di 0.1 eV e sono stati risolti nei picchi componenti mediante la procedura di “curve-fitting”, utilizzando il programma Googly (Briggs & Seah, 1990). Si

è ottenuta così per ogni elemento, una “struttura fine” che permette di ricavare per ogni campione informazioni qualitative (stati chimici) e quantitative (mediante la valutazione delle aree dei picchi).

Per una buona interpretazione delle spettri dettagliati, sono da tenere in particolare considerazione le componenti spettrali e loro caratteristiche, ovvero picchi dovuti alla fotoemissione di elettroni dagli orbitali interni (di core) e picchi satellite dovuti a processi di shake-up e di multiplet splitting (strutture secondarie).

I picchi di “core” degli orbitali s si presentano come singoletti, mentre altri orbitali (es. gli orbitali 2p) danno origine a doppietti derivanti dall'accoppiamento del momento angolare di spin con il momento angolare orbitale dell'elettrone (accoppiamento spin-orbita). La separazione e la relativa intensità dei doppietti sono dipendenti dal numero atomico e dal tipo di orbitale.

In questo lavoro, le posizioni dei picchi sono state corrette con i valori di BE (Bending Energy) riferite al picco C1s del carbonio nel legame C-C alifatico e confrontate con i dati di letteratura e il database di riferimento standard NIST (NIST, 2012). Le aree dei picchi, normalizzate con fattori di sensibilità specifici di ogni orbitale (Briggs & Grant, 2003), sono state convertite poi in composizione atomica percentuale (At%), con procedure e fattori di sensibilità appropriati. Le AT% sono state poi utilizzate per le analisi semi-quantitative.

Analisi XPS del campione #1. In Figura 32 sono riportati gli spettri “wide” registrati per il campione #1, acquisiti in modalità FAT (arancione) e FRR (blu). Per confronto con i valori tabulati della KE, sono stati individuati nelle varie regioni i segnali principali: Mg1s, Na1s, O1s, N1s, Ca2p, C1s, Cl2p, S2p, Si2p.

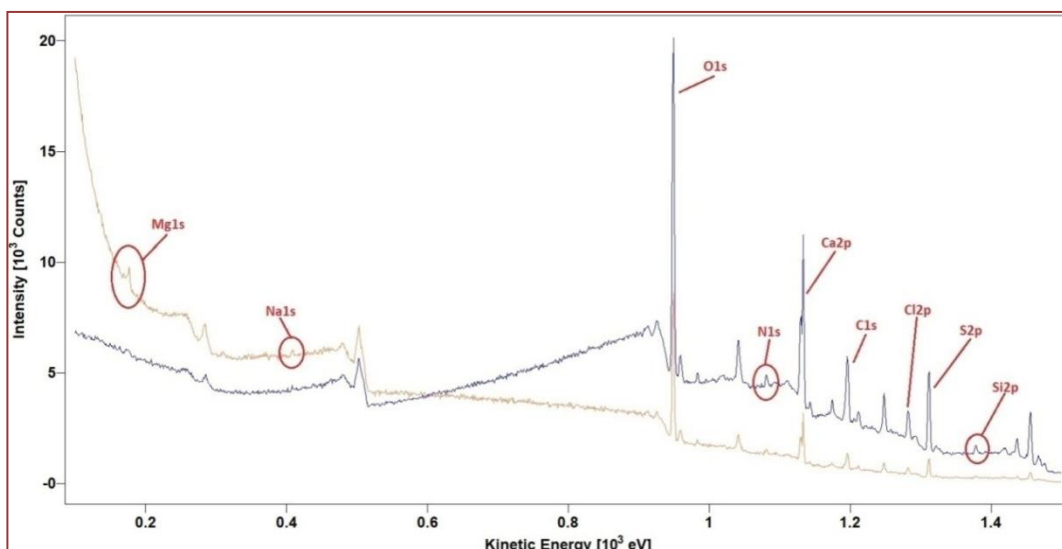


Figura 32. Spettri wide del campione #1 registrati in modalità FAT (arancione) e FRR (blu)

Analisi della regione C1s. Nella regione del segnale principale del Carbonio, derivante dall'orbitale 1s, sono stati individuate, tramite curve fitting, 5 componenti del picco fotoelettronico (Figura 33), le cui energie di legame (BE corrette per il fattore di caricamento individuale) e le relative attribuzioni, sono riportate in Tabella 4.

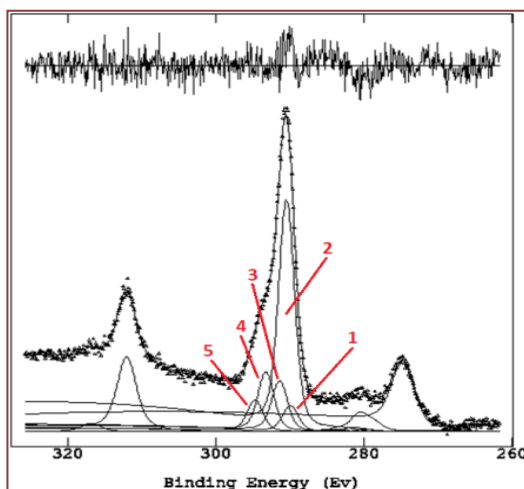


Figura 33. Curve fitting della regione C1s

Tabella 4 - Assegnazione dei picchi C1s, energie di legame corrette e attribuzioni

# Picco	BE corretta (eV)	Area Normalizzata	Attribuzione
1	284.5	1478.3	C aromatici
2	285.0	15582.0	C-C
3	285.9	3413.2	C-O, C-N
4	287.8	4020.7	C=O, O-C-O
5	289.2	2122.9	$(\text{CO}_3)^{2-}, (\text{C}_2\text{O}_4)^{2-}$

- Il picco 1 è relativo a composti aromatici la cui natura è probabilmente legata alla presenza nel campione di residui organici presenti nella patina campionata.
- Il picco 2 è il segnale del carbonio alifatico (285.0 eV); questo funge da riferimento interno e permette di correggere i valori delle BE. In particolare, il picco del C1s alifatico cade, teoricamente, a 285.0 eV e dunque dalla differenza tra il valore teorico e quello sperimentale, è possibile calcolare il fattore di caricamento e sottrarlo a tutti i valori di BE dei segnali acquisiti.
- Il picco 3 è attribuibile alla presenza di gruppi con legami (-C-O) e (-C-N).
- Il picco 4 è relativo a composti con gruppi chetonici (-C=O) e/o gruppi (O-C-O).
- Il picco 5 è il segnale attribuibile al carbonato di calcio, ossia al carbonio implicato nella formazione di legami con tre atomi di ossigeno. Questo picco è caratteristico della matrice carbonatica, sottostante la patina biologica.

Nel campione #1 sono state rilevate anche tracce di ossalato di calcio ($\text{C}_2\text{O}_4^{2-}$), derivante dalla attività biologica nel biofilm e presenti nel picco 5 (Scrano et al., 2020).

Analisi della regione Ca2p. In questa regione, tramite curve fitting, sono stati individuati sei diversi picchi componenti (Figura 34). La forma spettrale della regione Ca2p riporta i doppietti del $2p_{3/2}$ e del $2p_{1/2}$ e i corrispondenti satelliti di shake up (quest'ultimi legati ad una particolare perdita di energia degli elettroni, come riportato nel database NIST) (Tabella 5).

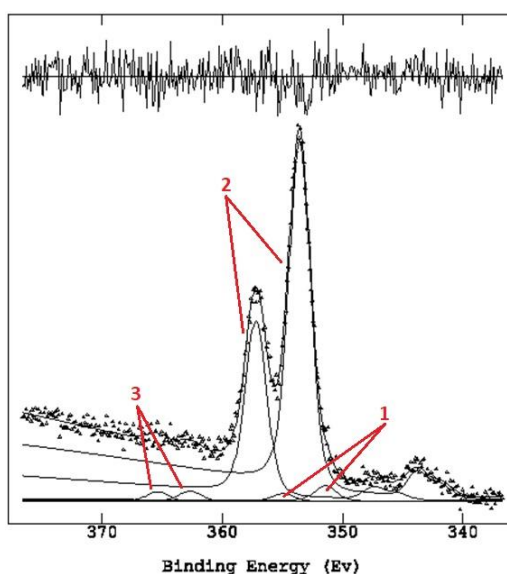


Figura 34. Curve fitting della regione Ca2p

Tabella 5 - Assegnazione dei picchi Ca2p, energie di legame corrette e attribuzioni

# Picco	BE corretta (eV)	Area Normalizzata	Attribuzione	
1	Ca2p _{3/2}	345.9	79.1	CaO
	Ca2p _{1/2}	349.4	41.5	CaO
2	Ca2p _{3/2}	348.1	1811.6	CaCO ₃
	Ca2p _{1/2}	351.7	905.8	CaCO ₃
3	Ca	357.2	53.3	shake up
	Ca	359.9	49.8	shake up

Analisi della regione O1s. In questa regione tramite curve fitting sono stati individuati due diversi picchi componenti a 531.1 eV (corrispondente a ossidi di vari metalli e semimetalli tra cui Mg, Ca e Si) e a 532.5 eV (corrispondente ad altre specie ossigenate organiche e inorganiche) (Figura 35 e Tabella 6).

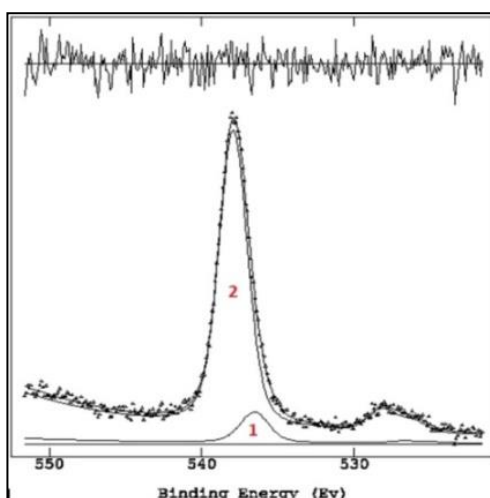


Figura 35. Curve fitting della regione O1s

Tabella 6 - Assegnazione dei picchi O1s, energie di legame corrette e attribuzioni

# Picco	BE corretta (eV)	Area Normalizzata	Attribuzione
1	531.1	1151.5	MgO, CaO, SiO _x
2	532.5	11314.1	CaCO ₃ , O-R

Analisi della regione S2p. In questa regione tramite curve fitting (Figura 36) è stato individuato un doppietto relativo a un orbitale 2p_{3/2} e a un orbitale 2p_{1/2}. In base ai dati disponibili di letteratura, si è individuata la presenza di solfati ((SO₄)²⁻) (Tabella 7).

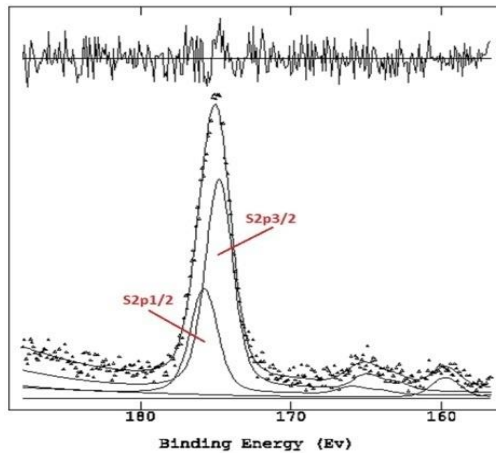


Figura 36. Curve fitting della regione S2p

Tabella 7 - Assegnazione dei picchi nella regione S2p, energie di legame corrette e attribuzioni

# Picco	BE corretta (eV)	Area Normalizzata	Attribuzione
S2p _{3/2}	169.3	1464.7	(SO ₄) ²⁻
S2p _{1/2}	170.3	732.3	

Analisi delle regioni Mg1s, Na1s, Si2p. L'analisi dettagliata, mediante "curve fitting", delle regioni relative agli orbitali Mg1s e Na1s, ha permesso di identificare un singolo picco rispettivamente a 1305.0 eV (corrispondente a ossido di magnesio) e a 1072.7 eV (corrispondente a NaCl). Per la regione Si2p l'analisi dettagliata mostra un unico picco la cui posizione (103.1 eV) corrisponde alla matrice silicatica SiO_x del campione. Di seguito sono riportati i grafici relativi al "curve fitting" delle regioni dettagliate suddette (Figura 38). In Tabella 8 le corrispondenti assegnazioni.

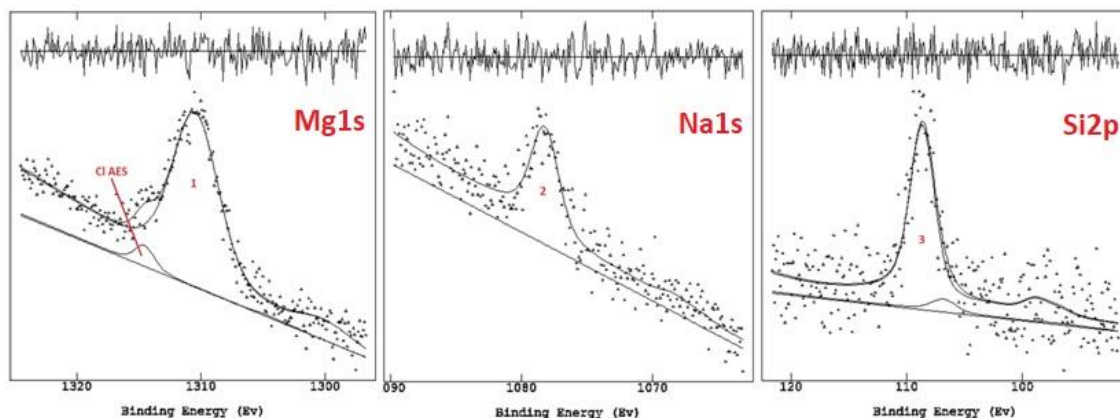


Figura 38. Curve fitting delle regioni Mg1s, Na1s, Si2p

Tabella 8 - Assegnazione dei picchi, energie di legame corrette e attribuzioni

# Picco	BE corretta (eV)	Area Normalizzata	Attribuzione
1	1305.0	1035.2	MgO
2	1072.7	226.3	NaCl
3	103.1	360.1	SiO _x

Calcolo dell'Atomic Percentage (At%). Dai valori delle aree normalizzate, ottenute tramite *curve fitting* delle varie regioni dettagliate, si è calcolato l'Atomic Percentage (At%) relativa alle varie specie identificate. Tale dato permette di ricavare la percentuale delle varie specie presenti e di effettuare una valutazione semiquantitativa relativa ai vari campioni. I risultati ottenuti sono stati poi visualizzati nei grafici a torta di seguito riportati.

Per il campione #1, prelevato in una zona con evidente patina biologica verde-scura, la determinazione dell'At% (Figura 39) mostra che il 77.4% del campione è composto da componenti carboniose associabili a composti organici (aromatici, C-C, C-O-C, C-O, C=O ecc). La presenza di carbonato, composti del silicio (SiO_x), cloruri e altri metalli alcalino terrosi, è legata, invece, alla natura strutturale del materiale lapideo (calcarenite), campionato unitamente alla patina. Il contenuto di solfati (7.4%) potrebbe essere associato alla presenza di gesso, mentre quella dell'ossalato a metabolismo biologico relativo alla patina.

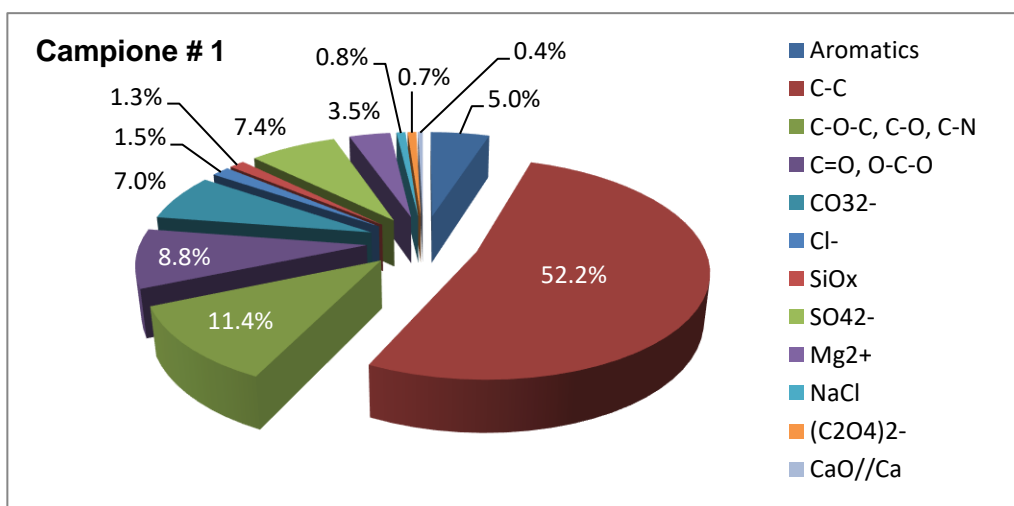


Figura 39. Distribuzione percentuale dei vari gruppi identificati nel campione #1

Analisi XPS e attribuzioni per i campioni dal #2 al #9. Le metodologie di analisi applicate per il campione #1 sono state replicate poi per tutti gli altri campioni. Per

brevità non vengono riportati tutti gli spettri wide e dettagliati, ma solo i risultati finali relativi all'At% e alle specie chimiche attribuite. Il campione #2 è stato campionato in un'area prossima al campione #1, dove però il degrado superficiale era meno evidente. Dall'analisi XPS e dal calcolo degli At% (Figura 40), anche in questo caso si nota la presenza di contaminazione organica (64%) e la presenza di solfato (4.2%) e ossalato (8.7%).

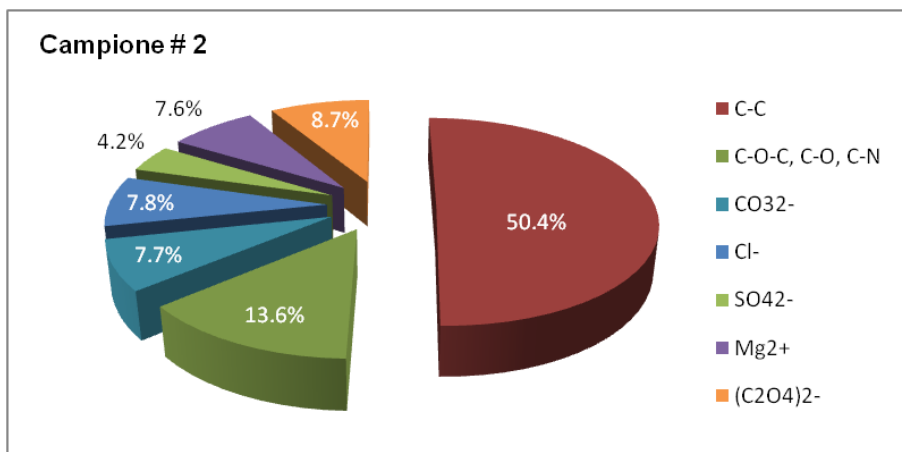


Figura 40. Distribuzione percentuale dei vari gruppi identificati nel campione #2

Rispetto al campione #1 non si individuano specie quali SiO_x, CaO e NaCl, probabilmente presenti a concentrazioni minoritarie non rilevabili dalla tecnica, mentre si registra una maggior percentuale di ossalato di calcio, legata presumibilmente ad attività biologica. La percentuale di carbonato è più o meno la stessa di quella riscontrata nel campione #1.

Il campione #3 è stato prelevato in una zona visivamente meno affetta da biodegrado. Tale valutazione è confermata dalla presenza di minor percentuale di materiale organico (59.9%) e solfato (1%), ma anche da una maggior percentuale relativa al carbonato di calcio (24.5%), costituente principale del materiale calcarenitico (Figura 41).

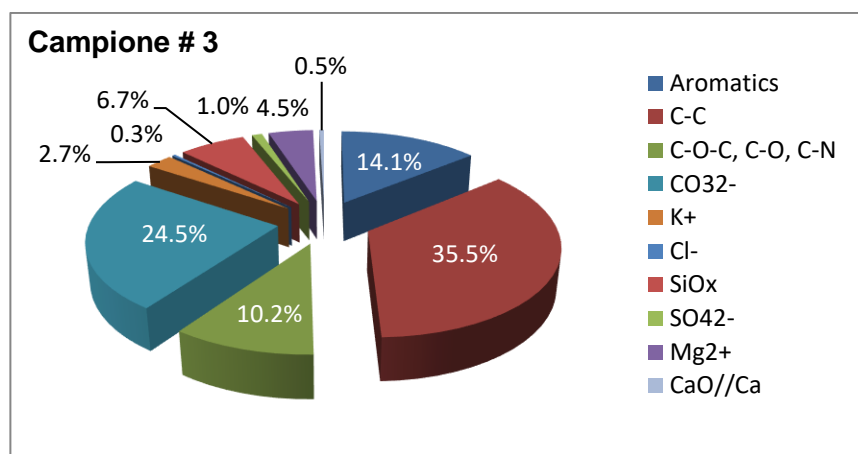


Figura 41. Distribuzione percentuale dei vari gruppi identificati nel campione #3

Il campione #4 è stato prelevato in un'area dove, visivamente, non si notava la presenza di patina biologica. La colorazione biancastra della superficie, dove il campione è stato prelevato, induce a pensare alla eventuale presenza di efflorescenza. Dai risultati riportati in Figura 42, si nota, infatti, la presenza di nitriti, nitrati e solfati, ossia di sali solubili che sono alla base dei fenomeni di efflorescenza derivanti da umidità, infiltrazioni di acqua dal terreno o dal soffitto e successiva evaporazione, per differenza di tensione di vapore tra il composto idrato e il vapor acqueo atmosferico. La percentuale di carbonio organico (51.2%), minore rispetto ai campioni precedenti, e l'assenza visiva di una patina verde scura, lascia supporre la presenza di contaminazione di altri microrganismi non fotoautotrofi, essendo la parete esposta anche al passaggio dei visitatori della chiesa. La bassa percentuale di carbonato di calcio (6%) è indicativa comunque del degrado calcarenitico anche in questo punto di prelievo.

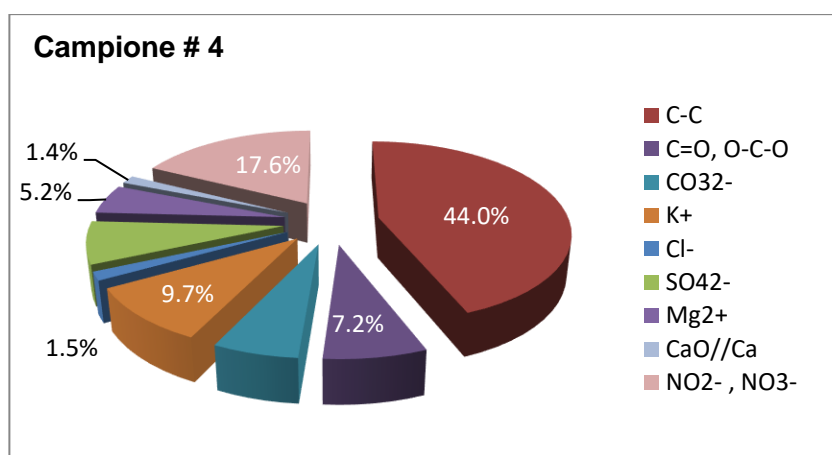


Figura 42. Distribuzione percentuale dei vari gruppi identificati nel campione #4

Per quanto riguarda l'ultimo campione prelevato nella parete accanto all'altare maggiore (campione #5), da una analisi visiva, anche qui non si è riusciti a evidenziare patine evidenti. Dai risultati analitici riportati in Figura 43, si riscontra una minore quantità di nitrati e solfati e un aumento della percentuale di carbonato di calcio (25.5%). La percentuale di carbonio organico (57.7%) è ancora indice però della presenza di materiale organico, derivante probabilmente dalla presenza di specie batteriche non fotosintetiche, che degradano la materia organica contenente azoto producendo composti azotati come i nitriti, presenti in concentrazione apprezzabile (5.6%).

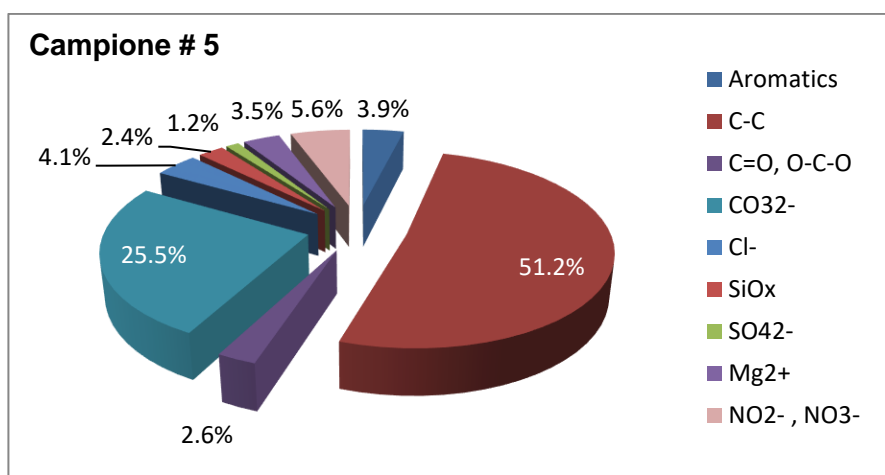


Figura 43. Distribuzione percentuale dei vari gruppi identificati nel campione #5

I campioni #6 e #7 sono stati prelevati su una colonna accanto alla precedente parete analizzata su cui erano evidenti anche segni della presenza di affreschi ormai deteriorati (Figura 44). La parete non è affetta visivamente da biodegrado, ma l'area campionata, presentava distacchi di superficie e fenomeni di concrezioni, dovuti a infiltrazioni di acqua e anche qui probabile risalita di umidità.

In Figura 45 è mostrata la distribuzione percentuale dei vari gruppi identificati per il campione #6. La percentuale di carbonio organico (60.4%) è legata probabilmente anche alla presenza di residui di pitture sulla superficie. La seconda specie più abbondante (21.2%) è quella del carbonato di calcio del substrato calcarenitico, che contiene magnesio (8.5%) derivante dalla dolomite costituente il materiale.

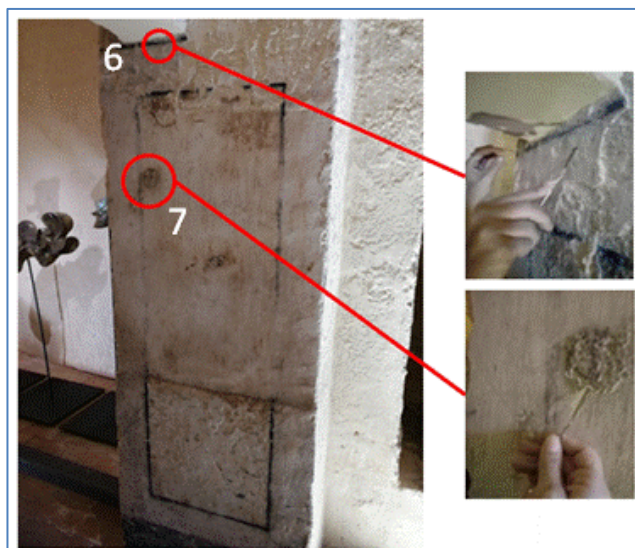


Figura 44. Particolare delle aree di prelievo dei campioni #6 e #7

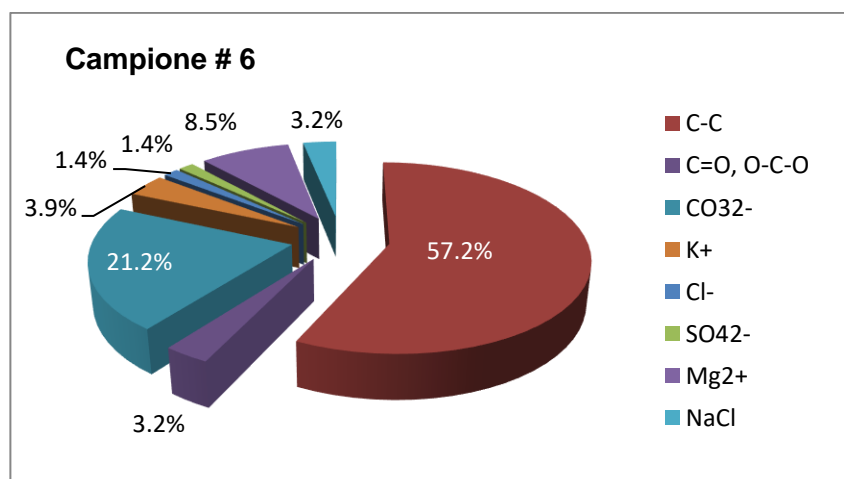


Figura 45. Distribuzione percentuale dei vari gruppi chimici identificati nel campione #6

Il campione #7 è stato prelevato in una zona affetta da concrezioni. In questo caso, nel grafico di distribuzione (Figura 46), si notano maggiormente i costituenti della roccia carbonatica (carbonato di calcio, magnesio, etc.). Diversamente dal campione #4, dove l'elevata percentuale di nitrati/nitriti fa pensare a fenomeni di efflorescenza che porta ad avere zone estese di colore biancastro con formazione di specie cristalline polverulenti, nel campione #7 la concrezione individuata risulta compatta e di estensione limitata come forma prevalente stalattitica. Da notare l'alta percentuale di carbonato, magnesio e cloruro sodico.

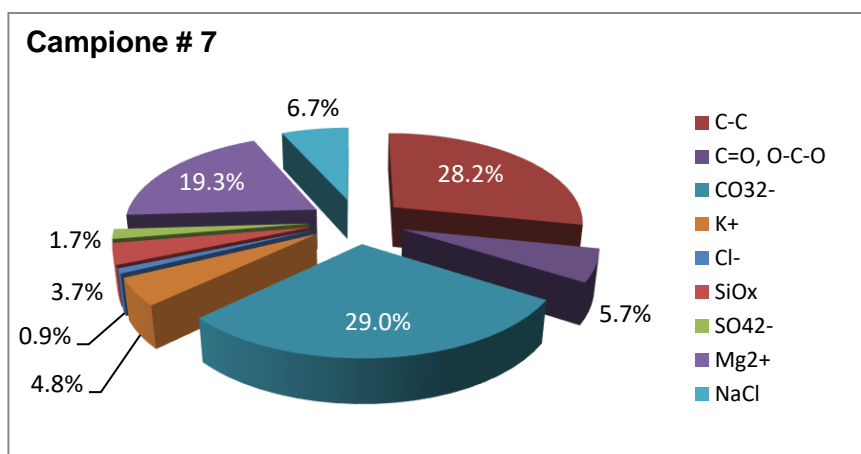


Figura 46. Distribuzione percentuale dei vari gruppi identificati nel campione #7

Il campione #8 è stato prelevato in corrispondenza dell'altare laterale di S. Giuseppe (Figura 47) posto in prossimità dell'entrata della navata laterale destra (punto 1 nella pianta, Figura 31).



Figura 47. Altare di San Giuseppe, Chiesa di San Pietro Barisano

Da una prima analisi visiva si nota chiaramente la presenza di croste nere diffuse soprattutto alla base e nell'angolo destro dell'altare. Dai risultati delle analisi XPS riportati nel grafico di Figura 48, si riscontra nel campione #8 una bassa percentuale di componenti lapidee (CaCO_3 , MgO). Il carbonio organico si attesta intorno a valori elevati (78.8%). Questo dato è certamente legato alla presenza di una crosta biologica, prodotta probabilmente da specie fungine. La presenza di ossalato conferma la tipica composizione delle croste nere, che potrebbero aver incorporato anche particolato proveniente dal pavimento della chiesa. La presenza di sali azotati, quali nitriti e nitrati, è indice di attività batterica, certamente favorita dalla presenza di umidità sulle superfici, come evidenziato da indagini termografiche precedentemente citate.

L'origine delle patine di ossalato è tuttora oggetto di valutazione controversa. Esistono due “correnti di pensiero”: una afferma che l'ossalato di calcio è il risultato di trasformazioni di trattamenti a base di sostanze organiche applicate nel passato alla pietra a scopo protettivo e/o estetico; l'altra mette in relazione le pellicole di ossalato con la crescita di organismi, come i funghi, che colonizzando la superficie, producono ossalato di calcio con il loro metabolismo (Cariati et al., 2000). L'acido ossalico è prodotto da un numero piuttosto vasto di organismi tra cui batteri, funghi, licheni e piante superiori.

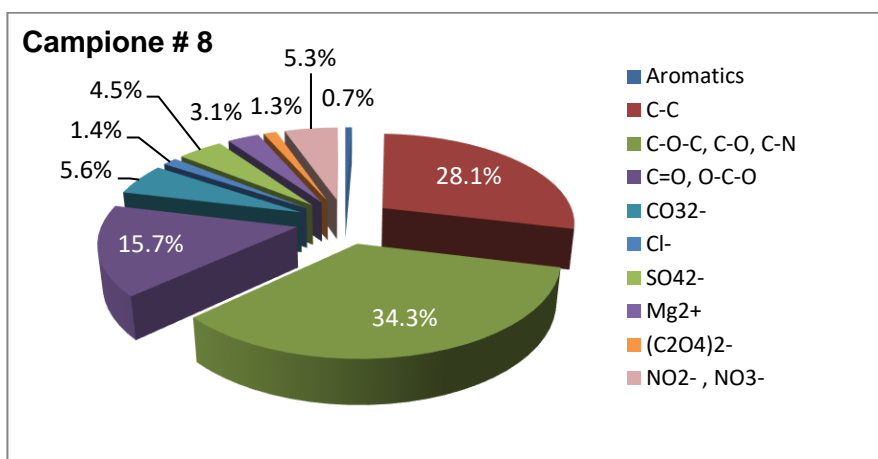


Figura 48. Distribuzione percentuale dei vari gruppi identificati nel campione #8

In ultimo, il campione #9 è stato prelevato nella stanza adiacente all'altare di S. Giuseppe (punto 2 nella pianta di Figura 31). La stanza era caratterizzata in passato dalla presenza di numerosi affreschi, ormai in rilevante stato di degrado; al di sotto di essi è presente una estesa patina biologica di colore verde-scuro. In questa stanza, al di sotto dell'affresco di San Canio Vescovo (Figura 49), ricercatori dell'Università dell'Aquila hanno sperimentato un trattamento di pulizia con biogel a base di ipoclorito di calcio (macchia chiara nella Figura 49). In questa zona “trattata” è stato prelevato il campione #9, anche al fine di verificare le condizioni di ripristino della superficie calcarea dopo l'operazione di pulizia.



Figura 49. Affresco di San Canio Vesvovo (ormai deteriorato) e area di prelievo del campione

Visivamente la superficie è sembrata ripulita completamente dalla patina, ancora presente nell'intorno della zona di prelievo (Bernardo et al., 2021). Dai risultati dell'analisi XPS, riportati in Figura 50, si riscontra, infatti, la presenza della componente carbonatica (CaCO_3) intorno al 33.8%, più alta che negli altri campioni. La componente organica però, intorno al 58.8%, non è trascurabile; questo dato potrebbe essere relativo o a una non totale pulizia della superficie con un singolo trattamento oppure, vista la porosità della superficie, a residui sulla parete di gel derivante dal trattamento.

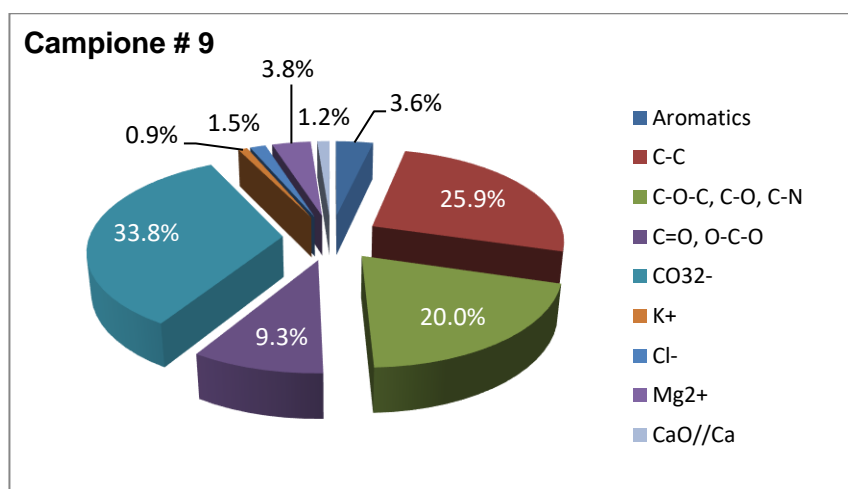


Figura 50. Distribuzione percentuale dei vari gruppi identificati nel campione #9

Dall'analisi di tutti i risultati ottenuti per i nove campioni è interessante notare come la frazione di carbonio organico (intesa come sommatoria di tutti i gruppi di carbonio organico identificati) è presente in tutti i campioni con un valore medio del 60% e valori massimi nel campione #8 (altare di San Giuseppe, dove si osservano croste nere) e nel campione #1 (porzione di parete con estesa patina verde-scuro) (Figura 51). In questi campioni si osserva anche la presenza di ossalato, probabilmente derivante dal

metabolismo microbico presente nelle patine. Il valori minimi di carbonio organico sono stati riscontrati nel campione #7, dove però è evidente il fenomeno della efflorescenza, confermato visivamente e dalla maggiore presenza di sali di magnesio e di sodio (NaCl).

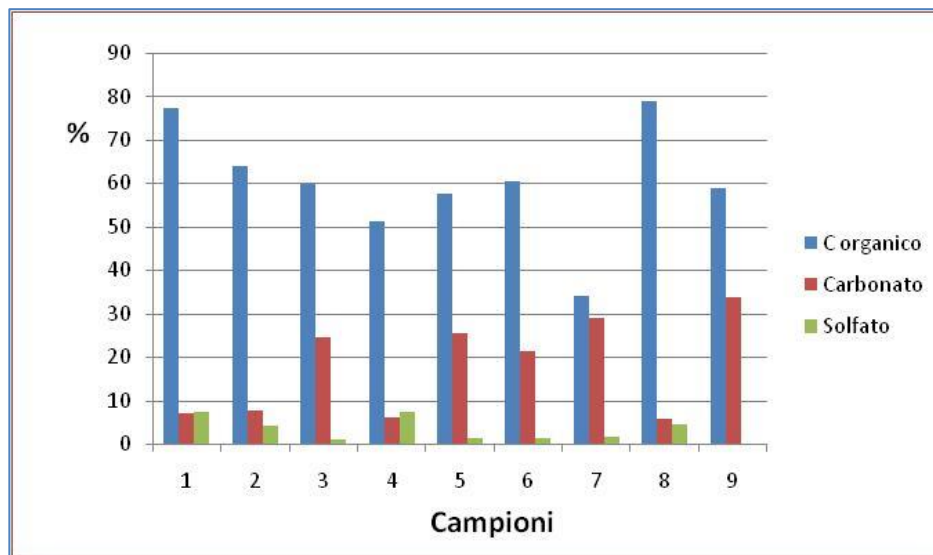


Figura 51. AT% relativo al carbonio organico totale, carbonato e solfato nei campioni analizzati

Nei vari campioni, il valore medio della percentuale del carbonato, caratteristico del substrato calcarenitico, è del 17%, con valori più elevati nel campione #9 e nel campione #7, visivamente più puliti. Il solfato è stato evidenziato in tutti i campioni, tranne che nel campione #9, probabilmente perché dilavato come gesso nell'operazione di pulizia effettuata sulla parete.

La presenza di solfato sotto forma di gesso è stata anche confermata da indagini di diffrazione a raggi X (Figura 52) su campioni di calcarenite prelevati all'interno della chiesa, sulla parete laterale destra dell'abside interessata da fenomeni di efflorescenze saline (Campanella et al., 2021). Queste indagini hanno dimostrato che la calcite (CaCO_3) e la dolomite ($\text{MgCa}(\text{CO}_3)_2$) sono i minerali prevalenti nella pietra, con una minore presenza di gesso ($\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), quarzo (SiO_2), nitrato (NaNO_3) e akermanite ($\text{Ca}_2\text{MgSi}_2\text{O}_7$). Come si vede il calcio è presente in almeno tre minerali costituenti la calcarenite.

Per quanto riguarda il solfato di calcio, è noto che il composto può esistere in tre livelli di idratazione corrispondenti a diverse strutture cristallografiche e a diversi minerali presenti in natura: anidrite (CaSO_4 anidro), gesso ($\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) e bassanite o emidrato ($\text{CaSO}_4 \cdot \frac{1}{2} \text{H}_2\text{O}$). Le indagini diffrattometriche hanno dimostrato che il gesso è la fase principale che si riscontra nella calcarenite, poiché la bassanite si forma solo in

condizioni molto specifiche. Pertanto, la causa principale del danno indotto nelle pietre calcarenitiche, è legata ai cicli di cristallizzazione del gesso all'interno del materiale poroso, svolgendo quest'ultimo un ruolo critico nel determinare l'entità e il tipo di deterioramento. Il deterioramento indotto dal gesso è accentuato anche dalla presenza di altri sali, in particolare sali deliquescenti, che consentono una maggiore solubilità e migrazione del gesso meno solubile.

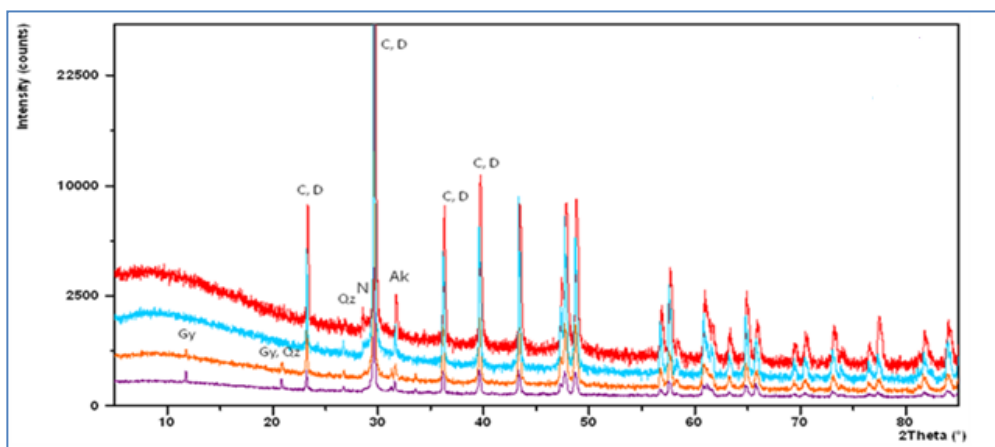


Figura 52. *Diffratteogrammi di 4 campioni prelevati dall'interno della Chiesa di San Pietro Barisano (C = calcite; D = dolomite; Gy = gesso; Qz = Quarzo; N = nitratina; Ak = akermanite) (Bernardo et al., 2021).*

Per i nove campioni analizzati e per i vari risultati ottenuti dall'analisi XPS è stata effettuata una valutazione statistica esplorativa mediante la "Principal Component Analysis" (PCA), al fine di individuare per ogni campione indicatori significativi da correlare alla tipologia di danno. Allo scopo è stata elaborata una matrice dati costituita dai campioni e dai gruppi identificati dalle varie attribuzioni XPS con le relative AT%. La matrice è stata pretrattata tramite le procedure di centraggio e scalatura (vista la presenza di variabili discrete) e nella PCA sono state considerate le prime quattro componenti. Queste, infatti, spiegando più dell' 80% della varianza (Figura 53), possono essere considerate utili per l'analisi dei dati.

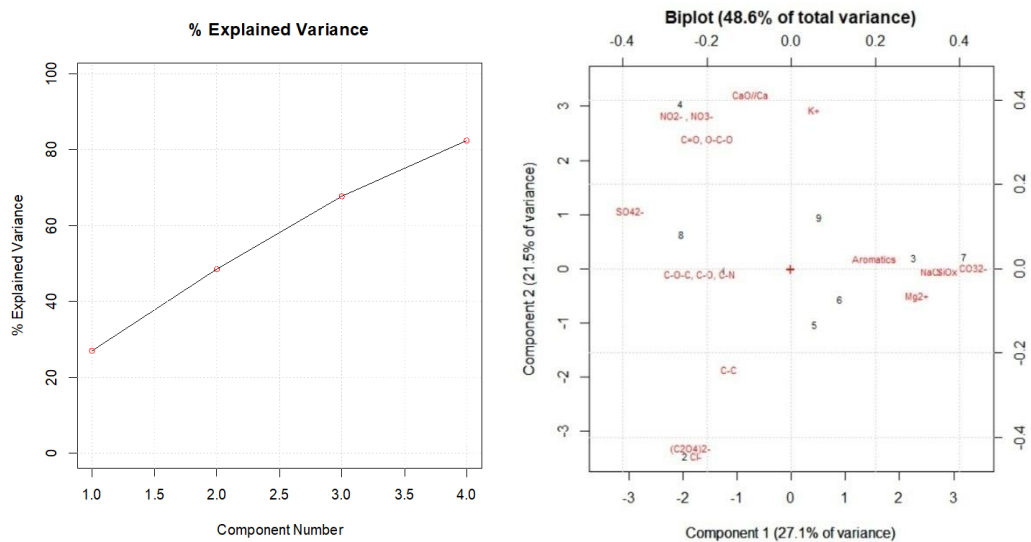


Figura 53. Varianza spiegata dalle prime 4 componenti principali (a sinistra) e Biplot PC1 vs PC2 (a destra)

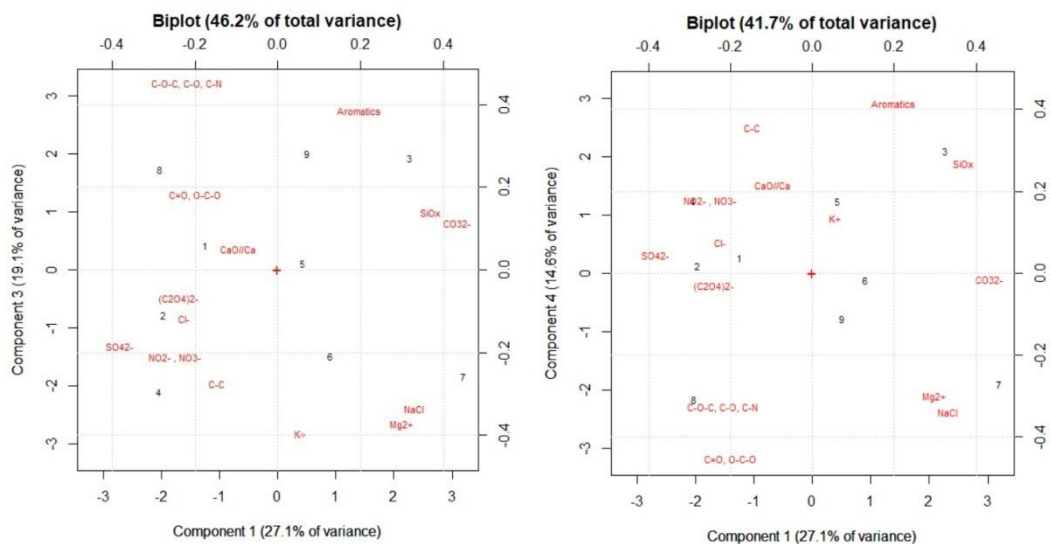


Figura 54. Biplot PC1 vs PC3 (a sinistra) e biplot PC1 vs PC4 (a destra)

Il biplot di Figura 53 riporta in grafico contemporaneamente variabili e campioni secondo le prime due componenti principali. Dato che le prime due componenti principali sono in grado di spiegare solo circa il 50% della varianza totale, ulteriori valutazioni sono state fatte ricavando il biplot dalla prima contro la terza componente principale e successivamente contro la quarta componente principale (Figura 54) al fine di valutare il peso di ogni variabile per i vari campioni. Nell'interpretazione dei biplot, è importante notare che le variabili che cadono nella stessa area del grafico, presentano una correlazione positiva con i campioni; anche le variabili in posizione opposta possono risultare interessanti, in questo caso presentando correlazione negativa con i campioni. Dal confronto dei biplot si evince, ad esempio, come il campione #3 sia

caratterizzato da elevati valori di composti aromatici e silicati (SiOx), mentre il campione #7 da elevati valori di Mg⁺⁺ e NaCl.

Il campione #2 è caratterizzato da elevati valori di ossalato di calcio e Cl⁻, mentre per il campione #4 si riscontrano alti valori di nitrati e nitriti. Per quanto riguarda lo ione carbonato, si nota che esso viene descritto principalmente dalla prima componente ed è correlato positivamente con i campioni (#3, #5, #6, #7 e #9). Il carbonio organico è, invece, caratterizzante del campione #8 dove sono state riscontrate le croste nere. Le restanti variabili, infine, si distribuiscono fra i vari campioni, dato il basso numero disponibile degli stessi. Quanto descritto sino ad ora trova conferma con le considerazioni precedentemente fatte e nella tipologia di danno identificato all'inizio dell'analisi e permette di identificare dei descrittori da associare a ogni campione. Dalle indagini effettuate e dai risultati ottenuti è evidente che uno dei fattori chiave da cui origina il degrado all'interno della chiesa di San Pietro Barisano è la presenza di elevata umidità soprattutto sulle pareti. Il controllo del microclima interno assume, pertanto, particolare importanza per la salvaguardia di questo “monumento lapideo” (Camuffo, 2019). L'umidità influenza e catalizza molte reazioni chimiche; inoltre, sia la temperatura che l'umidità, giocano un ruolo determinante nello sviluppo di muffe, batteri, e agenti biodeteriogeni, come riscontrato in varie indagini biologiche (Ruga et al., 2019; Spagnuolo et al., 2019). Purtroppo, per evitare la contaminazione e l'azione di agenti biologici, non sarebbe sufficiente controllare i valori di temperatura e di umidità relativa; l'attenzione va posta anche ad altri fattori, quali il ricambio di aria e la presenza di visitatori. Quest'ultima può essere responsabile sia dell'aumento dell'anidride carbonica che del particolato atmosferico in ambiente “indoor”. Per quanto riguarda gli effetti sui materiali, l'anidride carbonica in presenza di umidità ha notevole influenza sul sistema calcite-gesso, determinando, in funzione delle condizioni, o la ricristallizzazione del carbonato, con formazione di veli di carbonato sulla superficie dei manufatti lapidei, o la dissoluzione del solfato di calcio. Un altro fattore importante da considerare per la chiesa di San Pietro Barisano è la porosità della calcarenite, che certamente rende più complessa l'operazione di eliminazione dei biodeteriogeni e la pulizia completa delle superfici. In ogni caso le indagini di spettroscopia XPS, applicate a campioni rappresentativi delle superfici, si è dimostrata di valido supporto come in altre indagini (Stipp & Hochella, 1991; Scrano et al., 2011), consentendo di delineare un quadro conoscitivo importante sulla costituzione delle patine superficiali presenti.

3.2 BIODETERIORAMENTO NELL'IPOGEO DI SAN PIETRO BARISANO: VALUTAZIONE DELL'ATTIVITÀ BIOCIDA DI GLICOLACALOIDI

L'utilizzo dei biocidi tradizionali per eliminare il biodeterioramento da materiali lapidei è sempre più scoraggiato per i rischi sia per la salute umana che per l'ambiente, oltre che per i potenziali danni ai materiali. Anche alla luce del regolamento "REACH" (acronimo di "Registration, Evaluation, Authorisation and restriction of CHemicals"), diverse ricerche sono state indirizzate per sperimentare biocidi ecocompatibili atti a eliminare o ridurre il biodegrado nei Beni Culturali. A tale proposito, sono state testate molte sostanze naturali, per lo più oli essenziali o sostanze di origine vegetale, che di solito contengono terpeni e/o esteri con attività antimicrobica ben riconosciuta anche in farmacologia o conservazione degli alimenti. L'efficacia di questi composti risulta spesso molto variabile, così come i protocolli e le dosi sperimentali, con conseguente mancanza di una valutazione robusta e coerente delle migliori pratiche d'uso. Gli organismi su cui è stata più testata la tossicità, sono stati i funghi, seguiti da cianobatteri, alghe (clorofite e diatomee), batteri e, infine, protozoi. I meccanismi di azione sono molteplici e si riferiscono spesso a modificazioni della permeabilità della membrana cellulare con conseguente rilascio di materiale citoplasmatico e acidi nucleici. Una review sull'uso di biocidi naturali nel settore dei Beni Culturali è stata redatta da Fidanza & Caneva (2019). Tra i composti naturali, i glicocalcoloidi sono una classe importante di metaboliti bioattivi che si trovano comunemente nelle piante appartenenti alla famiglia delle *Solanaceae* (Milner et al., 2011). Tra i glicocalcoloidi, la solamargina e la solasonina hanno attività antibatterica e antimicotica (Ventrella et al., 2012), associata alla disgregazione della membrana cellulare e alla loro attività anti-acetilcolinesterasi (Keukens et al., 1995). La solamargina ha una capacità di distruggere le membrane cellulari batteriche superiore rispetto alla solasonina di un fattore 2 o 3 (Roddick et al., 1990). I glicocalcoloidi estratti da *Solanum nigrum* si sono rivelati efficaci contro diverse specie batteriche (cianobatteri) e alghe isolate da superfici lapidee deteriorate. Il loro utilizzo nell'ambito dei Beni Culturali è particolarmente interessante per la loro stretta specificità, efficacia a piccole dosi, rapida decomposizione e bassa tossicità (Sasso et al., 2013; 2015; 2016).

L'ipogeo di San Pietro Barisano, per le sue condizioni microclimatiche quali assenza di luce naturale, elevata umidità e scarsa areazione, presenta sulle pareti estese colonizzazioni biologiche. Si è rivelato pertanto un sito ideale per testare l'efficacia di glicocalcoloidi per operazioni di biocleaning delle superfici. I glicocalcoloidi utilizzati sono

quelli estratti da bacche di *Solanum nigrum* (solamargina e la solasonina) come descritto nel Capitolo 2. In Figura 55 è illustrato l'ipogeo di San Pietro Barisano e la parete scelta per le varie prove. La sperimentazione è stata effettuata sia su una porzione di parete verticale, che su una porzione orizzontale dove erano evidenti estese patine biologiche. Per le varie prove, 500 mg di prodotto liofilizzato sono stati aggiunti a 10 mL di acqua distillata. La soluzione dei glicoalcaloidi è stata spennellata direttamente sulla superficie da trattare, oppure è stata supportata su gel sia per evitare la degradazione del biocida e per avere un supporto che permettesse di circoscrivere efficacemente la zona trattata sia per una migliore applicazione e rimozione del biocida. I gel utilizzati nel presente lavoro, sviluppati presso il Dipartimento di Chimica dell'Università di Roma 1, avevano la seguente composizione:

- Gel 1: PVA (7%) + Alginato di Na (2%) + CaCl₂ (10%)
- Gel 2: 50 ml PVA (4%) + 20 ml Borace (Na₂B₄O₇) (8%)

La quantità di cloruro di calcio aggiunta per la sferificazione dell'alginato di sodio, non è stata costante, ma è stata valutata in base alla consistenza desiderata del gel. Essendo l'ambiente dell'ipogeo ad elevata umidità, non è stato necessario ricoprire il gel con pellicola di polietilene trasparente per evitarne l'essiccazione. I gel applicati sono stati lasciati sulle pareti in posa per 4 settimane.



Figura 55. *Ipogeo di San Pietro Barisano: a sinistra "Putridarium", a destra la parete oggetto di studio*

Per valutare l'efficacia del biocida, sia la porzione di parete verticale che orizzontale è stata suddivisa in tre parti: sulla prima è stata applicata la soluzione di glicoalcaloidi non supportata da gel, sulla seconda il gel 1 + glicoalcaloidi e sulla terza il gel 2 +

glicoalcaloidi. Prima della sperimentazione, sia in tutta l'area verticale che nell'area orizzontale è stato prelevato con una spatola un campione di patina superficiale da sottoporre ad analisi XPS (Figura 56). Dopo il trattamento di 4 settimane, le superfici sono state nuovamente campionate per verificare l'effetto biocida. Sulla porzione orizzontale della parete, nell'area trattata solo con glicoalcaloidi, il campionamento è stato effettuato anche dopo 1 e 2 settimane. La Figura 57 mostra le aree selezionate per il trattamento.



Figura 56 . Campionamento preliminare nell'area orizzontale della parete di studio



Figura 57 . Aree trattate sulla parete verticale (a sinistra) e sulla parete orizzontale (a destra)

3.2.1 INDAGINI BIOLOGICHE E DI MICROSCOPIA ELETTRONICA

In parallelo alle analisi chimiche, sono state condotte indagini biologiche sulle patine individuate sulle pareti. Le analisi sono state effettuate presso i laboratori “SAFE” e “DiCEM” dell'Università della Basilicata al fine di identificare le specie fungine e batteriche presenti. Le specie rinvenute sono illustrate nella Tabella 9.

Tabella 9 - Specie batteriche e fungine riscontrate nella patina biologica dell'ipogeo

Batteri	Funghi
<i>Staphylococcus warneri</i>	<i>Botryotrichum atrogriseum</i>
<i>Brevibacillus spp</i>	<i>Penicillium italicum</i>
<i>Bacillus cereus</i>	<i>Talaromyces pinophilus</i>
<i>Bacillus mycoides</i>	<i>Cladosporium</i>
<i>Bacillus firmus</i>	

Tra le specie batteriche identificate, alcune sono tossiche come *Bacillus cereus*, batterio patogeno che produce tossine responsabili di tossinfezioni alimentari, e *Bacillus mycoides* in grado di causare malattie in alcuni organismi. Tra le specie fungine, *Penicillium italicum* è un fungo appartenente alla famiglia delle *Trichocomaceae*, noto per essere un patogeno che forma muffe blu o grigio-verde. Molti dei funghi identificati, come ad esempio *Talaromyces pinophilus*, hanno elevate attività enzimatiche in grado di degradare vari substrati. Le specie del genere *Talaromyces* producono enzimi utili per la degradazione di biomasse e metaboliti secondari. Tuttavia, questi enzimi sono ancora poco caratterizzati a causa della mancanza di informazioni genetiche complete.

La colonia biologica complessa identificata è quella tipica di ambienti umidi e poco illuminati come ipogei, cave e catacombe (Albertano & Urzì, 1999; Urzi et al., 2016; Bruno et al., 2019). In questi ambienti gli organismi che vengono a svilupparsi trovano le condizioni adatte alla loro crescita: umidità, materiale organico prodotto da organismi primari o decompositori, illuminazione artificiale, ecc.

L'ambiente ipogeo in genere è caratterizzato dall'assenza di luce, per cui tutti gli organismi autotrofi fotosintetici (alghie e vegetali superiori) vengono a mancare nell'ecosistema. Tali organismi possono tuttavia svilupparsi negli ambienti ipogei provvisti di impianti di illuminazione artificiale. La flora è rappresentata da specie che prediligono ambienti oscuri ed una elevata umidità dell'aria e del substrato. Tra queste specie, cianobatteri e alghie sono organismi unicellulari fotosintetizzanti e rappresentano i colonizzatori primari del substrato lapideo. Per il loro metabolismo necessitano solo di acqua, luce e sali minerali. Possono avere una organizzazione coccale o filamentosa e vivere isolati o riuniti in colonie di diverse forme e dimensioni. Il loro sviluppo determina la formazione di patine variamente colorate, spesso di aspetto viscido o gelatinoso.

Le indagini SEM di microscopia elettronica, condotte su campioni delle pareti in esame prima del loro trattamento, hanno evidenziato la presenza di ife fungine (Figura 58). Dallo spettro EDS è interessante notare oltre alla presenza del calcio, anche quella di zolfo e fosforo legati alla attività biologica. La Figura 59 mostra una interessante formazione di cristalli di carbonato di calcio sulle ife fungine, prodotti da attività biologica degli stessi funghi. Le indagini SEM hanno evidenziato sulle pareti anche la presenza di microalghe (Figura 60), nel caso specifico di diatomee identificate dalla presenza nel relativo spettro EDS di silicio, che è un componente del guscio di questi organismi.

Sulla parete i cristalli di carbonato di calcio non possiedono una forma rombica regolare (Figura 61) e la loro disposizione è legata all'equilibrio chimico-fisico che si instaura costantemente con l'umidità presente all'interno dell'ipogeo, a riprova dei cicli di dissoluzione e precipitazione che questo composto subisce.

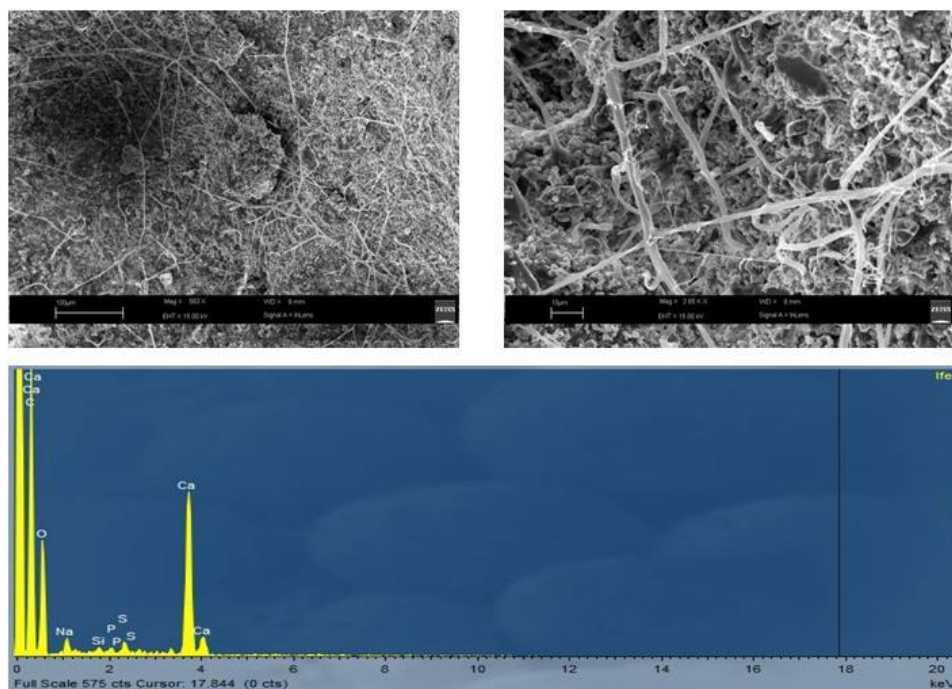


Figura 58. Immagini SEM di ife fungine a diversi ingrandimenti e relativo spettro EDS

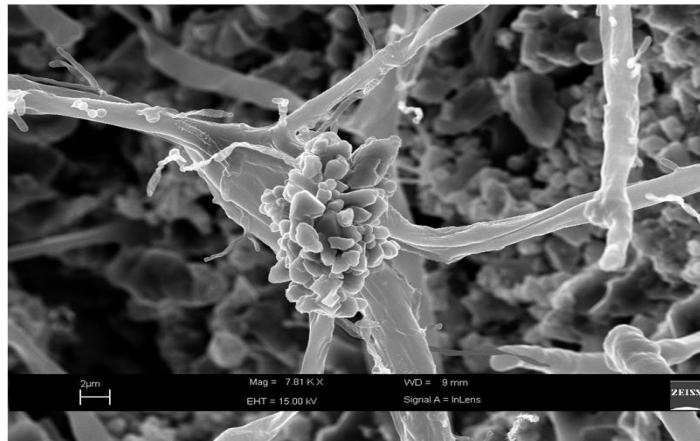


Figura 59. Immagini SEM di ife fungine con cristalli di carbonato di calcio

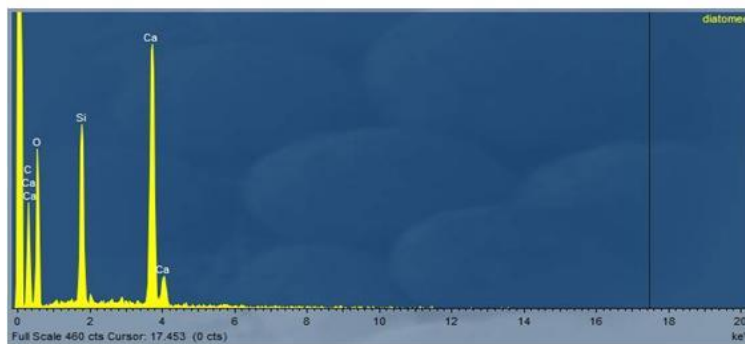
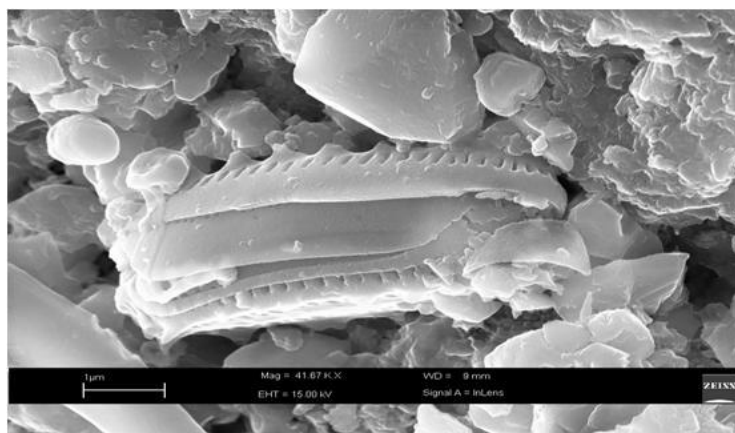


Figura 60. Immagine SEM di diatomea identificata sulle pareti dell'ipogeo e relativo spettro EDS

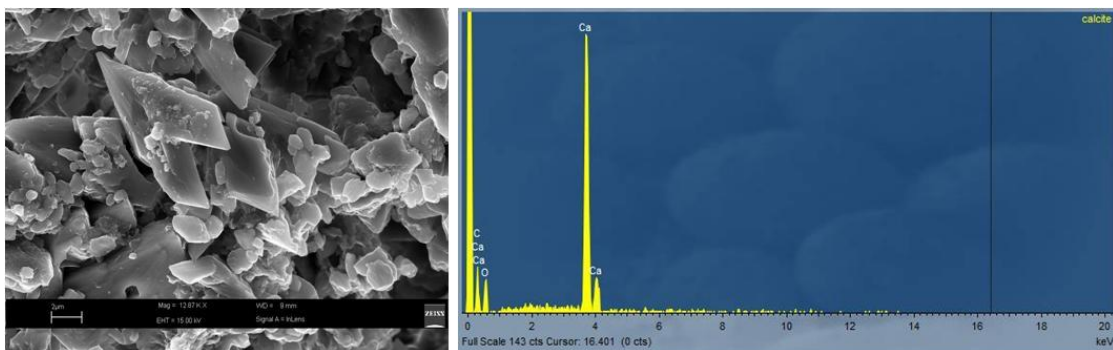


Figura 61. Immagini SEM della calcite e spettro EDS

3.2.2 ANALISI DEI CAMPIONI MEDIANTE SPETTROSCOPIA XPS

Nella parete orizzontale dell'ipogeo, come già detto, sono state individuate tre aree: prima del trattamento è stato prelevato e sottoposto ad analisi un campione unico di superficie. I risultati delle analisi di questo campione (campione pre-) sono stati confrontati con quelli relativi ai campioni prelevati nelle tre aree dopo il trattamento con glicocalcoidi, gel 1 + glicocalcoidi e gel 2 + glicocalcoidi. Nella Figura 62 è mostrato lo spettro wide e le regioni di interesse relativi ai campioni prelevati nell'area della parete orizzontale pre- e post applicazione della miscela di glicocalcoidi non supportati su gel.

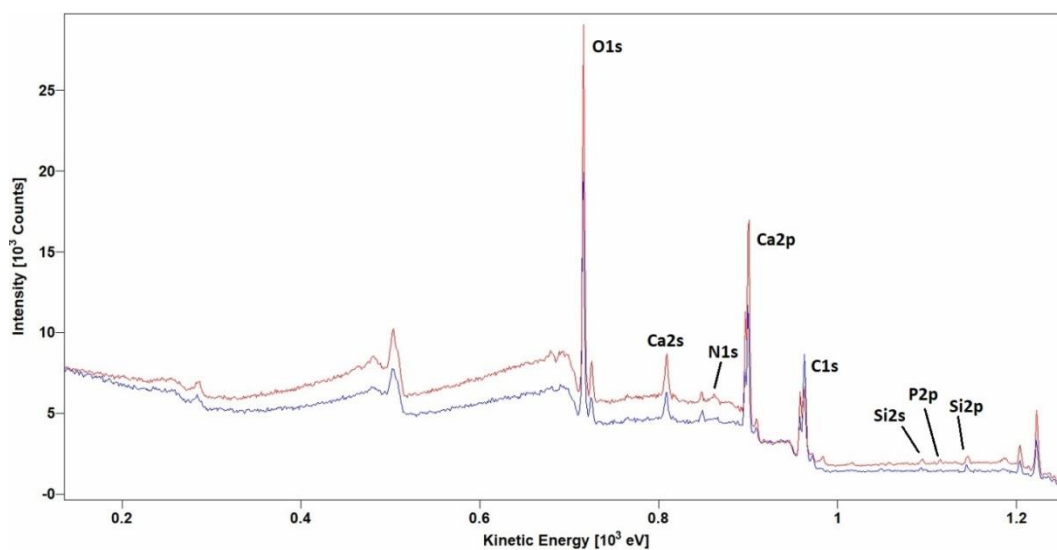


Figura 62. Spettri wide dei campioni dalla parete orizzontale dell'ipogeo: pre- (blu) e post- (rosso) applicazione di glicocalcoidi

Le regioni dettagliate di interesse, acquisite a risoluzione maggiore, sono state risolte nei picchi componenti via curve-fitting, riportati nelle Figure seguenti. I risultati corretti del curve-fitting sono riportati nelle Tabelle seguenti con le relative assegnazioni e come composizione relativa percentuale nei grafici a torta (analisi semi-quantitativa). La prima regione dettagliata analizzata è quella del carbonio 1s, dove è possibile individuare il segnale attribuibile al carbonio-carbonato che funge da riferimento interno. Il picco del C1s relativo al carbonato, identificato come standard interno con valore di BE pari a 290.0 eV (da analisi XPS pregresse su campioni di calcarenite) permette di calcolare il fattore di caricamento, facendo la differenza tra il valore identificato e quello sperimentale, e di sottrarlo a tutti i valori di BE dei segnali acquisiti.

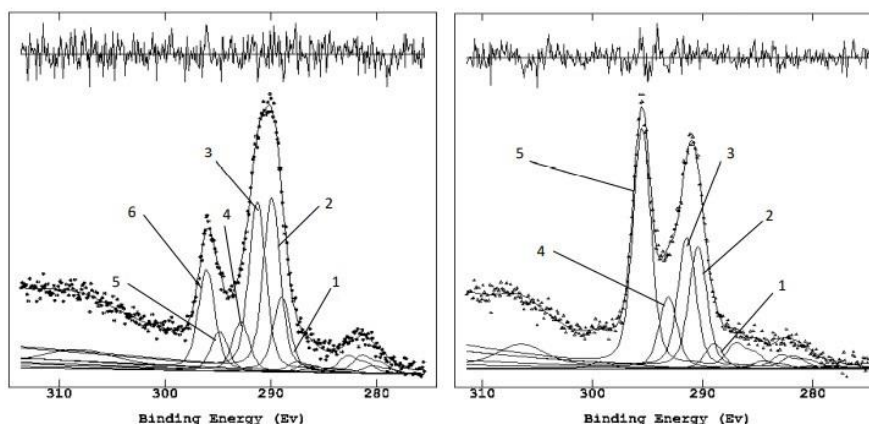


Figura 63. Curve fitting della regione C1s pre- (sinistra) e post- (destra) applicazione della miscela di glicocalcoidi

Tabella 10 - BE corretta, area normalizzata e relative assegnazioni per la regioni C1s: campione pre trattamento

Campione Pre Trattamento				
Regione	Picco	BE corretta	Assegnazioni	Area normalizzata
C1s	1	283.0	C-C (grafite, carburi, policiclici)	312.5
	2	283.8	C-C (grafite, carburi, policiclici)	3157.3
	3	285.2	C-C alifatico	6596.0
	4	286.7	C-OH, ϕ -OH, C=N	6429.4
	5	288.8	$C_2O_4^{2-}$	1877.3
	6	290.0	CO_3^{2-}	5311.7

- picchi 1 e 2: riconducibili alla presenza di contaminanti di tipo carburico, grafítico, idrocarburo policiclico. Questi picchi sono riconducibili alle componenti carboniose specifiche del biofilm della patina presente sulle pareti dell'ipogeo;
- picco 3: relativo al legame carbonio alifatico C-C;
- picco 4: attribuibile a specie quali C-OH, Φ -OH, C=N;
- picco 5: riconducibile all'ossalato, indice dell'attività biologica del biofilm;
- picco 6: attribuibile al carbonato (della calcarenite della parete), preso come picco di riferimento interno.

Tabella 11 - BE corretta, area normalizzata e relative assegnazioni per la regioni C1s: campione post trattamento.

Campione Post Trattamento			
Picco	BE corretta	Assegnazioni	Area normalizzata
1	283.4	C-C (grafite, carburi, policiclici)	883.0
2	285.0	C-C alifatico	4293.0
3	286.1	C-N, C-O, C-O-C	4267.4
4	287.6	C=O, O-C-O	2351.7
5	290.0	CO_3^{2-}	7345.0

- picco 1: riconducibile alla presenza di contaminanti di tipo carburico, grafítico, idrocarburo policiclico. riconducibili all'attività biologica del biofilm;
- picco 2/ 3: riconducibili a carboni alifatici, C-O, C-N e C-O-C;
- picco 4: attribuibile a specie quali C=O, O-C-O;
- picco 5: riconducibile al carbonato.

Il confronto delle regioni del carbonio C1s pre e post del trattamento con il biocida, permette di rilevare la diminuzione delle componenti organiche relative all'attività biologica, la scomparsa del picco riconducibile all'ossalato di calcio e un parallelo aumento dei segnali relativi al carbonato della matrice calcarea e delle componenti silicio, fosforo tipiche della matrice silicatica della pietra, come ben evidenziato nei grafici a torta riportati in Figura 66. Tali cambiamenti confermano la graduale rimozione della patina biologica che inizialmente ricopriva interamente la parete nell'area di analisi e la messa in evidenza della componente calcarenitica, a seguito dell'azione biocida dei glicocalcolidi spalmati sulla superficie e lasciati agire per 4 settimane. In Figura 64 sono illustrate le dettagliate relative alla regione Ca2p pre e post trattamento con la soluzione di glicocalcolidi e in Tabella 11 le assegnazioni dei vari picchi.

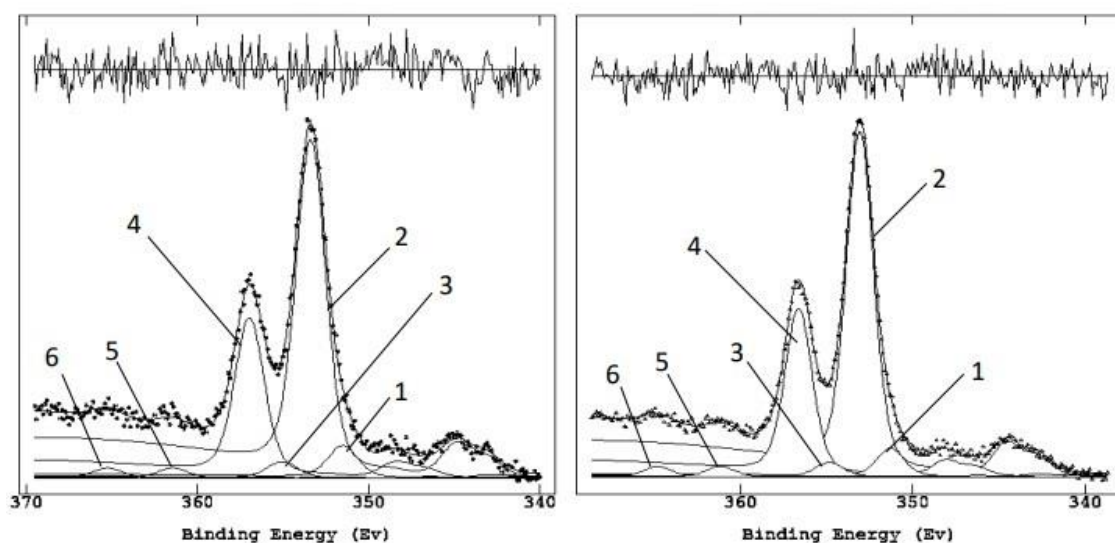


Figura 64. Curve fitting delle regioni Ca2p pre (sinistra) e post (destra) applicazione di glicocalcolidi

Tabella 11 - Assegnazione picchi, BE corretta, Area normalizzata per la regione Ca2p

Regione	Picco	Pre Trattamento		Post Trattamento		Assegnazione
		BE corretta	Area normalizzata	BE corretta	Area normalizzata	
Ca 2p	1	345.4	386.9	345.8	614.8	Ca
	2	347.3	3891.9	347.5	7106.2	CaCO ₃ /Ca-alginato
	5	355.4	80.2	355.6	143.3	Shake up
	6	359.2	80.2	359.3	143.3	Shake up

- picchi 1 e 3: riconducibili al doppietto del calcio nello stato di ossidazione zero;
- picchi 2 e 4: riconducibili al doppietto del calcio nel carbonato di calcio e nell'alginato di calcio;
- picchi 5 e 6: riconducibili agli shake-up del doppietto del calcio carbonato.

Confrontando le regioni e i picchi del calcio pre e post trattamento e le relative aree normalizzate, si registra un aumento del calcio riconducibile all'aumento della percentuale di carbonato. Il rapporto delle aree normalizzate Ca^{2+}/CO_3^{2-} non è unitario (1.1 circa) come ci si aspetterebbe se il campione fosse costituito semplicemente da carbonato di calcio. L'aumento del segnale del carbonato e del calcio dimostra l'efficacia della pulizia, ma anche la non completa rimozione della patina superficiale che può includere tra le componenti anche l'alginato di calcio, spesso rinvenuto nei biofilm in relazione agli organismi colonizzatori presenti (Boyd & Chakrabarty, 1995). L'alginato di sodio, ad esempio, è estratto da pareti cellulari di alghe e nel presente lavoro, la presenza di microalghe (diatomee) è stata confermata sulle pareti dell'ipogeo da indagini SEM (Figura 60). Studi XPS sull'alginato di sodio condotti in laboratorio hanno mostrato che in seguito all'aggiunta di calcio, necessario per la sferificazione, i segnali dovuti ai due gruppi carbossilici subivano un chemical shift di circa 1 eV (289.0→290.0) portandosi nella stessa posizione del picco del carbonato. Impostando un bilancio di massa è stato possibile calcolare le percentuali di alginato di calcio e di carbonato di calcio riscontrati nel campione pre e post trattamento (Tabella 12).

Tabella 12 - Percentuali di carbonato e alginato di calcio pre e post trattamento (dopo 4 settimane) con la soluzione di glicocalcoloidi

	Pre trattamento	Post trattamento
Ca- Carbonato	73%	77%
Ca-Alginato	27%	23%

In Figura 65 è illustrato il curve fitting relativo alla regione O1s. La regione O1s è comprensiva di tutti i contributi ossigenati (molti non risolti dal curve-fitting) dei composti ossigenati, utile per confermare le attribuzioni dei gruppi funzionali ossigenati in tutte le regioni acquisite. L'area O1s totale è utilizzata quindi per valutare la bontà dei fits attraverso il bilancio di massa totale dei diversi composti riscontrati riportati nei grafici a torta. Nella Tabella 13 sono illustrati i picchi risolti nella regione O1s, la BE corretta e l'area normalizzata.

Nella Tabella 14 sono illustrate le assegnazioni dei picchi individuati nelle altre regioni analizzate, picchi relativi a componenti minoritarie del campione pre e post trattamento.

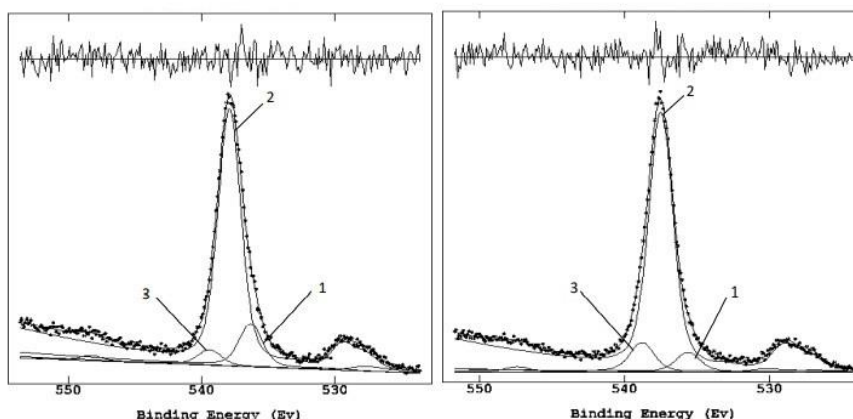


Figura 65. Curve fitting delle regioni O1s pre (sinistra) e post (destra) trattamento con glicocalcoloidi

Tabella 13 - Picchi risolti nella regione O1s, BE corretta e area normalizzata

Regione	Picco	Pre Trattamento		Post Trattamento	
		BE corretta	Area normalizzata	BE corretta	Area normalizzata
O 1s	1	530.2	2659.6	530.1	1866.1
	2	533.0	15629.1	532.0	25158.6
	3	533.3	943.2	533.3	2827.3

Tabella 14 - Assegnazione relative ai picchi Si2p, P2p e Na1s

Regione	BE corretta (pre-)	BE corretta (post-)	Area normalizzata (pre-)	Area normalizzata (post-)	Assegnazioni
Si (2p)	102.7	102.8	608.0	839.5	SiC, SiO ₂
P (2p)	132.7	133.2	58.5	345.1	CaPO ₄
Na (1s)	1072.2	1072.4	387.6	613.7	NaH ₂ PO ₄ , Na ₂ HPO ₄

In Figura 66 sono illustrate le distribuzioni percentuali dei vari gruppi riscontrati nel campione prima del trattamento (a) e dopo il trattamento con la soluzione dei glicocalcaloidi. Dai grafici è possibile valutare l'efficacia della pulizia: si osserva infatti una diminuzione del carbonio organico legato alla frazione biologica presente sulla parete ed un contestuale aumento della frazione carbonatica (dal 21.6% al 33.8%) e silicatica componenti tipiche della roccia calcarenitica.

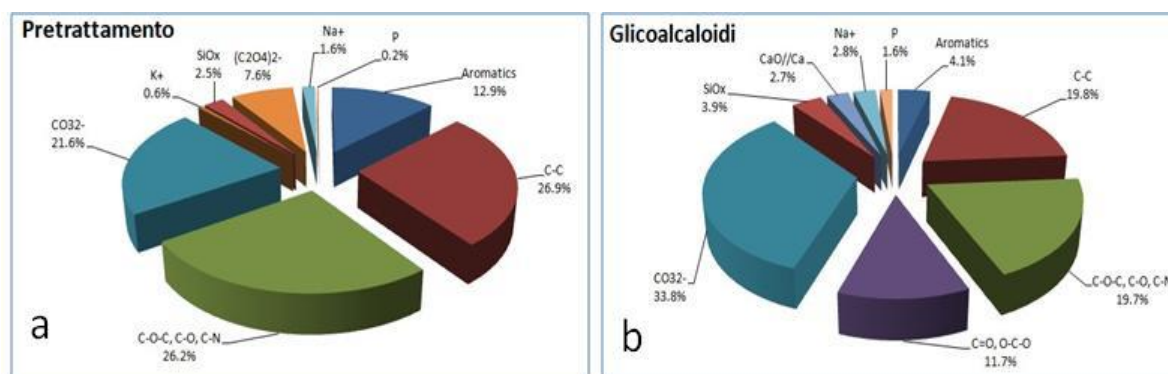


Figura 66. Distribuzione delle percentuali dei vari gruppi nel campione prima (a) e dopo (b) il trattamento con glicocalcaloidi

Sulla parete orizzontale, oggetto di studio, nell'area trattata semplicemente con la soluzione di glicocalcaloidi spennellata sulla superficie, è stato fatto un prelievo non solo dopo 4 settimane di trattamento, ma anche dopo 1 e 2 settimane dall'applicazione, al fine di valutare l'azione del biocida in funzione del tempo di applicazione. I risultati ottenuti sono riportati di seguito per brevità solo per la regione C1s, la più significativa in termini di gruppi funzionali evidenziabili dalla procedura di curve-fitting. I confronti delle regioni C1s (Figura 67) sono interessanti e mostrano che dopo una settimana di applicazione non è più rivelabile il picco n. 5 relativo all'ossalato (Figura 63, campione pre). Allo stesso tempo, dopo la seconda settimana, inizia ad aumentare il segnale

ricostituibile al carbonato (picco 6 in Figura 67), mentre si ha una riduzione delle componenti carboniose.

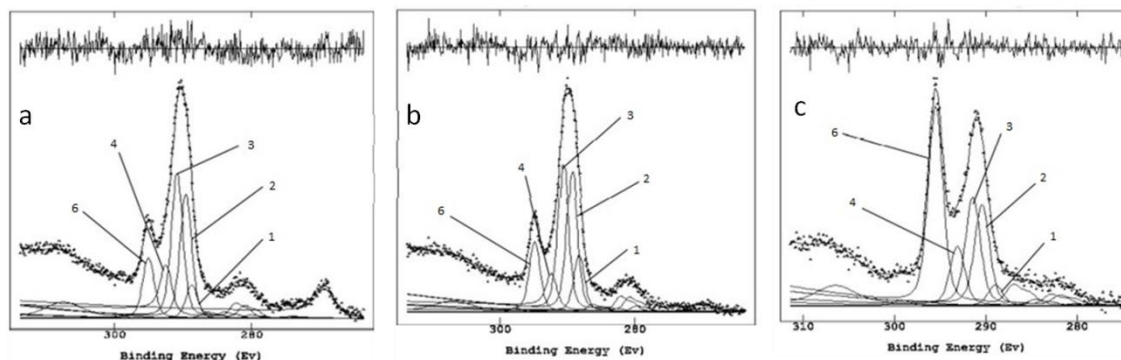


Figura 67. Curve fitting delle regioni C1s post- 1 settimana (a), post- 2 settimane (b) e post- 4 settimane (c)

L'effetto biocida nel tempo è confermato anche dall'analisi visiva riportata in Figura 68, dove la comparazione fotografica mostra chiaramente la variazione di intensità e di gradazione di colore della patina presente sulla parete in funzione delle settimane di applicazione dei glicocalcoloidi.

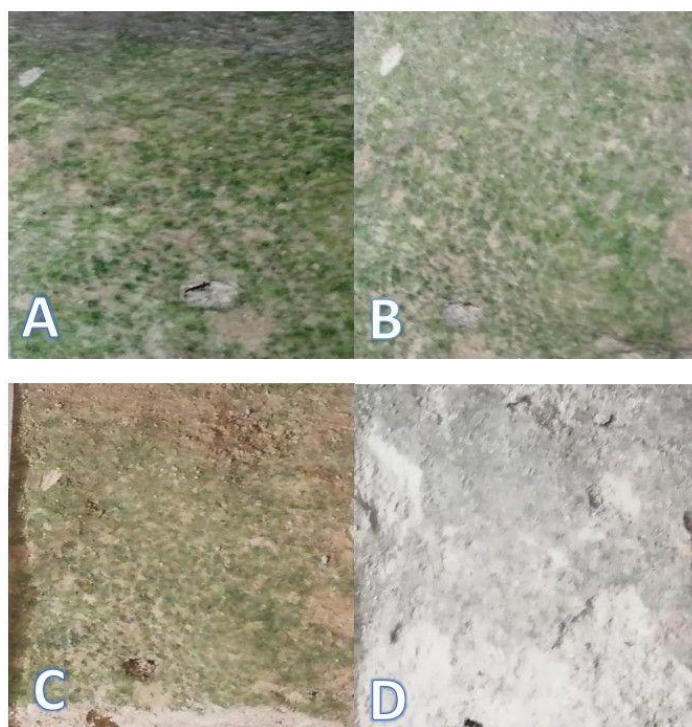


Figura 68. Patina verde nell'ipogeo di San Pietro Barisano, durante il periodo di trattamento con i glicocalcoloidi: A) pre- trattamento; B) post 1 settimana; C) post 2 settimane; D) post 4 settimane

Dalle immagini della Figura 68 è possibile notare, la variazione di colore subita dalla patina verde durante il tempo di posa dei glicocalcoloidi. La patina si è ridotta in spessore ed allo

stesso tempo il colore iniziale ha subito delle variazioni cromatiche fino a scomparire quasi del tutto. Inoltre, il trattamento risulta visivamente efficace dopo le 4 settimane, confermando i dati sperimentali ottenuti dalle analisi XPS, anche se il tempo richiesto per la completa rimozione della patina è sicuramente dipendente dallo spessore della patina, dalla composizione del biofilm e dalle componenti attive nella miscela dei glicocalcoloidi. Per quanto riguarda la parete orizzontale, nelle altre due aree di studio i glicocalcoloidi sono stati applicati su gel 1 e gel 2. Dopo 4 settimane i gel sono stati rimossi e i campioni superficiali relativi alle due aree trattate sono stati rianalizzati. Per brevità si riportano i grafici a torta finali relativi alla percentuale dei vari gruppi identificati (Figure 69 e 70). Come si può osservare dalla Figura 69 dopo 4 settimane di trattamento con il gel 1 + glicocalcoloidi, l'ossalato non è più rivelabile, mentre il carbonato ha solo un lieve incremento. Le percentuali dei composti del silicio restano praticamente inalterate così come quella delle componenti carboniose (dal 66 al 68.6%). L'analisi visiva ha messo in evidenza una elevata degradazione del gel per un trattamento di 4 settimane: l'alginato, infatti, può essere utilizzato come fonte di carbonio da vari microrganismi per cui per un trattamento efficiente sarebbe stato utile cambiare il gel dopo ogni settimana.

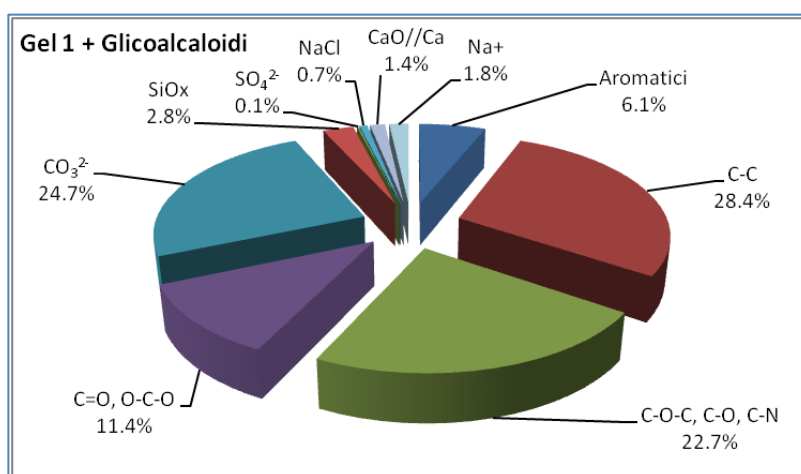


Figura 69. Distribuzione delle percentuali dei vari gruppi nel campione dopo il trattamento con gel 1 + glicocalcoloidi (parete orizzontale)

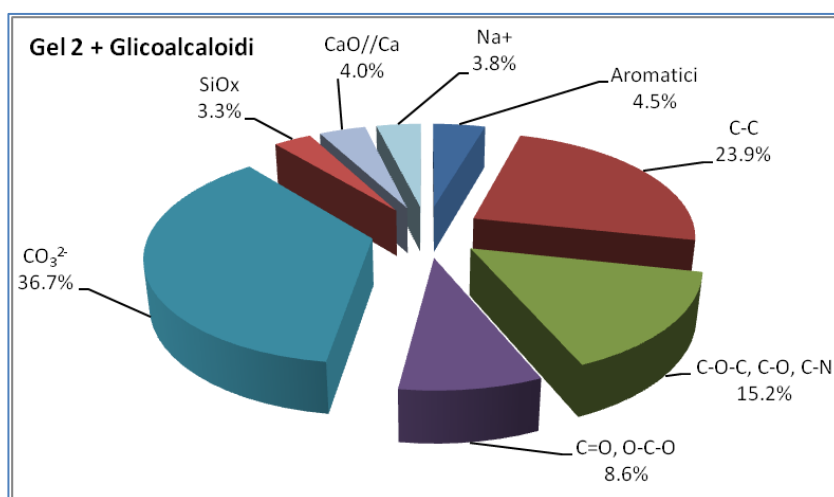


Figura 70. Distribuzione dei vari gruppi nel campione dopo il trattamento con gel 2 + glicoalcaloidi (parete orizzontale)

Per quanto riguarda l'area trattata con il gel 2 + glicoalcaloidi, dopo 4 settimane si osserva la scomparsa dell'ossalato e un incremento del carbonato di calcio dal 21.6% al 36.7%. Le componenti carboniose diminuiscono dal 66 al 52%. Il gel 2 contenente sodio tetraborato ha, pertanto, dimostrato la stessa efficacia dei glicoalcaloidi spennellati senza gel sulla superficie. Inoltre, la presenza di borace ha impedito l'attacco microbico del gel che, al contrario del gel 1, non presentava tracce di muffa dopo 4 settimane dall'applicazione.

Le stesse considerazioni ed analisi fatte sulla parete orizzontale sono state replicate sulla parete verticale. Anche qui sono state identificate tre aree di sperimentazione sulle quali sono stati applicati rispettivamente la soluzione di glicoalcaloidi, il gel 1 + glicoalcaloidi e il gel 2 + glicoalcaloidi. Anche per questa area è stato effettuato il campionamento prima del trattamento e dopo 4 settimane dalla applicazione dei vari substrati. I risultati finali delle analisi XPS sono illustrati nelle Figure 71, 72 e 73.

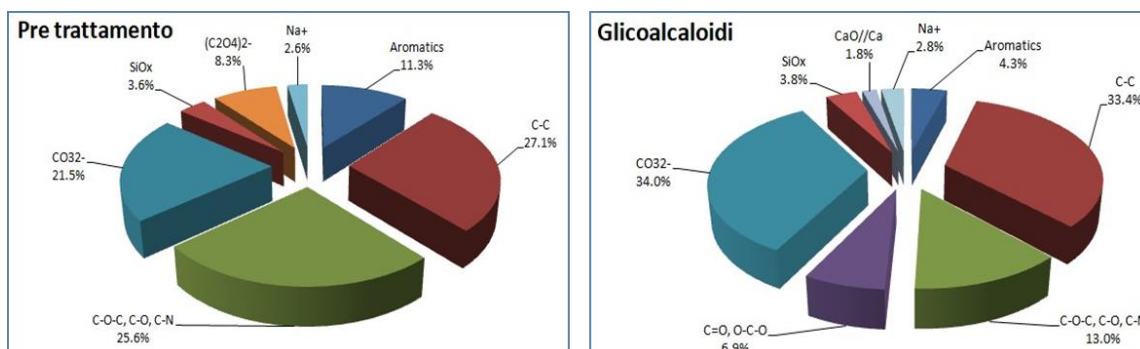


Figura 71. Distribuzione dei vari gruppi nel campione (parete verticale) prima e dopo il trattamento con la soluzione di glicoalcaloidi

Per il trattamento con la soluzione di glicocalcoloidi, anche sulla parete verticale si può notare la scomparsa del picco relativo all'ossalato e un incremento del carbonato dal 21.5% a. 34 %, mentre la componente carboniosa subisce un decremento dal 64% al 57.6%.

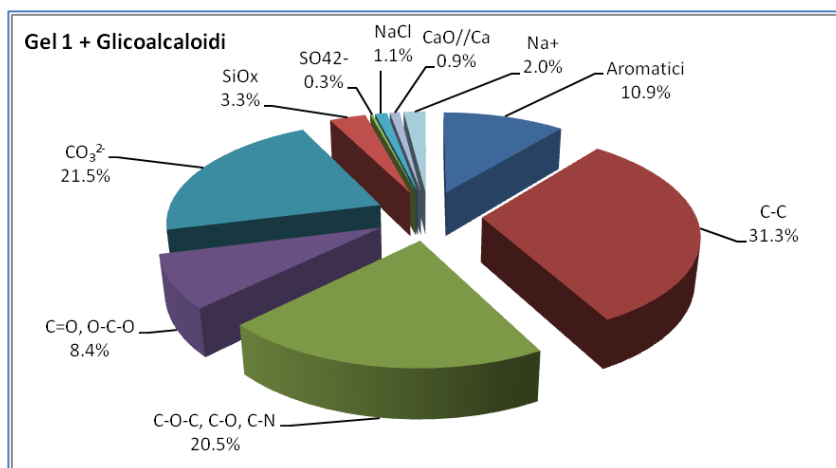


Figura 72. Distribuzione dei vari gruppi nel campione (parete verticale) dopo il trattamento con gel 1 + glicocalcoloidi

Per quanto riguarda l'area verticale trattata con gel 1 + glicocalcoloidi, si osserva la scomparsa del picco relativo all'ossalato, ma la componente carbonatica rimane pressochè costante. Si osserva, invece, un incremento delle componenti carboniose rispetto al campione non trattato dal 64 % al 71% segno che la presenza di alginato di sodio nel gel ha indotto un ulteriore apporto di carbonio alla parete e l'alginato stesso ha rappresentato un terreno di coltura per i vari microrganismi.

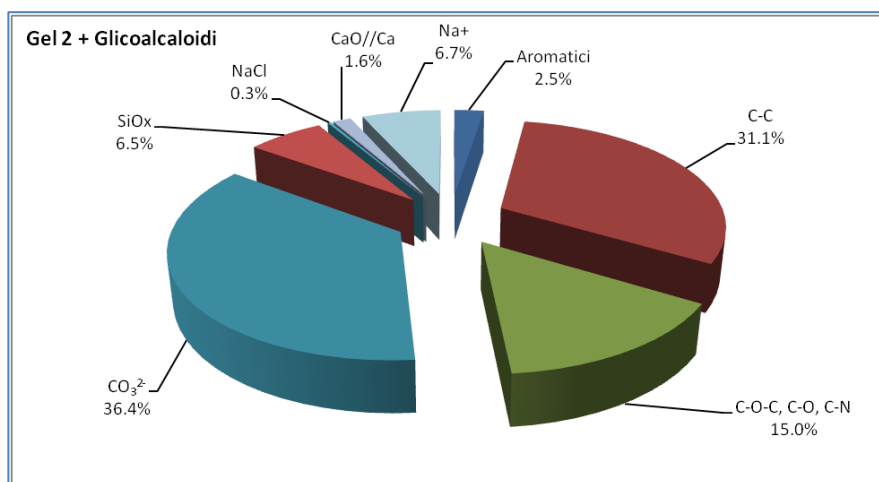


Figura 73. Distribuzione dei vari gruppi nel campione (parete verticale) dopo il trattamento con gel 2 + glicocalcoloidi

Per quanto riguarda infine l'area della parete verticale trattata con gel 2 + glicoalcaloidi, si osserva dopo 4 settimane la scomparsa del picco dell'ossalato, un incremento del carbonato (dal 21.5% al 36.4%) e della componente silicatica ed una diminuzione (dal 64% fino all'48.6%) della componente carboniosa. Come rilevato dunque nelle aree della parete orizzontale, il gel 2 + glicoalcaloidi si è dimostrato il trattamento più efficiente anche rispetto alla soluzione di glicoalcaloidi spennellata sulla superficie. Il gel 2, inoltre, non ha subito fenomeni di degrado microbiologico e l'area su cui è stato applicato, non ha visto il ricrescere della patina biologica dopo il trattamento. Nella Figura 74 è mostrato l'aspetto delle aree verticali ed orizzontali dopo il trattamento per 4 settimane, in cui è evidente l'elevato fenomeno di alveolizzazione.

Dall'analisi di tutti i risultati ottenuti è possibile evidenziare come l'utilizzo del gel come supportante è quello di prolungare l'azione del biocida e, contemporaneamente, agire in maniera mirata su un'area specifica, evitando la dispersione di eventuali contaminanti sulle superfici oggetto di intervento. Per quanto riguarda i due gel utilizzati come supporto in questo lavoro, solo il gel 2 ha mostrato gli stessi risultati (forse anche migliori) ottenuti con glicoalcaloidi applicati direttamente sulle pareti dell'ipogeo. Per quanto riguarda il gel 1, costituito principalmente da alginato, il tempo di 4 settimane si è rivelato non idoneo per impedire la degradazione del gel, che in altre situazioni, nell'ambito del progetto "Smart Cities", si era rivelato efficace supportando altri tipi di biocidi come, ad esempio, nel caso trattato in seguito della chiesa Madonna dei Derelitti. In ogni caso, l'elevata presenza di umidità presente nell'ipogeo della chiesa di San Pietro Barisano ha consentito il non essiccamento del gel durante il trattamento e il non utilizzo di pellicole protettive di polietilene.

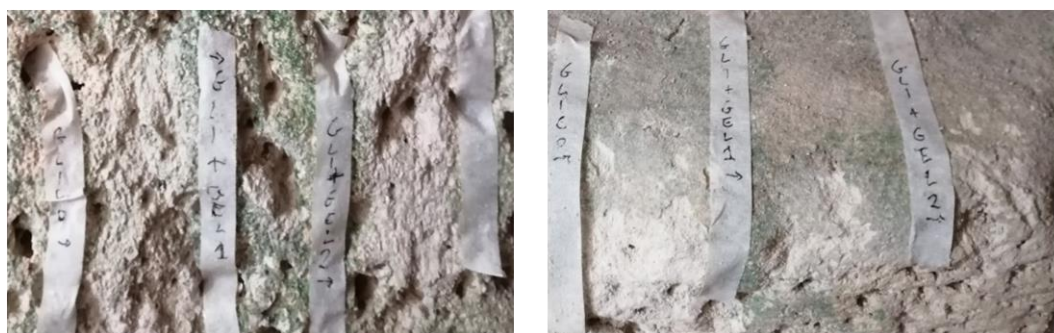


Figura 74. Parete verticale (a sinistra) e parete orizzontale (a destra) dopo il trattamento

Per verificare l'azione biocida sui funghi riscontrati sulle pareti dell'ipogeo, i glicoalcaloidi estratti da *Solanum nigrum* sono stati testati su *Botryotrichum atrogriseum* e *Talaromyces pinophilus*, alle seguenti concentrazioni: 100, 75, 50 e 25%. I test condotti

in laboratorio hanno mostrato per queste specie fungine scarsa attività biocida, a conferma dell'aumento dell'attività biologica riscontrata sulle pareti dell'ipogeo soprattutto dopo il trattamento di 4 settimane con gel 1 + glicocalcoidi. Questi risultati confermerebbero l'attività antibatterica dei glicocalcoidi studiati (Sasso et al., 2012, 2016), ma la loro scarsa tossicità verso specie fungine. In queste condizioni con il trattamento potrebbe verificarsi un incremento delle colonie fungine a discapito di quelle batteriche, ed un utilizzo delle cellule batteriche morte come fonte di carbonio. La sopravvivenza fungina potrebbe essere favorita anche da una possibile migrazione all'interno dei pori della pietra, vista l'estesa alveolizzazione presente, rendendo difficile l'azione biocida del gel. Come si può notare, è ancora un argomento complesso e oggetto di studio il ruolo dei vari microrganismi nei biofilm, come anche l'utilizzo reciproco di composti come l'ossalato di calcio che, seppure prodotto da specie fungine, può essere metabolizzato da una simbiosi di batteri e funghi ossalotrofi con formazione di carbonato di calcio (Martin et al., 2012).

3.3 BIODEGRADO NELLA CHIESA MADONNA DEI DERELITTI

All'interno del progetto "Smart Cities", la chiesa rupestre Madonna dei Derelitti ha rappresentato un altro sito di studio (Figura 75). La chiesa, sia all'esterno che all'interno, presenta notevoli problemi di degrado della pietra calcarenitica, con avanzati segni di deterioramento come scolorimento, crepe, fessure, esfoliazione e presenza di patine biologiche.

Nella chiesa ricercatori del Dipartimento di Chimica e Fisica dell'Università dell'Aquila hanno sperimentato interventi di biocleaning sulle patine biologiche, effettuando anche operazioni di consolidamento su porzioni di superficie in evidente distacco. Prima di questi interventi, sono state avviate indagini conoscitive e prelievi delle patine nelle aree di maggior degrado; i campioni sono stati analizzati sia dal punto di vista microbiologico, presso i laboratori del Dipartimento delle Culture Europee e del Mediterraneo (DICEM) dell'Università della Basilicata, sia dal punto di vista analitico presso il laboratorio di spettroscopia XPS della stessa Università. Al termine delle operazioni di pulizia, le superfici sono state nuovamente campionate per le analisi XPS di controllo.



Figura 75. Facciata e interno della chiesa Madonna dei Derelitti: patine biologiche sulle pareti

Per le indagini XPS sono stati prelevati sei campioni superficiali prima e dopo il trattamento con biocida. I campioni, prelevati con una spatola nelle aree maggiormente degradate, sono stati conservati in provette Eppendorf in frigo a 4 °C. In Figura 76 è illustrata schematicamente in pianta l'ubicazione delle aree di prelievo. In particolare, i campioni #1 e #2 sono stati prelevati in zone adiacenti l'altare della chiesa, mentre i campioni #4 e #5 su pareti limitrofe all'ingresso.



Figura 76. Pianta Madonna dei Derelitti: ubicazione dei campioni per analisi XPS e trattamenti
(Tab Consulting, 2019; Casieri et al., 2021)

I campioni per le indagini biologiche sono stati prelevati in base ad analisi visiva nelle aree più deteriorate. I campioni sono stati raccolti in fiale sterili e trasferiti nei laboratori DICEM, dove sono stati conservati in frigorifero a - 4°C fino al momento dell'analisi.

3.3.1 INDAGINI MICROBIOLOGICHE

Per l'applicazione di idonei interventi di ripristino nella chiesa Madonna dei Derelitti, è risultata importante la preliminare identificazione dei microrganismi che colonizzano le superfici degradate. Essendo scarsi o assenti dati sulle comunità microbiche all'interno delle chiese rupestri di Matera, l'obiettivo di questo studio è stato quello di valutare la presenza di specie fungine sulle pareti interne e sugli affreschi della chiesa, per fornire una base conoscitiva per i trattamenti successivi con biocida. Per isolare le specie fungine, 100 µL della sospensione di ciascun campione in acqua bidistillata sono stati seminati su piastra Petri contenente terreno di coltura PDA (Potato Dextrose Agar), modificato con kanamicina (1 mg/L) e streptomycin (1 mg/L). Le piastre sono state incubate a 24 °C ± 1 °C al buio per 7 giorni. Le colture fungine ottenute sono state utilizzate per ulteriori analisi morfologiche e molecolari, come discusso nel Capitolo 2 (Mang et al., 2020). In Tabella 15 sono illustrate le principali specie biologiche (prevalentemente funghi) identificate mediante confronto con il database GenBank.

Tabella 15 - Colonizzatori biologici identificati nei campioni attraverso il database GenBank

<i>Specie</i>	Gene	Similarità (%)	GenBank deposition code
<i>Penicillium italicum</i>	rRNA	99	KJ834509
<i>Beauveria pseudobassiana</i>	rRNA	98-100	KF297618
<i>Cladosporium spp</i>	rRNA	98-100	MH042761
<i>Alternaria alternata</i>	rDNA (ITS)	100	LR778181; LR778182; LR778183 LR778184
<i>Bacillus megaterium</i>	rRNA (16S)	99	LR877368 ISOLATO 10_2BG_1; LR877369 ISOLATO 10_2BG_2; LR877370 ISOLATO 10_2BG_3 ; LR877371 ISOLATO 4Q_1_CMD4; LR877372 ISOLATO 4Q_2_CMD4; LR877372 ISOLATO 4Q_3_CMD4
<i>Parengyodontium album</i>	rDNA (ITS)	100	LR778170; LR778171; LR778172 LR778173
<i>Meyerozyma giulliermondii syn. Pichia giulliermondii</i>	rDNA (ITS)	100	MH671320

Per quanto riguarda le specie identificate, *Alternaria* è un genere di funghi ascomiceti cosmopoliti comunemente riscontrabili su piante, suolo e ambienti interni; comprende

circa 50 specie e tra queste *Alternaria alternata* è uno dei funghi più comuni e studiati. *Bacillus megaterium* è un batterio a bastoncino, Gram-positivo, principalmente aerobico; è uno dei più grandi eubatteri che si possono trovare anche su superfici comuni. *Meyerozyma guilliermondii* (precedentemente nota come *Pichia guilliermondii*) è una specie di lievito del genere *Meyerozyma* la cui forma asessuata o anamorfica è nota come *Candida guilliermondii*. I lieviti del complesso di specie *Meyerozyma guilliermondii* sono molto diffusi in natura e possono essere isolati in una varietà di ambienti, anche ospedalieri. Vari studi (Sterflinger & Piñar, 2011; Obidi & Okekunjo, 2017; Leplat et al., 2020) hanno dimostrato che le specie *Penicillium italicum*, *Cladosporium spp*, *Alternaria alternata*, *Bacillus megaterium*, *Parengyodontium album* sono anche colonizzatori di Beni Culturali. La specie *Meyerozyma guilliermondii syn* si riscontra invece prevalentemente in suoli agricoli; probabilmente le spore di questo fungo hanno colonizzato le superfici della chiesa Madonna dei Derelitti trasportate da correnti aeree.

3.3.2 INDAGINI DI MICROSCOPIA ELETTRONICA

Sul campione #2, di cui si era in possesso di una quantità sufficiente di materiale, sono state effettuate indagini mediante microscopia elettronica SEM, prima del trattamento della parete con biocida. La Figura 77a è una immagine ottenuta raccogliendo gli elettroni secondari (SE), mentre la Figura 77b è una immagine ottenuta raccogliendo gli elettroni retrodiffusi (BSD). Come è noto, l'interazione degli elettroni con il campione genera differenti tipi di elettroni, fotoni o radiazioni. Nel caso del SEM, vengono generati gli elettroni retrodiffusi (BSD) e gli elettroni secondari (SE). Gli elettroni retrodiffusi appartengono al fascio primario e tornano indietro a seguito della collisione elastica tra il fascio di elettroni ed il campione. Gli elettroni secondari, invece, vengono originati dagli atomi del campione e sono il risultato di un'interazione anelastica tra il fascio di elettroni ed il campione stesso. Gli elettroni retrodiffusi provengono da una zona più profonda del campione, mentre gli elettroni secondari da una zona più superficiale. Dal confronto delle immagini in Figura 77 (a e b) si possono notare le spore fungine presenti sul materiale lapideo, che risultano ben visibili dal contrasto chiaro-scuro.

Si può notare la presenza di cristalli di CaCO_3 e suoi residui (scuri in Figura 77a e più chiari in Figura 77b). La sfumatura delle spore non cambia in maniera marcata fra le due immagini e si possono riconoscere dalla forma relativamente sferica. Esse sono ben

adesa alla superficie carbonatica e la ricoprono quasi del tutto. Nella Figura 78 (a e b) si può osservare la contaminazione sporigena con maggior dettaglio.

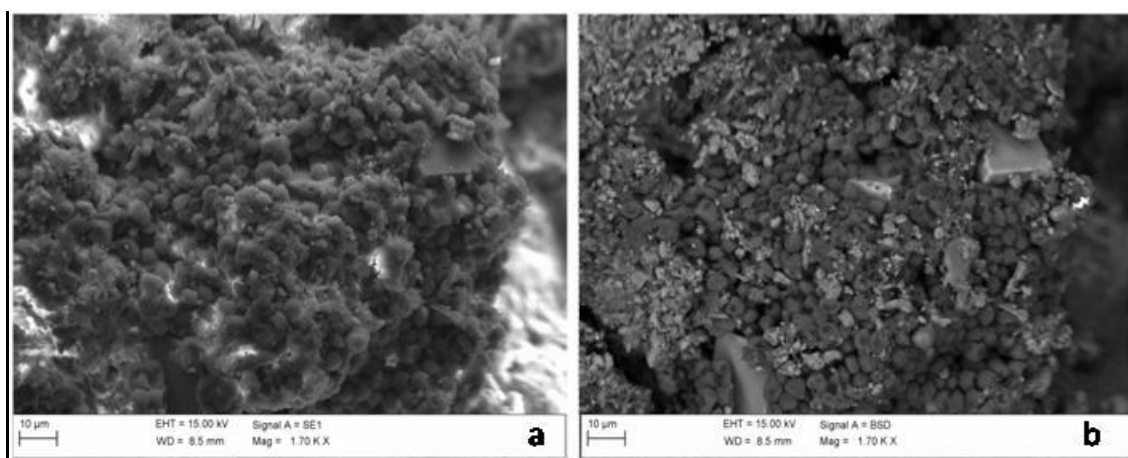


Figura 77 (a,b). *Panoramica (10 μm) del campione #2; a: (elettroni secondari raccolti), b) (elettroni retrodiffusi) (Tab Consulting, 2019)*

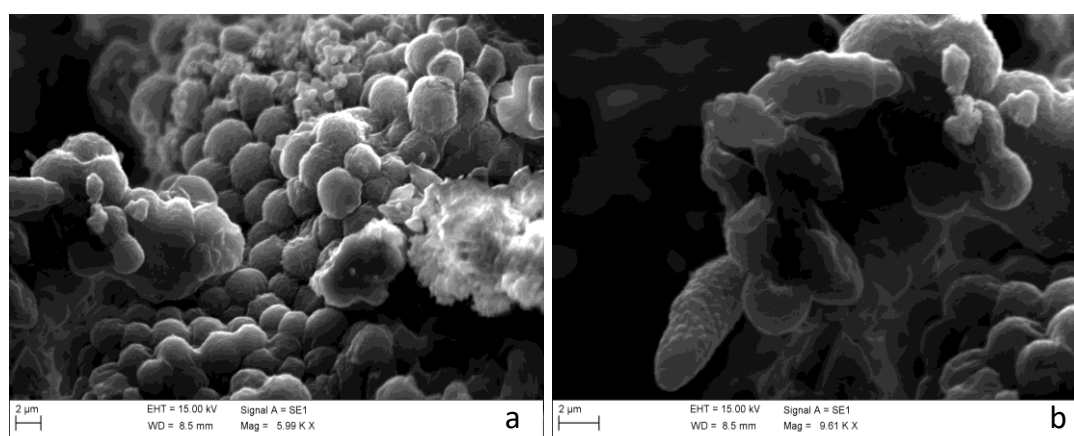


Figura 78 (a,b). *Immagini dettagliate (2 μm) di spore fungine (*Parengyodontium album*), nel campione #2 (elettroni secondari raccolti) (Tab Consulting, 2019)*

3.3.3 TRATTAMENTO DELLE SUPERFICI CON IDROGEL

Per la eliminazione delle patine biologiche dalle superfici interne della chiesa Madonna dei Derelitti è stato effettuato un trattamento da ricercatori dell'Università dell'Aquila. Come si evince dalla letteratura, uno dei principali problemi riscontrati durante i processi di rimozione di patine è rappresentato dalla contemporanea presenza di più specie colonizzatrici. Per la rimozione di solito sono stati utilizzati composti ossidanti come il perossido di idrogeno e l'ipoclorito di sodio; si tratta di biocidi a basso costo, ma molto efficaci nell'eliminare le specie microbiche più comuni, a causa di una elevata capacità ossidativa della materia organica (Faimon et al., (2003). Sebbene questi composti

abbiano un buon potere biocida, spesso sono molto aggressivi nei confronti del substrato e nocivi per la salute degli operatori (Kakakhel et al., 2019). Applicati in soluzione acquosa poi, possono generare sottoprodotti che restano adesi alle superfici causando fenomeni di efflorescenza salina o corrosione (Pozo-Antonio et al., 2016).

Negli ultimi anni la ricerca in questo settore ha rivolto l'attenzione al miglioramento dei trattamenti, includendo i biocidi in matrici inerti, sia organiche che inorganiche. L'applicazione di queste matrici consente di ridurre le quantità di biocida necessarie al trattamento e di regolarne il rilascio, limitando la penetrazione dei sottoprodotti nei pori del materiale (Baglioni et al., 2009, 2014, 2015; Boccalon et al., 2021; De France et al., 2020). Alcuni studi recenti hanno riguardato l'incorporazione di ipoclorito di sodio in un gel di alginato di sodio. Nell'uso, sono stati evidenziati però diversi problemi a causa dell'azione ossidante dell'ipoclorito, che agisce anche sulla matrice polisaccaridica, fluidificando il gel e provocando la rapida perdita dell'attività biocida.

Dopo le esperienze nella chiesa di San Pietro Barisano, dove era stato sperimentato un biogel contenente ipoclorito di calcio, per la pulizia di superfici contaminate da patine biologiche, nella chiesa Madonna dei Derelitti, l'ipoclorito è stato sostituito dal dicloroisocianurato di sodio (NaDCC), la cui lenta reazione di decomposizione, già esaminata nel Capitolo 2, consente di modulare la quantità di acido ipocloroso libero nell'idrogel. Il sodio dicloroisocianurato, sperimentato in laboratorio con ottimi risultati su pietra leccese (Gabriele et al., 2021 a e b) ha mostrato attività batteriostatica e battericida simile a quella dell'ipoclorito (Heling et al., 2001). Per il trattamento delle superfici è stato dunque utilizzato dicloroisocianurato di sodio (NaDCC, 0.8%) incorporato in un gel di alginato di sodio (5 %) + CaCl₂ (0.3 %). Come per altre esperienze, il gel è stato applicato sulle superfici utilizzando delle garze come supportante per facilitarne la rimozione dopo circa 24 ore (Figura 79). Per velocizzare la fase di asciugatura sono state utilizzate lampade a infrarossi e ventilatori.

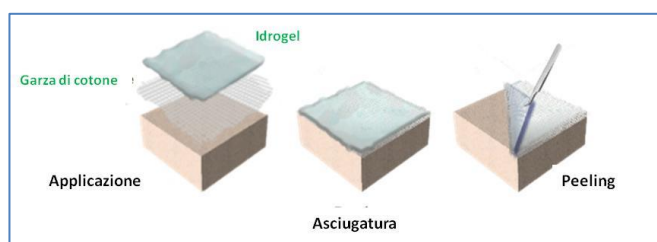


Figura 79. Fasi di applicazione, asciugatura e rimozione dell'idrogel supportato su garza di cotone (Cassieri et al., 2021)

L'efficacia dei trattamenti di pulitura è stata valutata visivamente, da analisi XPS e dalla misura di parametri colorimetrici che mostrano chiaramente come il colore delle superfici dopo il trattamento risulta simile a quelle dei bianchi di riferimento, ovvero di aree superficiali non contaminate da patine biologiche. Il colore di queste ultime risultava però molto variabile a causa dell'alternarsi di roccia viva e calce in relazione a processi di scialbatura. Per quanto riguarda le differenze di colore, misurate dopo il trattamento con l'idrogel, in alcune aree si è osservato un ingiallimento della superficie, dovuto probabilmente alla rimozione meccanica di parte della calce deteriorata e poco adesa al supporto lapideo. In ogni caso l'applicazione del biocida non ha alterato il colore naturale della pietra. Dopo il trattamento di pulitura, la chiesa è stata suddivisa in due macroaree sulle quali sono stati applicati due prodotti consolidanti (Polyrest AC012 e Polyrest P2) per ridurre lo sfarinamento del materiale lapideo che variava dall'83 al 90%. Dai risultati ottenuti è stato messo in evidenza come l'idrogel formulato non solo rimuove le patine dalla superficie della pietra, ma non modifica la cromaticità e la capillarità del substrato trattato (Casieri et al., 2021). In Figura 80 è mostrato l'interno della chiesa prima e dopo il trattamento di pulizia. La Figura 81 è una immagine in microscopia elettronica del campione #2 dopo l'operazione di pulizia.



Figura 80. Particolare della chiesa *Madonna dei Derelitti* prima e dopo il trattamento di pulizia

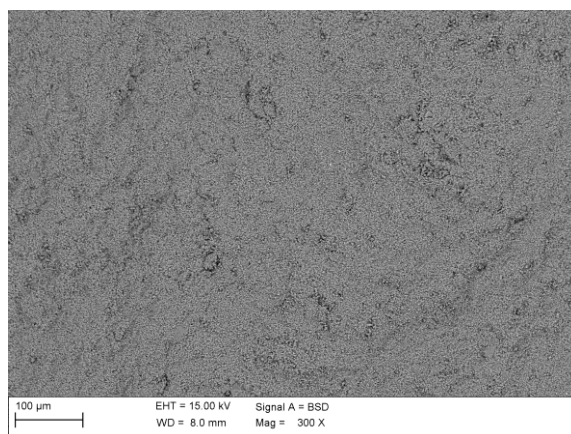


Figura 81. Immagine BSD (Back scattered - electron detector) del campione #2 dopo pulizia; il campione non mostra contaminazione biologica (Tab Consulting, 2019)

3.3.4 ANALISI XPS DEI CAMPIONI

Per le analisi di spettroscopia di fotoelettroni XPS sono stati analizzati in totale 12 campioni: n. 6 campioni prelevati nei siti illustrati in Figura 76 prima del trattamento con biogel e n. 6 campioni prelevati nelle stesse aree dopo il trattamento.

Campione #1. Il campione #1 è stato prelevato in un'area a sinistra dell'altare della chiesa (vedi pianta, Figura 76) dove si notava una intensa colorazione dovuta a patina superficiale. Nella Figura 82 sono illustrati gli spettri “wide” relativi al campione #1 pre e post trattamento con biogel.

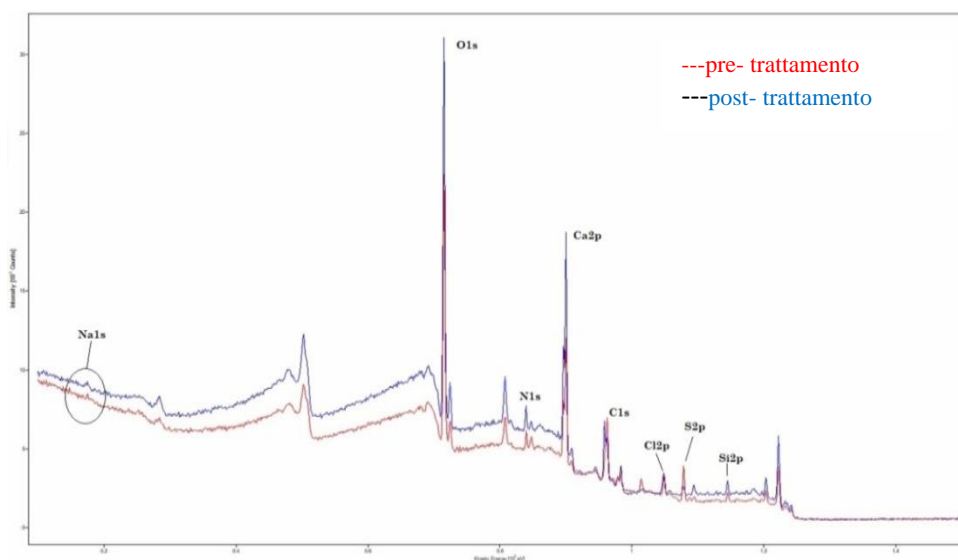


Figura 82. Spettri wide del campione #1 pre (---) e post (---) trattamento

Come si può notare, i principali segnali degli elementi rilevati sono gli stessi in entrambi gli spettri. Tuttavia, dopo il trattamento, è evidente un aumento dell'intensità del segnale del calcio e dell'ossigeno, accompagnato da una diminuzione di quello dello zolfo. Le variazioni di intensità sono state meglio evidenziate e valutate mediante l'analisi dettagliate delle regioni di interesse acquisite a maggiore risoluzione. I risultati del "curve fitting" degli spettri dettagliati e le At% calcolate per i vari gruppi identificati sono riassunti nei grafici di seguito riportati per il campione #1 pre e post trattamento (Figura 83).

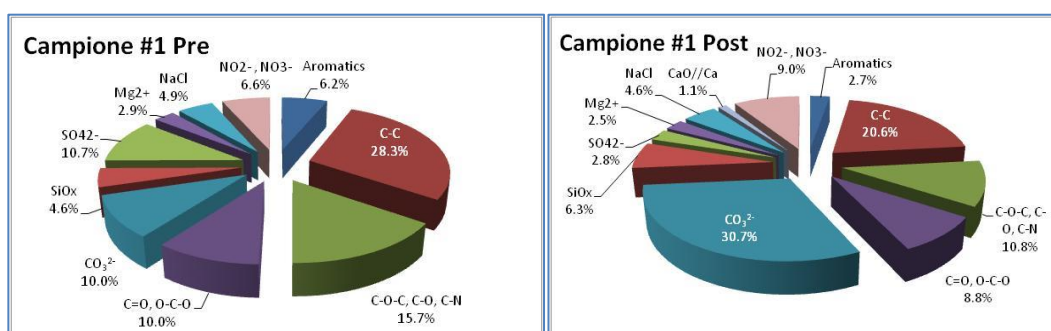


Figura 83. Composizione percentuale del campione #1 derivante dai risultati del curve-fitting

Nella Figura 84 a e b è riportato un esempio della procedura di "curve fitting" per il campione #1 relativo alle regioni C1s, le più suscettibili alla variazione dei picchi componenti prima e dopo il trattamento. In Tabella 16 sono mostrate le assegnazioni dei picchi per il campione #1.

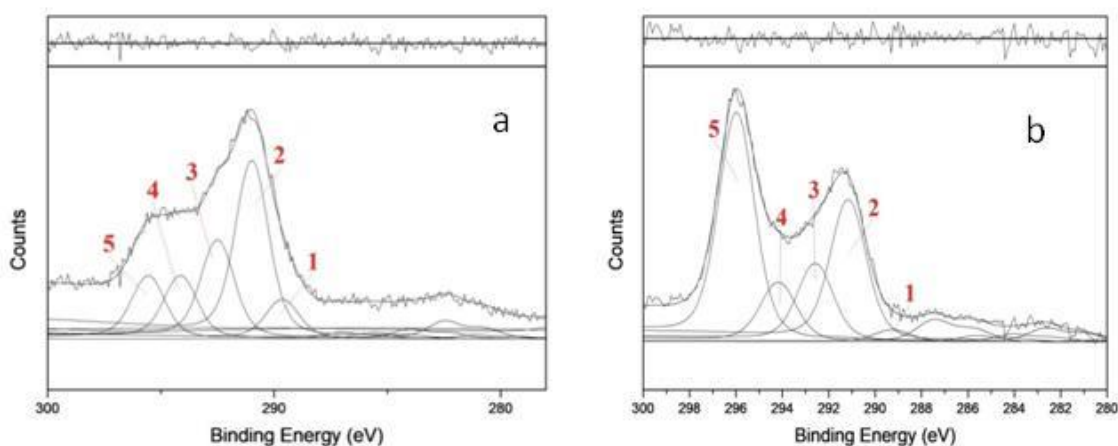


Figura 84. "Curve fitting" delle regioni dettagliate C1s per il campione #1: pre (a) and post (b) trattamento.

Tabella 16 - Assegnazione dei picchi per la regione C1s. Le posizioni corrette dei picchi (BE) sono basate su precedenti lavori e dati di letteratura.

Picchi	(BE) corretta (± 0.1 eV) <i>Pre-trattamento</i>	(BE) corretta (± 0.1 eV) <i>Post-trattamento</i>	Assegnazione
1	283.6	283.1	C-C aromatico*
2	285.0	285.0	C-C alifatico
3	286.5	286.4	C-O-C, CN
4	288.2	288.0	C=O
5	289.6	289.8	(CO ₃) ²⁻

* C-C aromatico può includere segnali da carburi, grafite, idrocarburi policiclici aromatici

Dal confronto dei grafici in Figura 83, si nota principalmente con il trattamento la diminuzione della componente del carbonio organico (dal 60.2 % al 42.9%) a favore di un netto aumento del carbonato di calcio (dal 10.0% al 30.7%). E' interessante notare anche la diminuzione dei solfati (dal 10.7% al 2.8%) e la presenza, più o meno simile in percentuale, tra campione pre e post trattamento, di NaCl e Mg²⁺, componenti della matrice calcarenitica. Si nota invece un leggero aumento dei nitriti + nitrati dal 6.6 al 9%. La scomparsa visiva della patina biologica dopo il trattamento (Figura 85) può essere associata alla rimozione di strati carboniosi di materiale organico sicuramente legati alla colonizzazione biologica; anche la diminuzione dei solfati è da associarsi alla perdita di gesso durante il trattamento. Vista comunque la porosità della parete calcarenitica e la presenza costante di umidità nella chiesa, risalente dal pavimento o discendente dal soffitto non è da escludere che varie componenti soprattutto saline diffondano all'interno di fratture della parete, non venendo così rilevate dall'analisi XPS.



Figura 85. Area di prelievo del campione #1 prima e dopo il trattamento

Campione #2. Il campione #2, è stato prelevato alla destra dell'altare della cappella; l'area, molto degradata, mostrava visivamente un'estesa colorazione superficiale (Figura 86). Come nel caso del campione #1, dopo il trattamento, la superficie appariva visivamente più pulita ad eccezione di alcune macchie ancora presenti sul substrato dovute alle caratteristiche della parete.



Figura 86. Area di prelievo del campione #2 prima e dopo il trattamento

La Figura 87 mostra anche qui il confronto degli spettri “wide” per il campione #2 pre e post trattamento. Come per il campione #1, si nota un aumento della componente carbonatica e del calcio, mentre diminuiscono i contaminanti carboniosi. La differenza più significativa è la diminuzione, dopo il trattamento, del segnale C1s e del segnale dei silicati.

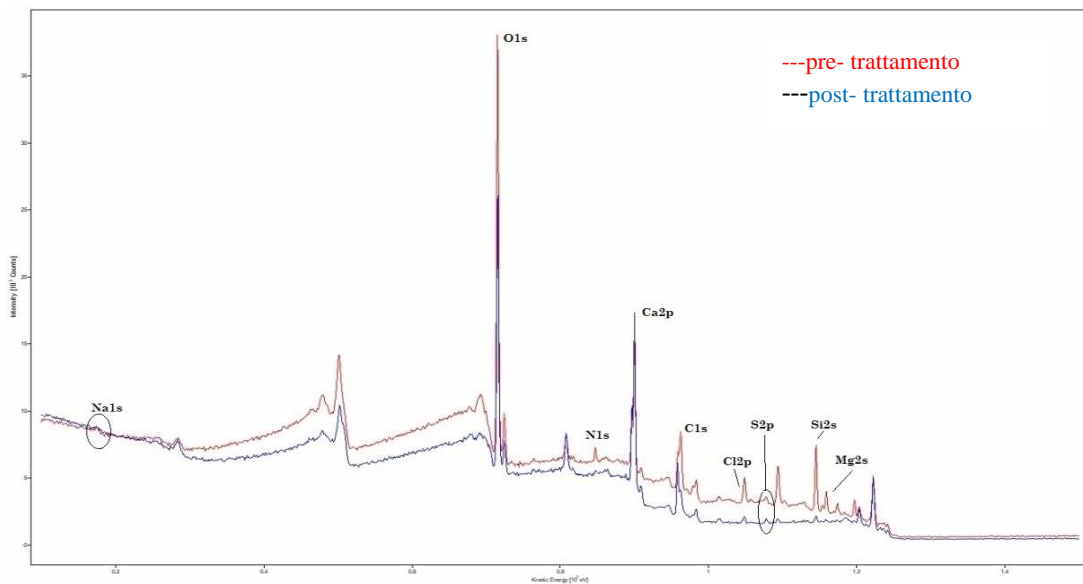


Figura 87. Confronto degli spettri wide del campione #2 prima (---) e dopo (---) trattamento

Le differenze dopo il trattamento possono essere visualizzate dai risultati del “curve fitting” delle regioni dettagliate e dal calcolo delle At% riassunte per questo campione nei grafici a torta della Figura 88.

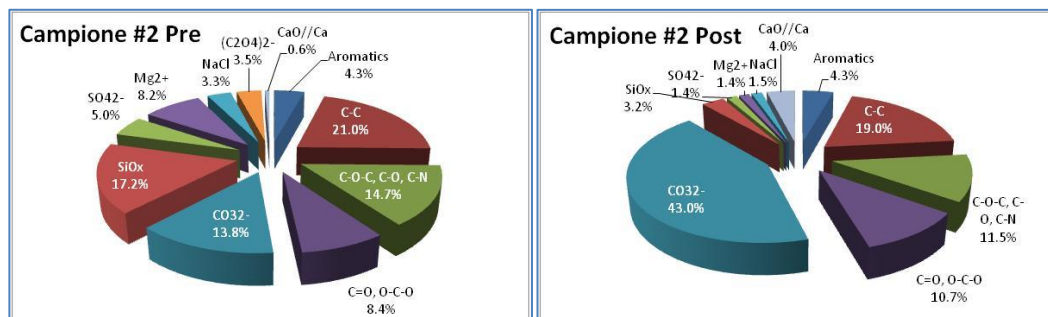


Figura 88. Composizione percentuale del campione #2 derivata dai risultati del curve-fitting

Dall’analisi del campione #2 pre e post trattamento si può notare l’aumento significativo del carbonato di calcio (dal 13.8% al 43%) e di altri composti del calcio (es. CaO) e la diminuzione di alcune specie quali ad esempio l’ossalato di calcio, dal 3.5% a non rivelabile. E’ altresì importante notare come la componente carboniosa organica resti più o meno uguale in percentuale tra pre e post trattamento, con variazioni poco significative (dal 48.4% al 45.5%). E’ da notare, infine, la diminuzione in percentuale di specie come SiO_x , SO_4^{2-} , Mg^{2+} e NaCl . Complessivamente, per quanto riguarda il campione #2 si può affermare che insieme al gesso e all’ossalato, associati al degrado, sono stati rimossi dal trattamento anche componenti silicatiche e sali solubili come NaCl .

Campione #3. I campione #3 è stato prelevato in un’area localizzata su una parete alla destra dell’altare della chiesa (Figura 89). Anche in questo caso l’area non mostrava una completa pulizia, dopo il trattamento, con persistenza di alcune macchie.



Figura 89. Area di prelievo campione #3 pre e post trattamento

La Figura 90 mostra la distribuzione percentuale dei vari gruppi identificati dalla analisi XPS pre e post trattamento. Le procedure analitiche e di valutazione dei dati XPS sono le stesse per i campioni precedenti e per tutti gli altri campioni illustrati in seguito di cui, per brevità, non si riportano tutti gli spettri wide e le dettagliate.

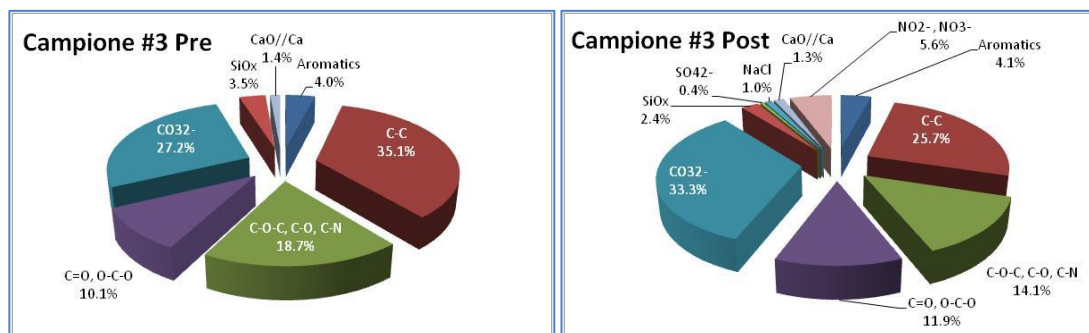


Figura 90. Composizione percentuale del campione #3 derivata dai risultati del curve-fitting

Dal confronto dei due grafici della Figura 90 si nota in questo caso una diminuzione della componente organica dal 67.9% al 55.8% ed il conseguente aumento del carbonato di calcio (dal 27.2 % al 33.3%). Da notare la presenza di nitrati e nitriti (5.6%), successivamente al trattamento, probabilmente dovuta al fatto che queste componenti saline erano ricoperte precedentemente dalla patina biologica o da trattamenti precedenti della superficie. La presenza dei solfati non era rivelabile nel campione prima del trattamento, mentre era presente con una bassa percentuale (0.4%) nel campione post-trattamento.

Campione #4. Il campione #4 è stato prelevato su un'area in basso alla destra della porta di ingresso della chiesa (Figura 91). La Figura 92 mostra la distribuzione percentuale dei vari gruppi identificati dalla analisi XPS nel campione pre e post trattamento, seguendo le stesse procedure descritte in precedenza.



Figura 91. Area di prelievo del campione #4 pre e post trattamento

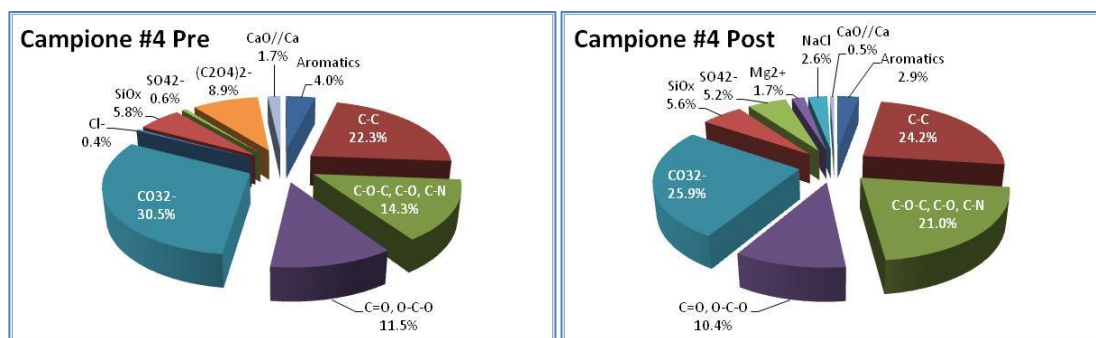


Figura 92. Composizione percentuale del campione #4 derivata dai risultati del curve-fitting

Dal confronto dei grafici relativi al campione #4 pre e post trattamento, si nota la diminuzione della componente relativa all'ossalato di calcio (da 8.9% a non determinabile) e del carbonato di calcio (da 30.5% a 25.9%). La componente organica, variabile da 52.1% a 58.5%, risulta praticamente invariata, così come altre specie dopo il trattamento. In quest'area sembra che l'operazione di pulizia sia stata solo parziale, forse per la difficoltà di applicazione del gel in questo punto della parete o per altri trattamenti precedenti per operazioni di scialbatura.

Campione #5. Il campione #5 è stato prelevato in un'area della parete a sinistra dell'ingresso della chiesa. Nella Figura 93 si nota una intensa patina verde prima del trattamento. Dai risultati dell'analisi XPS e dal calcolo dell'At% sono stati ricavati i grafici a torta riportati in Figura 94.



Figura 93. Area di prelievo del campione #5 pre e post trattamento

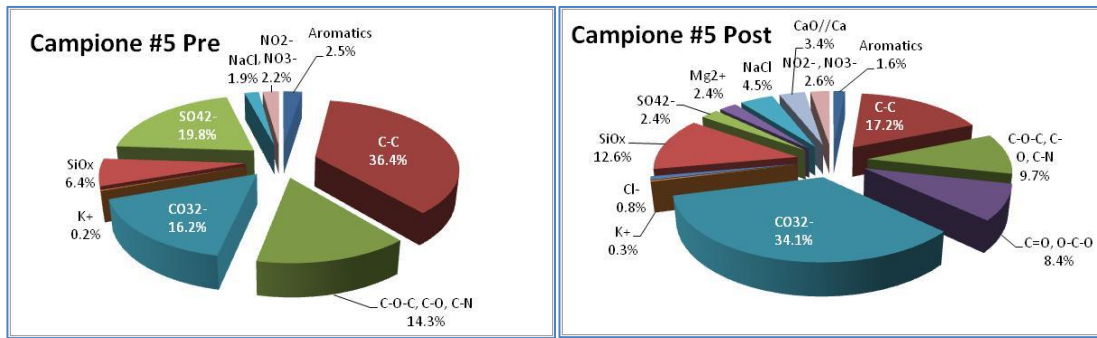


Figura 94. Composizione percentuale del campione #5 derivata dai risultati del curve-fitting

Come si può notare dalle percentuali dei vari gruppi identificati nei campioni pre e post trattamento, si osserva una diminuzione della componente organica dal 53.2 % al 36.9% a favore di un netto aumento della componente carbonatica (da 16.2% a 34.1%). E' importante notare anche la quasi scomparsa del solfato (da 19.8% a 2.4%) a favore di un aumento della componente silicatica (da 6.4% a 12.6%). Il cloruro di sodio aumenta dal 1.9 % al 4.5%. Come si può notare dalla Figura 93, per questo campione sembra che l'operazione di pulizia abbia raggiunto i suoi migliori risultati.

Campione #6. Il campione #6 è stato prelevato in un'altra area della parete sinistra della chiesa (Figura 95) che presentava una estesa patina scura. Le percentuali dei vari gruppi identificati sono mostrate nei grafici di Figura 96.



Figura 95. Area di prelievo del campione #6 pre e post trattamento

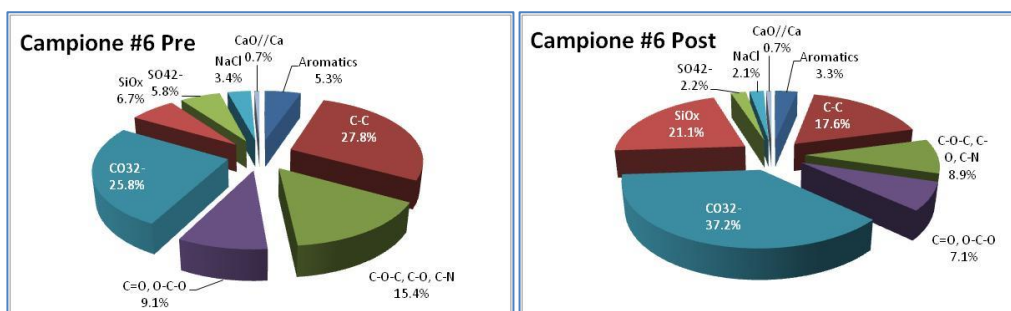


Figura 96. Composizione percentuale del campione #6 derivata dai risultati del curve-fitting

Per il campione #6 si nota che la componente organica diminuisce dal 57.6% al 33.9% con un aumento del carbonato 25.8% al 37.2% e della componente silicatica da 6.7% a 21.8%. E' importante notare anche la diminuzione del solfato (dal 6.7% al 2.2%).

Dall'analisi dei risultati ottenuti da tutte le determinazioni XPS sui 6 campioni analizzati, appare evidente che in alcune aree (per esempio nell'area dove è stato prelevato il campione #4), il trattamento con biogel non ha ottenuto i risultati sperati. Questo è dovuto, probabilmente, a diversi fattori: vari composti organici o inorganici derivanti dalla patina biologica possono essere inglobati nella matrice carbonatica a causa della elevata porosità della superficie. Un altro fattore importante da considerare è rappresentato dalle operazioni di scialbatura (sovrapposizione di intonaco) che nel tempo sono state effettuate sulle pareti allo scopo di un loro consolidamento.

L'acido ipocloroso, generato dal dicloroisocianurato di sodio, contenuto nel gel, ha spiccate capacità ossidanti, anche se è un acido debole ($K_a = 3.0 \times 10^{-8}$). E' dunque poco probabile che reagisca con la matrice calcarea delle pareti della chiesa. Per quanto riguarda il gel di alginato di sodio utilizzato come supporto, Gabriele et al. (2021, a) hanno valutato, attraverso indagini di microscopia elettronica su pietra leccese, il possibile rilascio di residui organici dopo l'operazione di pulizia, evidenziando un rilascio non trascurabile di carbonio sulla superficie imputabile a piccoli residui di idrogel e all'uso di una garza di cotone che non può comunque evitare il contatto tra l'idrogel e la superficie della pietra. Questo dato è stato confermato dalle analisi XPS, soprattutto per quanto riguarda il campione #4. Ad oggi, è in fase di studio la sostituzione della garza di cotone con altri materiali più uniformi.

Per quanto riguarda, infine, il cloruro di calcio, utilizzato come reticolante dell'alginato di sodio, le analisi XPS non evidenziano rilascio di calcio sulla superficie del campione, confermato anche dal non incremento del cloruro. In ogni caso i risultati ottenuti evidenziano come i risultati delle analisi XPS si sono rivelate di valido supporto, soprattutto nella verifica della effettiva eliminazione della patina biologica dalle pareti, permettendo anche di discriminare il diverso comportamento delle varie superfici trattate all'azione del biocida.

3.4 CHELANTI INNOVATIVI PER LA RIMOZIONE DI MACCHIE DI FERRO DA MATERIALI LAPIDEI

3.4.1 PREPARAZIONE DEI GEL DI SUPPORTO

Per la eliminazione di macchie da ossidi di ferro da materiali lapidei, l'attività di ricerca, svolta presso il Dipartimento di Chimica dell'Università "La Sapienza" di Roma, è stata finalizzata alla valutazione dell'efficienza di chelanti non tossici, supportati su gel. La preliminare ricerca bibliografica sull'argomento, ha riguardato le applicazioni di chelanti soprattutto nel settore del restauro di materiali lapidei costituenti Beni Culturali, considerando, in particolare, quelli in grado di rimuovere selettivamente ossidi/idrossidi di ferro, senza alterare la matrice carbonatica. L'attenzione è stata rivolta, sia a chelanti già utilizzati per la spiccate capacità chelanti del ferro, come il tioglicolato di ammonio (utilizzato come riferimento), sia a composti meno tossici utilizzati anche in campo farmacologico, come il glutatione (Hamed et al., 1983) e il deferiprone (Hider & Hoffbrand, 2018). I test di rimozione sono stati condotti in laboratorio su provini di travertino e marmo di Carrara precedentemente "macchiati" artificialmente con ferro, come descritto nel Capitolo 2. Per quanto riguarda il trattamento delle superfici lapidee, si è scelta l'applicazione del chelante supportato su gel: questo metodo risulta efficace soprattutto per focalizzare meglio le aree di intervento e rimuovere facilmente il chelante dopo la sua applicazione (Slaton & Normandin, 2005; Carretti et al., 2008; Baglioni et al., 2009).

Per quanto riguarda i gel sono state studiate varie formulazioni atte a verificare la capacità di soluzione o dispersione del chelante, le caratteristiche di adesione alle superfici e la interazione col materiale lapideo. Nella operazioni di rimozione delle macchie, infatti, è importante che il gel sia adeso alla superficie durante tutto il tempo di trattamento, ma, allo stesso tempo, non rilasci residui sulla superficie stessa. I gel testati in questo lavoro sono quelli ottenuti dalle seguenti combinazioni:

- *Polivinilalcol/Alginato di Sodio/Glicerolo*
- *Polivinilalcol/Tetraborato di Sodio*
- *Alginato di Sodio/Psyllium*

Per quanto riguarda la preparazione dei gel Polivinilalcol (PVA) / Alginato di Sodio / Glicerolo (Hecht & Srebnik, 2016) sono state preparate 5 diverse formulazioni, secondo le quantità riportate di seguito:

- Gel 1: 30 mL PVA al 10% + 30 mL Alginato di Sodio 5%;
- Gel 2: 30 mL PVA al 5% + 30 mL Alginato di Sodio 2%;
- Gel 3: 30 mL PVA al 5% + 30 mL Alginato di Sodio 2% + 0.9 mL Glicerolo 30%;
- Gel 4: 30 mL PVA al 5% + 30 mL Alginato di Sodio 2% + 1.2 mL Glicerolo 40%;
- Gel 5: 30 mL PVA al 5% + 30 mL Alginato di Sodio 2% + 1.5 mL Glicerolo 50%.

La sperimentazione fatta in laboratorio ha portato alle seguenti conclusioni: il gel 1 si presentava troppo grumoso e compatto per poter essere applicato efficacemente su una superficie; il gel 2 mostrava, invece, un'ottima fluidità e capacità di adesione. Pertanto al gel 2 si è aggiunto il glicerolo a diverse concentrazioni ottenendo così i gel 3, 4 e 5. I gel 3 e 5, una volta applicati su provini di marmo, si sono mostrati rispettivamente non omogenei, pieni di grumi o troppo adesi alla superficie.

Il gel n. 4 ha mostrato invece ottima adesione, assenza di grumi e facile distacco dalla superficie trattata. La formulazione del gel 4 è stata dunque scelta per le prove sui provini di marmo da trattare.

L'alginato, come detto precedentemente nel Capitolo 2, gelifica per scambio ionico tramite aggiunta di cloruro di calcio. Questo permette alle catene di intrecciarsi tra di loro e formare una specie di polimero all'interno del quale resta intrappolata la soluzione.

Per la preparazione del gel Polivinilalcol (PVA) / Tetraborato di Sodio anidro (Emiliano et al., 2009), è stata preparata una soluzione di PVA in acqua al 4%, riscaldata a circa 80 °C su piastra con agitatore magnetico. Occorre in questo caso non operare a temperature superiori agli 80 °C in modo da non provocare la decomposizione del PVA. Ottenuta la soluzione limpida, si lascia raffreddare.

Contemporaneamente è stata preparata una soluzione di sodio tetraborato all'8% in acqua. Le due soluzioni di PVA e tetraborato sono state poi successivamente mescolate nelle proporzioni riportate in Tabella 17. Dopo alcuni minuti di mescolamento si è formato il gel che può essere lavorato e modellato con una bacchetta di vetro.

Dopo i test di adesione, è stato selezionato per le successive prove il gel n. 2 che, anche se più compatto e meno fluido rispetto al primo, ha mostrato ottime capacità di adesione soprattutto su superfici verticali.

Tabella 17 - Quantità relative di PVA e tetraborato di sodio per la preparazione dei due gel testati

Reagente	Gel 1	Gel 2
PVA 4%	50 mL	50 mL
Tetraborato di Sodio 8%	10 mL	20 mL

Il gel di Alginato di Sodio/Psyllium è stato preparato miscelando 30 mL di una soluzione al 5% di alginato di sodio con 30 mL di una soluzione di Psyllium al 2.7%. Il gel così preparato è apparso subito troppo denso, pieno di grumi e difficile da staccare dalle superfici, con rilascio di vari residui.

Dopo varie prove pertanto, visti i risultati di consistenza e adesione, i gel più performanti dal punto di vista applicativo si sono rivelati quelli costituiti da Polivinilalcol/Alginato di Sodio/Glicerolo e Polivinilalcol/Tetraborato di Sodio anidro. Il primo gel si è mostrato semplice da applicare e da rimuovere, anche se si è mostrato poco adatto all'applicazione a superfici verticali. La reticolazione del gel è stata ottenuta come già detto con cloruro di calcio. Per quanto riguarda il secondo gel, la reticolazione del polimero varia in base alla concentrazione di tetraborato di sodio anidro; aumentando la concentrazione di quest'ultimo si è riusciti ad ottenere un gel in grado di aderire anche su superfici verticali.

Il gel scelto alla fine per valutare l'efficacia di chelanti su provini di travertino è stato il gel n. 4 di PVA/Alginato di Sodio/Glicerolo. I chelanti testati su travertino macchaito sono stati il Tioglicolato di Ammonio, il Glutatione e il Deferiprone. La concentrazione dei chelanti scelta è stata dello 0.2%, riferita a 100 mL di gel (Reale, 2017). I test sono stati condotti in condizioni di pH neutro o leggermente alcalino (pH compresi tra 7 e 8) sia per un maggior effetto di chelazione, che per una minore aggressività verso la matrice carbonato di calcio. In queste condizioni, si sono osservate nel processo di trattamento le colorazioni tipiche dei complessi Ferro-Tioli.

3.4.2 RIMOZIONE DI MACCHIE SU CAMPIONI DI TRAVERTINO

Il travertino è una roccia sedimentaria calcarea che si distingue principalmente per la sua inconfondibile compattezza. Il travertino si estrae fin dai tempi degli Etruschi in Toscana ed è stato utilizzato per dare vita ad opere che oggi fanno parte del patrimonio culturale

del nostro Paese, come il Colosseo e la Fontana di Trevi. I travertini sono dei materiali caratterizzati da un'alta porosità e sono composti per il 90% da carbonato di calcio, i cui cristalli variano dal micron ai 0.5 mm; per il restante 10% si riscontrano ossidi di ferro e manganese, carbonato di magnesio, dolomite, alluminosilicati e silice. Proprio grazie alla presenza di quantità variabili di ossidi di ferro, il travertino assume colorazioni che vanno dal bianco latte al nocciola fino al rosso bruno. Per un confronto tra le caratteristiche del travertino e del marmo di Carrara, in Figura 97 sono mostrate le microfotografie di sezioni di due provini di marmo di Carrara e travertino da cui è possibile apprezzare la differente porosità del materiale (Reale, 2017). Come si può notare il travertino è un materiale più poroso rispetto al marmo di Carrara e questo servirà anche a spiegare alcuni risultati ottenuti nelle successive indagini analitiche.

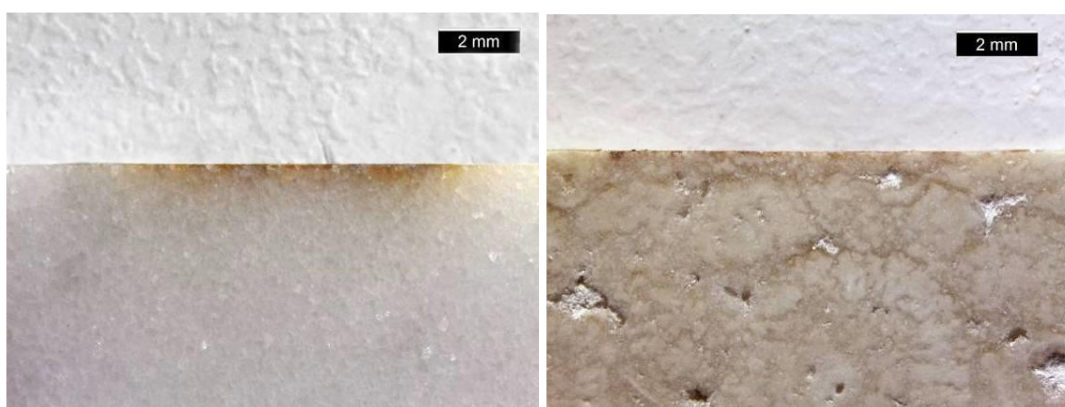


Figura 97. Microfotografia delle sezioni lucide di campioni provini di marmo di Carrara (a destra) e travertino (a sinistra) (Reale, 2017)

La riproduzione di macchie artificiali su campioni di travertino è stata realizzata presso il Dipartimento di Chimica dell'Università "La Sapienza" di Roma, sovrapponendo barrette di ferro su provini delle dimensioni di 50x50x20 mm, precedentemente levigati, lavati con acqua distillata e asciugati in stufa a 50 °C. L'esposizione, come già visto, è stata fatta all'aperto, favorendo la corrosione in presenza di pioggia o umidità atmosferica. In Figura 98 è illustrato un campione di travertino macchiato e alcune aree selezionate da sottoporre ad analisi. Per le analisi XPS i provini sono stati sezionati in cubetti di 1 cm di lato.

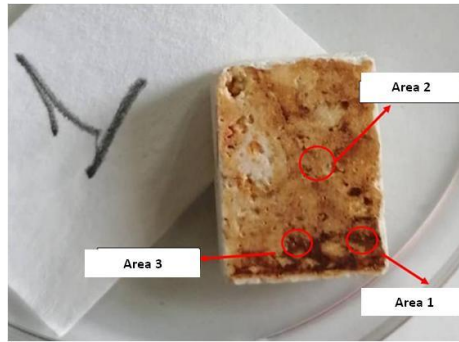


Figura 98. Campione di travertino macchiato artificialmente

I campioni di travertino trattati e non con i diversi chelanti sono stati analizzati mediante spettroscopia XPS secondo le procedure descritte nel Capitolo 2. Per i vari campioni è stato acquisito lo spettro wide e, nelle zone di interesse, gli spettri ad alta risoluzione che hanno permesso poi di individuare i vari “gruppi o elementi chimici” e di fare una analisi semiquantitativa del campione. Indagini di microscopia elettronica sono state utili per definire la distribuzione spaziale del ferro sulla superficie dei marmi e l’eventuale rilascio di residui di gel dopo i vari trattamenti.

3.4.3 ANALISI XPS SU CAMPIONE DI TRAVERTINO MACCHIATO NON TRATTATO

Su un campione di travertino denominato #1 (area 1, Figura 98), prima del trattamento con chelante sono state effettuate analisi XPS al fine di ricavare dati utili, unitamente ad indagini di microscopia elettronica, sulla distribuzione del ferro e sul rapporto superficiale ferro/calcio. Questo rapporto è stato utile per confrontare i vari campioni trattati con gel + chelante, al fine di valutare l’efficienza della rimozione delle macchie. Lo spettro “wide” del campione #1 è riportato in Figura 99. Nello spettro sono messi in evidenza i picchi più significativi e le regioni di interesse relative ai vari elementi riscontrati. Nella Figura 100 sono poi illustrati gli spettri dettagliati, ottenuti mediante “curve fitting” delle regioni di maggiore interesse, mentre in Tabella 18 sono riportate le “binding energy”, le aree normalizzate e le assegnazioni relative ai vari picchi. In Figura 101 è riportato, infine, il grafico di distribuzione delle varie specie, dedotto dall’At% (Atomic Percentage) calcolata.

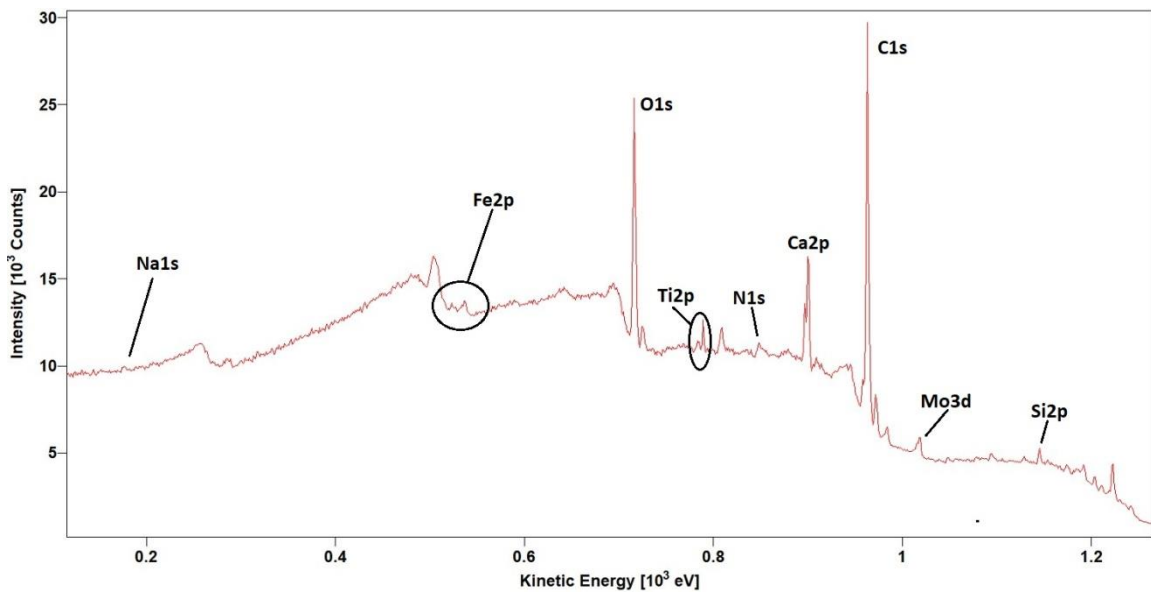


Figura 99. Spettro Wide del campione #1(area 1)

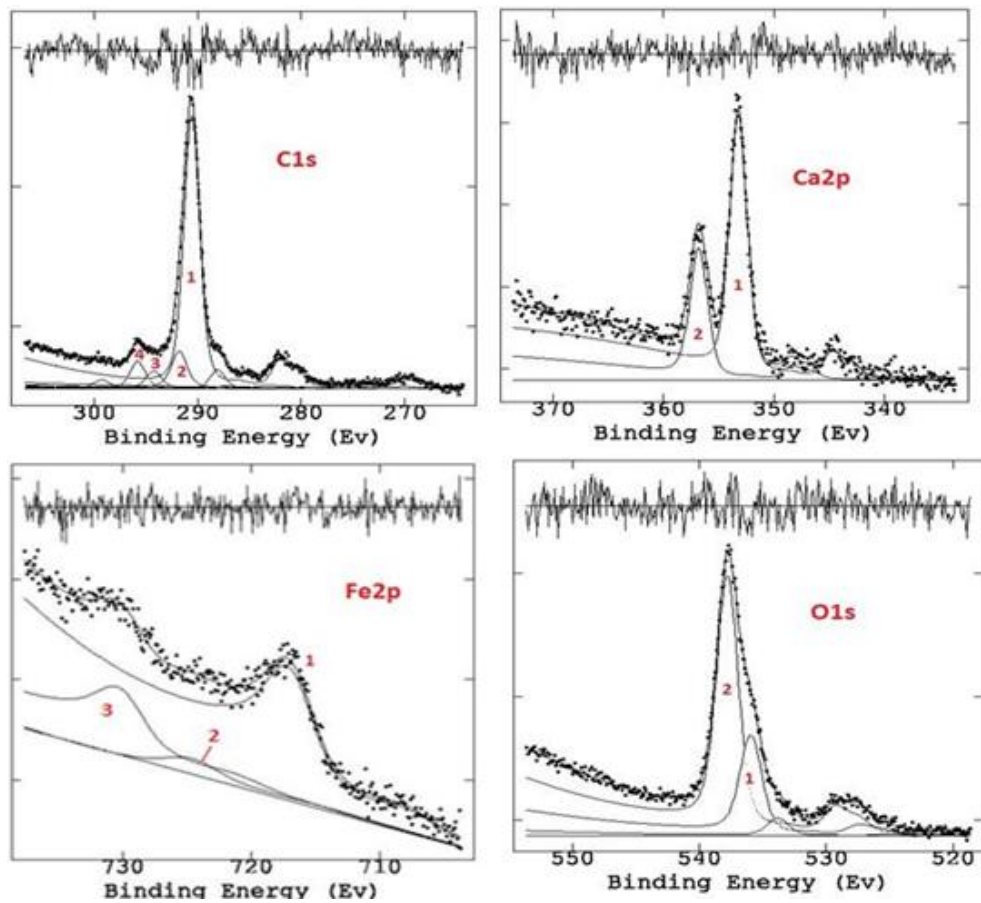


Figura 100. Dettagiate delle regioni: Carbonio 1s, Calcio 2p, Ferro 2p, Ossigeno 1s

Tabella 18 - "Binding Energy", aree normalizzate e assegnazioni relative del campione #1

Regione	Picco	BE corretta (eV± 0.2 eV)	Area normalizzata	Assegnazione
C(1s)	1	282.5	2367.9	C aromatico
	2	285.0	33705.0	C-C alifatico
	3	286.2	5014.2	C-O-C, C-O, C-N
	4	288.6	2350.3	C=O, O-C-O
	5	290.2	3437.7	CaCO ₃
Ca(2p)	1	347.6	2309.2	CaCO ₃
	2	351.2	1154.6	CaCO ₃
Fe(2p)	1	711.2	789.6	Fe ₂ O ₃
	2	719.1	157.9	
	3	724.4	394.8	
Si(2p)	1	100.0	194.9	SiO _x
	2	102.8	1269.3	
Al(2s)	1	119.4	316.7	Al ₂ O ₃
Na(1s)	1	1072.0	403.8	Na ₂ O
N(1s)	1	399.5	1575.3	C-N
O(1s)	1	530.3	5844.5	O totale
	2	532.2	15061.6	

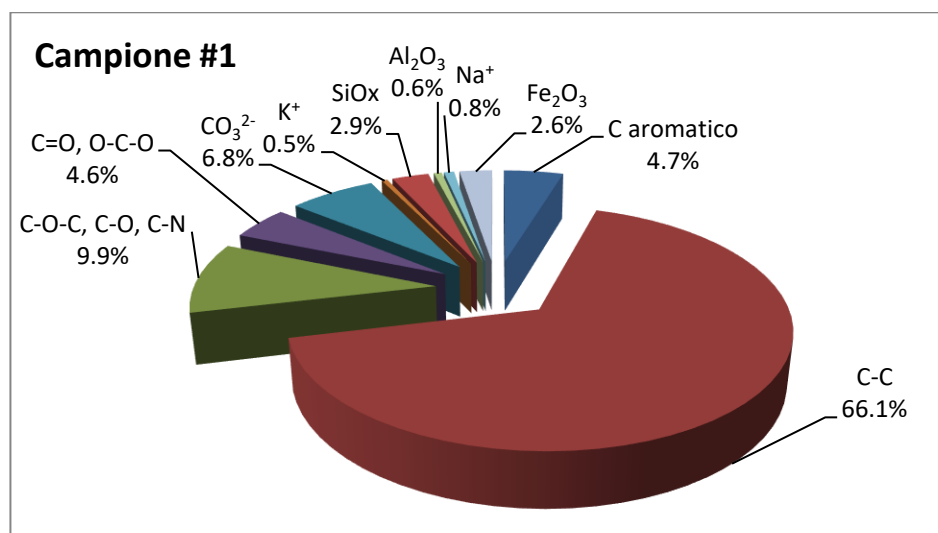


Figura 101. Grafico a torta relativo ai gruppi individuati (campione #1 non trattato)

Dai valori dell'At% si ricava per questo campione un rapporto Fe/Ca di 0.39 usato come riferimento per le successive analisi relative al trattamento del campione con gel + chelante. In Tabella 19 sono mostrati i valori dei rapporti Fe/Ca e CO₃²⁻ / Ca.

Tabella 19 - Rapporti Fe/Ca e CO₃²⁻ / Ca

	R Fe / Ca	At% C-C	At% CO _x -CN	R CO ₃ ²⁻ / Ca	R(1/R)* ΣO _x /O1s tot
Campione #1	0.39	66.1	14.5	1.0	0.9≤1≤1.1**

* Contributo all'area O1s di tutte le specie ossidate tenendo in conto i rapporti stechiometrici/Area totale O1s; **Accuratezza XPS +/- 10%

Come si può notare in questo campione di travertino macchiato, la patina superficiale è costituita in prevalenza da composti del carbonio, mentre il calcio mantiene il suo rapporto unitario con il carbonato. Il rapporto Fe/Ca è quello massimo riscontrato in un campione non trattato con chelante per cui può essere preso come riferimento per le prove successive.

Le immagini di microscopia elettronica del campione #1 sono state acquisite presso il CNR –IMAA di Tito Scalo (Potenza) con un Microscopio Elettronico a Scansione con sorgente ad emissione di campo (FE-SEM), equipaggiato con sistema di microanalisi in dispersione di energia (EDS). Lo spettro EDS, determinato in vari punti della superficie del campione, ha consentito di identificare gli elementi a maggiore concentrazione e di fare una valutazione qualitativa sulla superficie analizzata. Dalle immagini SEM, acquisite raccogliendo gli elettroni retrodiffusi (Back Scattered-Electron (BSE) imaging), si evidenzia come la calcite nel campione di travertino si presenta con aspetto geometrico regolare pur assumendo però forme differenti fra la superficie e le numerose cavità osservate (Figura 102).

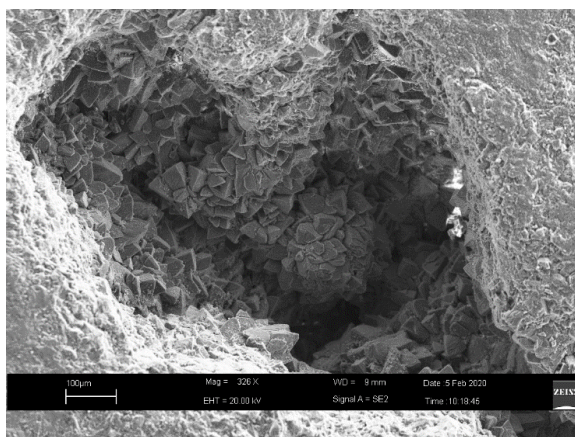


Figura 102. Immagine SEM campione #1: particolare di una cavità della superficie

L'immagine mostra le cavità tipiche del campione di travertino; nelle aree interne non si evidenzia presenza del ferro, al contrario delle aree esterne (zone più chiare) che denotano una distribuzione non omogenea del ferro sulla superficie. La distribuzione del ferro si alterna fra zone più chiare, dove è più concentrato, a zone più scure, dove il ferro è assente (Figura 103).

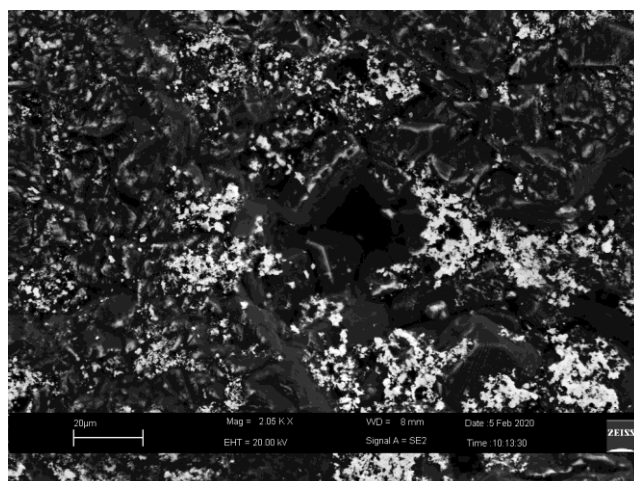


Figura 103. Immagine BSE della superficie del campione #1

La microanalisi con registrazione di spettri EDS è stata effettuata in 6 aree del campione #1 (Figura 104). Dall'analisi degli spettri (Figura 105) si conferma la distribuzione non uniforme del ferro sulla superficie, con assenza o basse concentrazioni in alcune aree (spettri 1 e 2) e concentrazioni elevate in altre (spettri 3 e 5). Tutto ciò conferma come la distribuzione del ferro sulla superficie dipende anche dal numero di cavità presenti nella calcite, vista la struttura non uniforme e porosa della superficie del travertino.

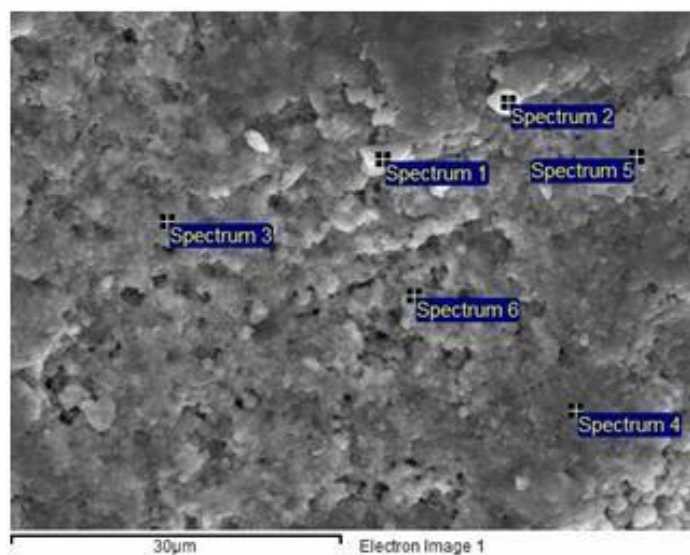


Figura 104. Aree della superficie del campione #1 in cui è stata effettuata la microanalisi

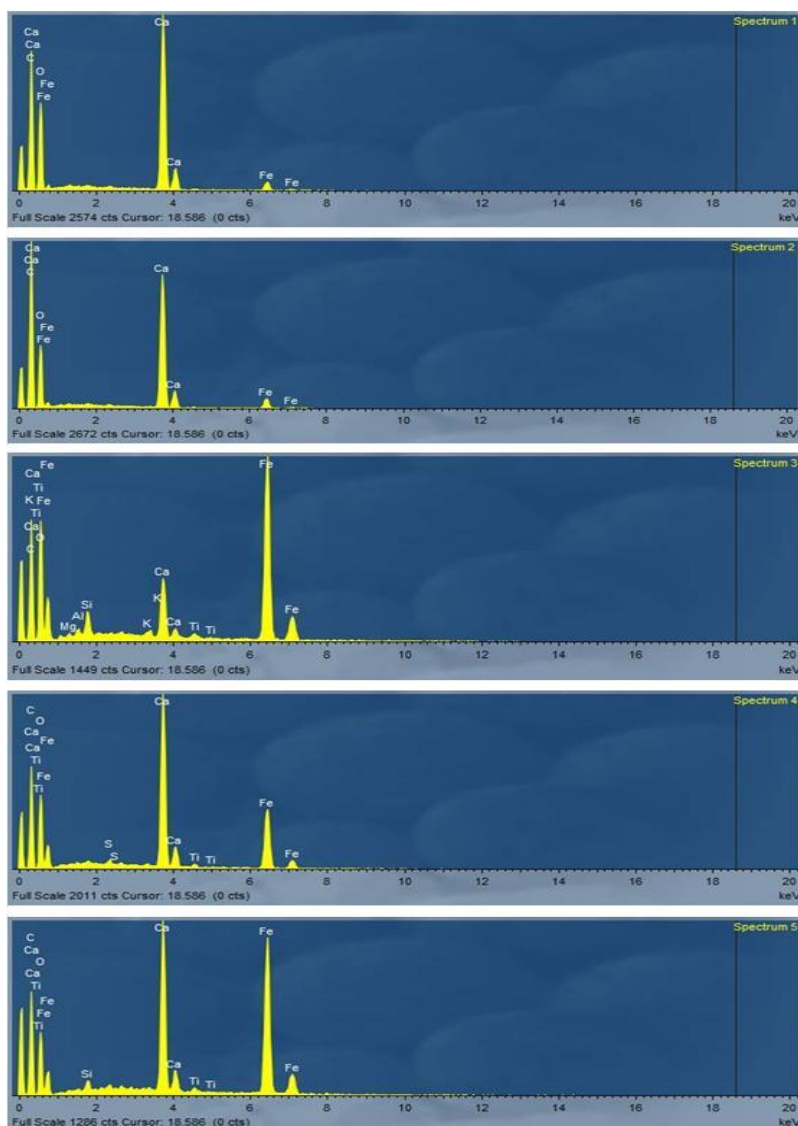


Figura 105. Spettri EDS relativi a varie aree del campione #1

3.4.4 ANALISI XPS SU CAMPIONE DI TRAVERTINO MACCHIATO TRATTATO CON TIOGLICOLATO DI AMMONIO

In Figura 106 è mostrato lo spettro “wide” del campione #2 di travertino macchiato artificialmente e trattato con tioglicolato di ammonio allo 0.2% nel gel di alginato di sodio /PVA. Nelle aree di interesse è stata eseguita l’analisi dettagliata e su queste il “cuve fitting” determinando le varie assegnazioni (Tabella 20). In Figura 107 è illustrata la distribuzione percentuale dei vari gruppi o elementi identificati.

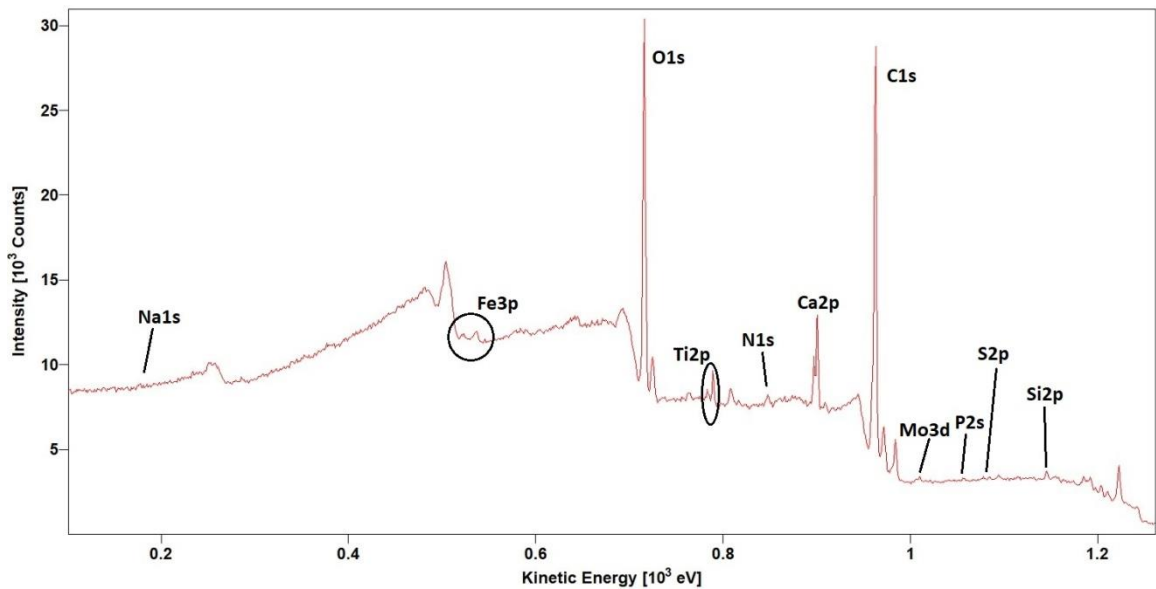


Figura 106. Spettro wide del campione di travertino #2 trattato con tioglicolato di ammonio

Tabella 20 - Assegnazione dei picchi ottenuti mediante curve fitting

Regione	Picco	BE corretta (eV± 0.2 eV)	Area normalizzata	Assegnazione
C 1s	1	283,7	1048.1	C aromatico
	2	285,0	24864.0	C-C alifatico
	3	286,9	23909.7	C-O-C, C-O, C-N
	4	288,5	3500.2	C=O, O-C-O
	5	290,0	3850.2	CO ₃ ²⁻
O 1s	1	530,7	4809.8	O totale
	2	532,6	27565.8	
Fe 2p	1	711,2	667.1	Fe ₂ O ₃
	2	720,8	180.2	
	3	725,0	335.5	
Na 1s	1	1072,0	821.6	Na ₂ O
Ca 2p	1	347,6	2169.8	CaCO ₃
	2	351,2	1084.9	CaCO ₃
	3	355,5	65.1	Shake up
	4	359,1	65.1	Shake up
N 1s	1	398,9	333,20	C-N
	2	400,5	753,20	
Si 2p	1	102,3	472,40	SiO ₂
	2	103,3	236,20	

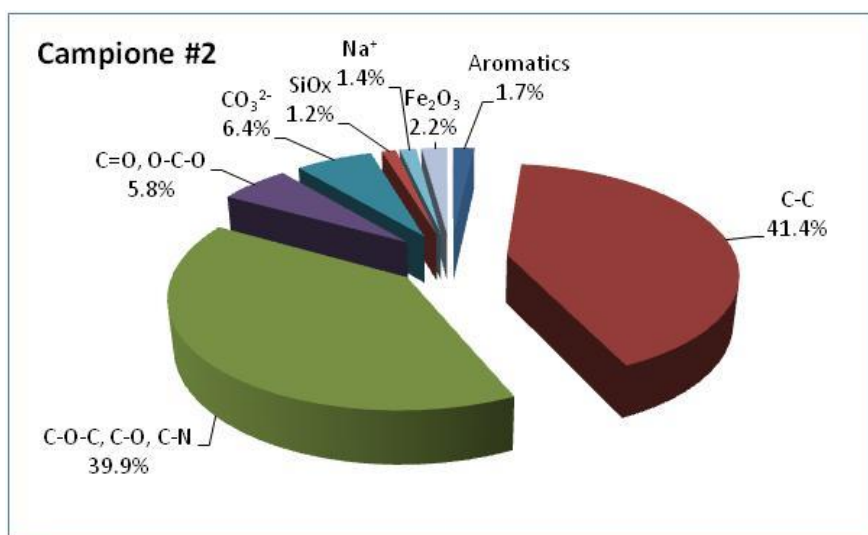


Figura 107. Distribuzione delle At% per i vari gruppi o elementi identificati

Dai valori dell'At% si ricava che il rapporto Fe/Ca è in questo caso 0.34 (Tabella 21). Per il provino di travertino non trattato il rapporto era 0.39. Questo vuol dire che l'azione del chelante non è stata efficace come ci si aspettava.

Tabella 21 - Rapporti Fe/Ca e CO₃²⁻/Ca per il campione # 2

	R Fe / Ca	At% C-C	At% CO _x -CN _x	R CO ₃ ²⁻ / Ca	R(1/R)* ΣOx/OIs tot
Campione #2	0.34	41.4	45.7	1.1	1.3 (0.77)

* Contributo all'area OIs di tutte le specie ossidate

Valutando le percentuali di carbonio organico totale si nota che per il campione #1 non trattato la percentuale di carbonio organico totale (C-C, C-N e C-O) era del 85.3%, mentre nel campione #2, trattato con tioglicolato di ammonio, era pari al 87.1%. Questo lascia supporre che, considerata la porosità della superficie del travertino, il gel non sia stato completamente eliminato e abbia rilasciato dei residui sulla superficie. Questo risultato spiegherebbe anche la non efficiente rimozione del ferro dalla superficie, anche per ritenzione del ferro rimasto nel gel adeso al travertino. Questa ipotesi trova conferme nell'analisi di microscopia elettronica condotta sulla superficie del campione.

In Figura 108 sono riportate le immagini SEM, relative agli elettroni secondari, da cui si osservano nelle diverse zone del campione macchie più bianche su formazioni sferoidali. Queste rappresentano porzioni di gel polimerico con ossido di ferro (zone più chiare) rimaste adese alla superficie del travertino. Questo conferma i dati ottenuti dall'analisi XPS. All'interno delle cavità presenti sulla superficie si notano strati di carbonato con

dimensioni e forme irregolari, che conferiscono un'ulteriore irregolarità strutturale alla superficie stessa. L'interno dei pori differisce dalla superficie esterna a causa delle modifiche operate, anche da agenti atmosferici in relazione alla esposizione all'aria del provino.

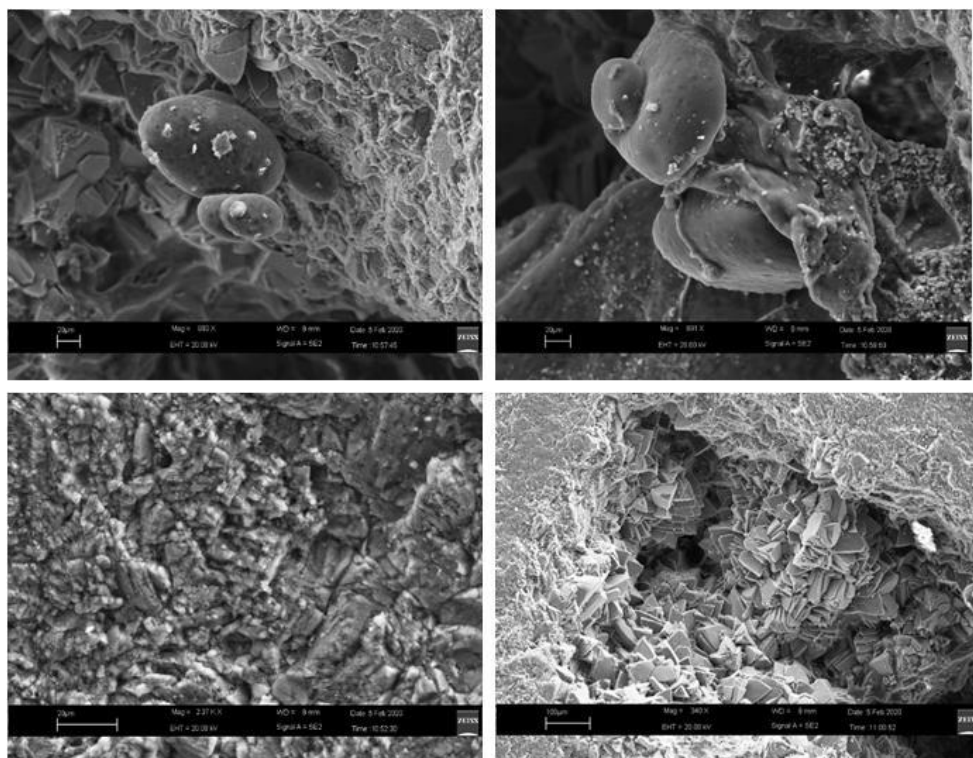


Figura 108. Immagini SEM di diverse zone del campione #2

Ulteriori prove sono state effettuate su un'altra porzione del campione #2 (campione #2 bis) aumentando al 2% la concentrazione di tioglicolato di ammonio presente nel gel. La Tabella 22 mostra il confronto dei risultati ottenuti per quanto concerne il rapporto Fe/Ca relativamente alle due concentrazioni di chelante testate.

Tabella 22 - Rapporti Fe/Ca per le due concentrazioni di tioglicolato di ammonio testate

	Fe / Ca	Fe / Ca
Campione #2	0.34 (Tioglicolato di Ammonio 0.2%)	0.04 (Tioglicolato di Ammonio 2%)

Come si può notare dai rapporti Fe/Ca e dalla Figura 109, c'è una netta diminuzione del ferro sulla superficie del provino all'aumentare della concentrazione del chelante; di fatto, il tioglicolato di ammonio sembra essere più performante a concentrazioni superiori

(l'aumento di un ordine di grandezza permette di ottenere un rapporto Fe/Ca che passa da 0.34 a 0.04).

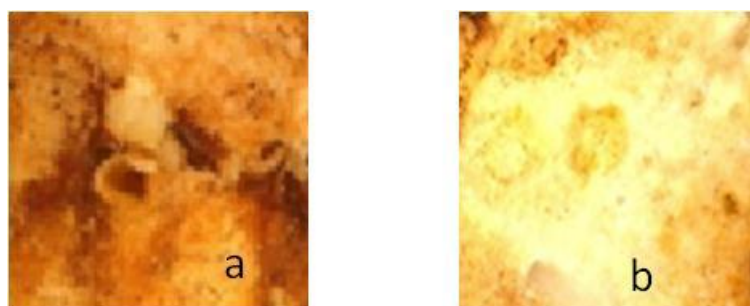


Figura 109. Microfotografia del campione di travertino #2 pre (a) e post (b) trattamento con tioglicolato di ammonio 2 %

Una ulteriore prova è stata effettuata su un altro campione di travertino macchiato (campione #3) che prima di essere trattato con il gel, dall'analisi XPS presentava un rapporto Fe/Ca di 0.46. IL campione è stato poi diviso in due parti trattate rispettivamente con un gel allo 0.2 % di tioglicolato e con un gel al 2% di tioglicolato. Come mostrato dalla Tabella 23, i risultati dell'analisi XPS in questo caso confermano la maggiore efficienza nella eliminazione del ferro con tioglicolato di ammonio al 2%: pur tuttavia, anche il gel con lo 0.2% di chelante, sembra esser stato più efficace in questo campione caso, rispetto alla prova precedente condotta sul campione #2. Appare evidente come la variabilità della struttura superficiale dei due provini, tipica del travertino, ha notevole influenza sui risultati ottenuti, influenzando soprattutto la non completa rimozione del gel dalla superficie.

Nonostante l'aumento dell'efficacia di rimozione del ferro ottenuta all'aumentare della concentrazione di tioglicolato di ammonio, l'uso di questo complessante presenta alcune problematiche relative alla sua alta tossicità: questo rappresenta un problema, nell'ottica di utilizzo di procedure "green" nel settore dei Beni Culturali.

Tabella 23 - Valori del rapporto Fe/Ca per il campione #3 non trattato o trattato con tioglicolato di Ammonio a diverse concentrazioni

	Fe / Ca	Fe / Ca	Fe / Ca
Campione #3	0.46 (campione non trattato)	0.12 (Tioglicolato di Ammonio 0.2%)	0.05 (Tioglicolato di Ammonio 2%)

3.4.5 ANALISI XPS SU CAMPIONE DI TRAVERTINO MACCHIATO, TRATTATO CON GLUTATIONE

L'analisi XPS è stata effettuata in questo caso su un provino di travertino macchiato (campione #4) trattato con glutazione su gel di alginato di sodio /PVA/glicerolo in condizioni di pH pari a 7.1. In Figura 110 è illustrato lo spettro "wide" del campione dopo trattamento. Nella Tabella 24 sono mostrate le attribuzioni dei picchi e le aree normalizzate, dopo esame delle regioni dettagliate di interesse. In Figura 111 è mostrata poi la distribuzione percentuale delle varie specie identificate derivante dal calcolo dell'At%.

In Tabella 25 è riportato il rapporto Fe/Ca del campione #4 trattato con il chelante Glutazione, confrontato con il campione non trattato. La prima osservazione è relativa alla sensibile diminuzione del rapporto Fe/Ca rispetto al riferimento: il sensibile aumento del carbonio organico rispetto al campione non trattato è da collegarsi sempre a residui di gel intrappolati sulla superficie del travertino. Inoltre, nel campione di travertino trattato il rapporto $\text{CO}_3^{2-}/\text{Ca}$ si discosta dall'unità rispetto al campione non trattato. Si ipotizza, a tal proposito, che parte del calcio sia stato chelato ed asportato durante il trattamento. L'aumento di specie del tipo COx e CNx e la comparsa di zolfo, avvalorano l'ipotesi della presenza di residui organici rilasciati dal materiale di supporto o dal chelante impiegato, ulteriormente visibili in alcune cavità del travertino, come mostrato nelle immagini SEM.

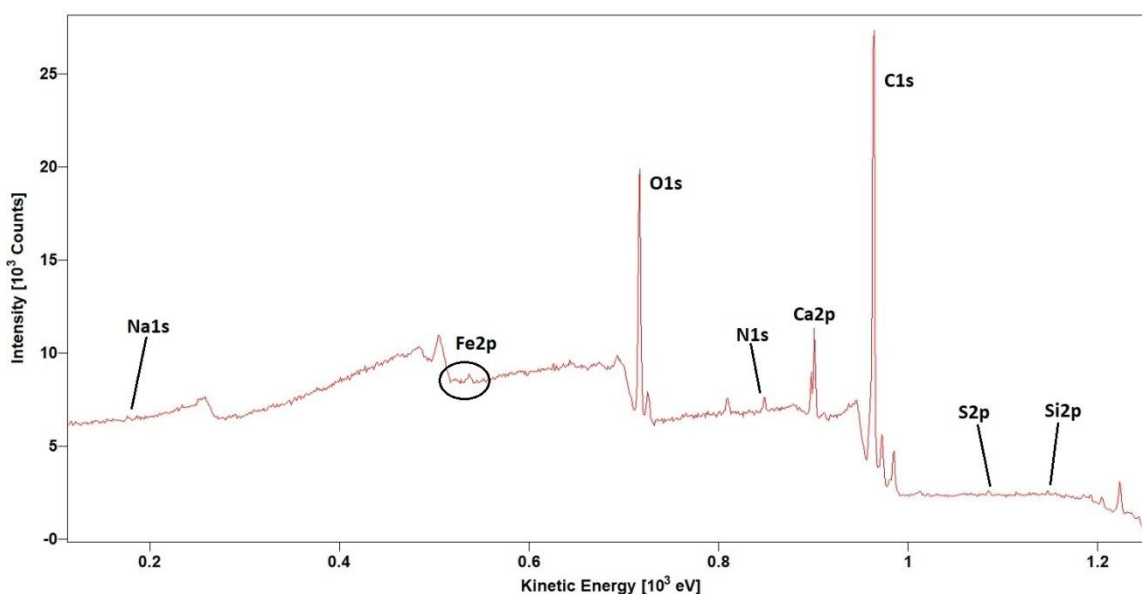


Figura 110. Spettro "wide" del campione #4 trattato con glutazione

Tabella 24 - Picchi relativi alle varie regioni esaminate e relative attribuzioni

Regione	Picco	BE Corretta (eV)	Area Normalizzata	Attribuzione
C 1s	1	283.4	709.6	C aromatico
	2	285.0	39480.0	C-C alifatico
	3	286.4	13483.9	C-O-C, C-O, C-N
	4	288.1	3943.3	C=O, O-C-O
	5	294.9	6584.7	CO ₃ ²⁻
O 1s	1	532.0	31.949.6	O totale
Ca 2p	1	347.2	3203.7	CaCO ₃
	2	350.8	1572.2	CaCO ₃
	3	355.2	128.5	Shake-Up
	4	358.8	90.7	Shake-Up
N 1s	1	399.1	409.2	C-N
	2	400.2	1436.6	
S 2p	1	163.1	316.8	Na ₂ S ₂ O ₃
	2	164.1	159.3	
	3	168.5	110.1	
	4	169.5	55.1	
Na 1s	1	1071.6	659.8	Na ₂ S ₂ O ₃ / Na ₂ CO ₃
Fe 2p	1	711.0	376.9	Fe ₂ O ₃
	2	719.1	101.8	
	3	724.4	188.4	

Tabella 25 - Rapporti Fe/Ca e CO₃²⁻/Ca per il campione #4 e per il riferimento

CAMPIONI	R	At%	At%	R	R(1/R)*
	Fe / Ca	C-C	CO _x -CN _x	CO ₃ ²⁻ / Ca	∑O _x /O1s tot
Campione non trattato (riferimento)	0.39	66.1	14.5	1.0	0.9≤1≤1.1**
Campione #4 (chelante: Glutazione)	0.13	60.2	26.6	1.3	1.20 (0.83)

* Contributo all'area O1s di tutte le specie ossidate tenendo in conto i rapporti stechiometrici/Area totale O1s;

**Accuratezza XPS+/- 10%

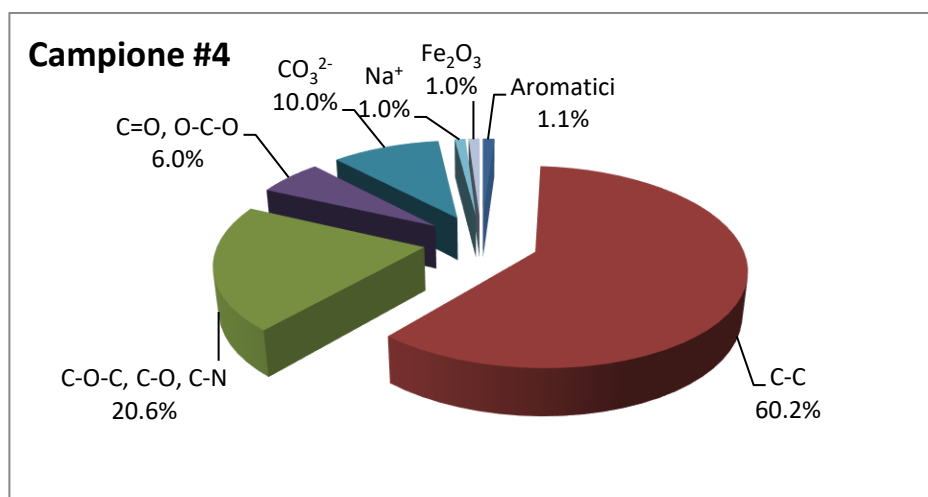


Figura 111. Percentuali relative alla composizione del campione #4 trattato con glutazione

L'analisi SEM del campione di travertino #4, trattato con glutazione (immagini ottenute raccogliendo elettroni retrodiffusi e secondari), ha evidenziato evidente degrado ed erosione con rugosità nei cristalli nel carbonato superficiale. Più in profondità è ben visibile, invece, la forma geometrica dei cristalli. La rugosità è indicativa del degrado della roccia carbonatica ed è più evidente nell'ingrandimento dell'immagine a destra della Figura 112.

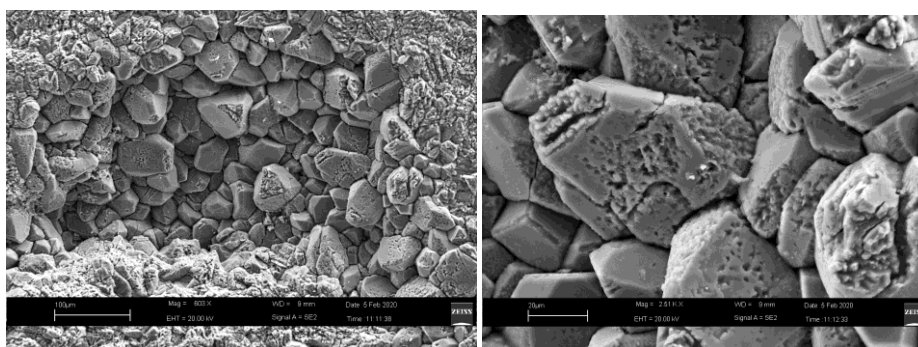


Figura 112. Evidente erosione e rugosità della superficie a diversi ingrandimenti

Nella Figura 113 seguente, in cui a sinistra si osserva un ingrandimento della prima, è ben visibile una cavità carbonatica; nelle aree cerchiata in rosso e in blu si può anche notare la presenza di residui organici, probabilmente del gel applicato. Questi residui e filamenti testimoniano l'aumento significativo di specie del carbonio osservato con l'analisi XPS.

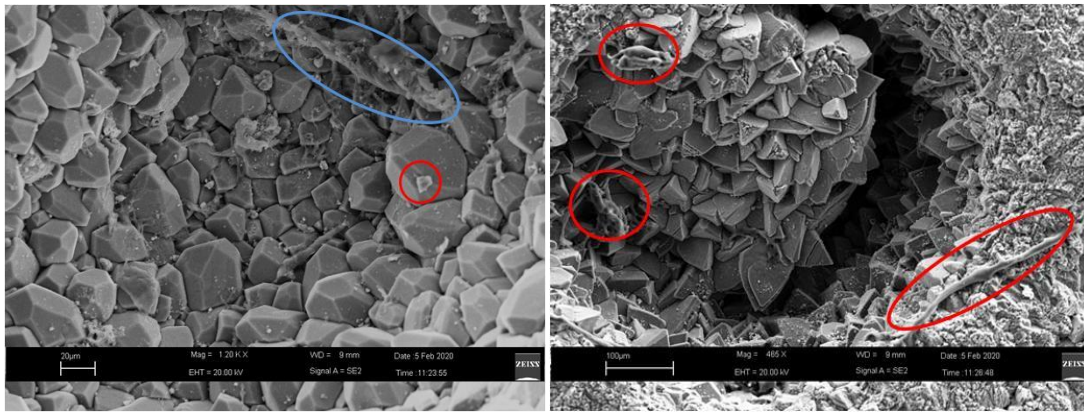


Figura 113. Cavità nel carbonato di calcio con residui di gel intrappolati

Gli spettri EDS del campione di travertino trattato con glutazione, sono stati ottenuti analizzando alcuni specifici punti indicati nella immagine di Figura 114.

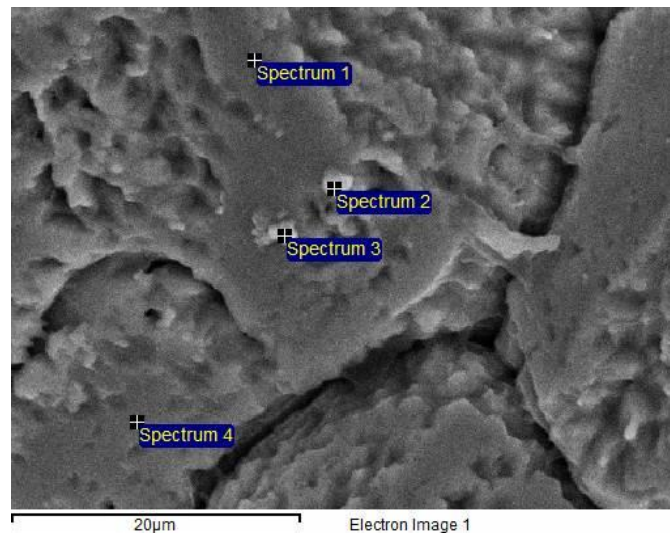


Figura 114. Punti di acquisizione degli spettri EDS sul campione #4

Dagli spettri relativi ai punti 1 e 4 (Figura 115), si evince la presenza di carbonio, calcio e ossigeno. Differenze nella superficie analizzata emergono analizzando i punti 2 e 3, dove sono presenti dei granuli bianchi attribuibili a ossido di ferro, come confermato dagli spettri 2 e 3. La sovrapposizione delle immagini SEM con i risultati dell'analisi EDS conferma la non completa rimozione dalla superficie del ferro, che potrebbe, oltre ad essere presente nel gel non rimosso, aver sostituito il calcio in alcuni punti del reticolo, rendendo non praticabile la chelazione ed il conseguente allontanamento.

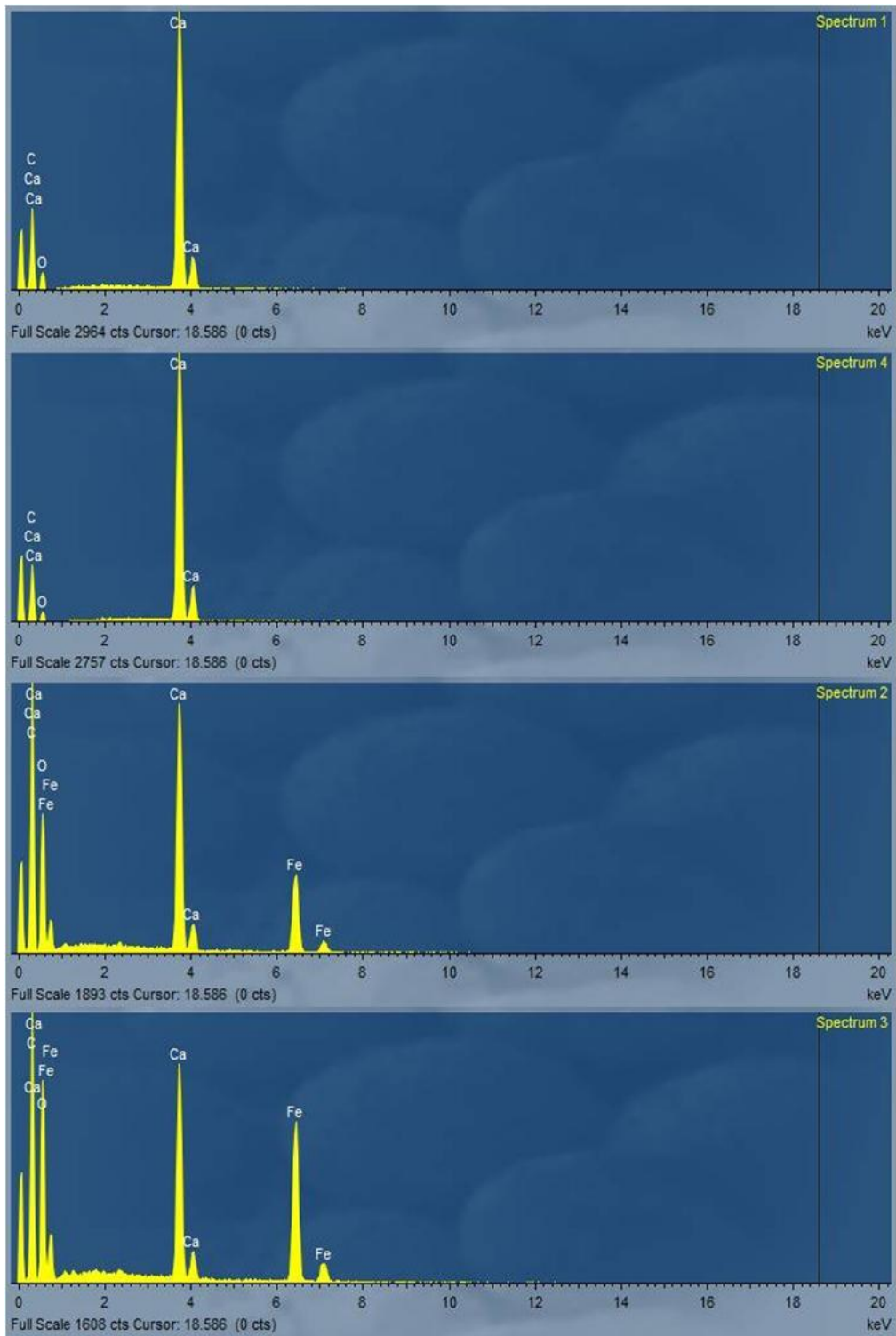


Figura 115. Spettri EDS in 4 punti del campione di travertino #4

3.4.6 ANALISI XPS SU CAMPIONE DI TRAVERTINO MACCHIATO, TRATTATO CON DEFERIPRONE

Per quanto riguarda la valutazione dell'efficienza di rimozione di macchie di ferro con questo chelante, le analisi XPS hanno riguardato un campione di travertino (campione #5) macchiato e trattato con deferiprone allo 0.2% in gel di Alginato di sodio/PVA. In Figura 116 è illustrato lo spettro "wide" del campione dopo trattamento. In Tabella 26 sono mostrati i picchi ricavati mediante "curve fitting" con le relative assegnazioni. Nel grafico a torta della Figura 117 è illustrata la distribuzione percentuale relativa ai vari gruppi identificati, seguendo la sequenza illustrata nei campioni analizzati in precedenza.

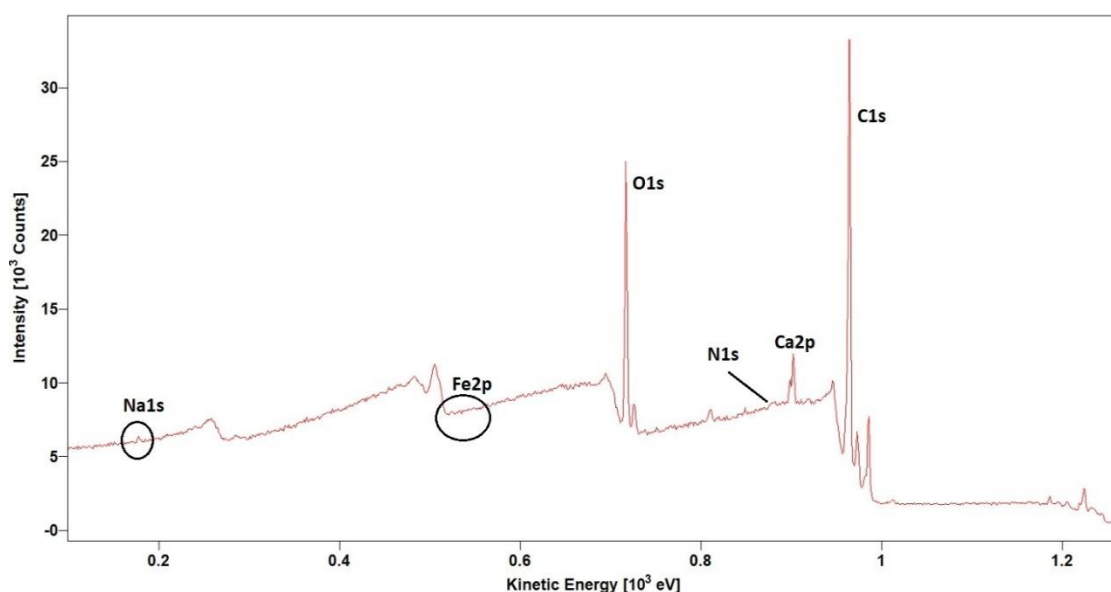


Figura 116. Spettro "wide" del campione #4 trattato con deferiprone

Tabella 26 - Picchi relativi alle varie regioni esaminate e relative attribuzioni

Regione	Picco	BE corretta (eV± 0.2 eV)	Area normalizzata	Assegnazione
C 1s	1	285.0	31122.8	C-C alifatico
	2	286.5	9545.1	C-O-C, C-O, C-N
	3	288.3	3251.5	C=O, O-C-O
	4	289.8	1819.3	CO ₃ ²⁻
O 1s	1	532.6	14322.2	O totale
Fe 2p	1	711.0	71.9	Fe ₂ O ₃
	2	719.9	19.4	
	3	724.4	40.0	
Na 1s	1	1071.9	818.7	Na ₂ CO ₃
Ca 2p	1	347.5	1491.9	CaCO ₃
	2	351.0	745.9	CaCO ₃
	3	355.8	44.8	Shake up
	4	359.3	44.8	Shake up
N 1s	1	400.4	228.9	C-N

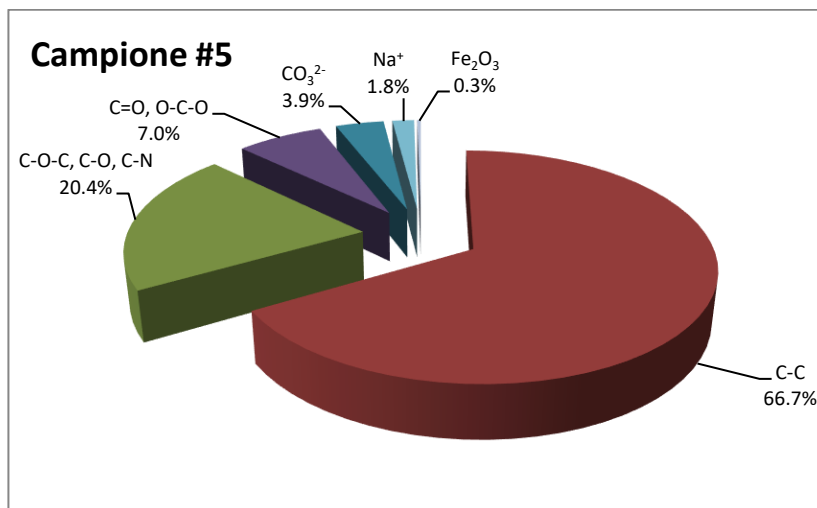


Figura 117. Percentuali relative alla composizione del provino di travertino (campione #5) trattato con deferiprone

In Tabella 27 sono riportati i rapporti Fe/Ca e CO₃²⁻/Ca per il campione #5 trattato con deferiprone.

Tabella 27 - Rapporti Fe/Ca e (CO₃)²⁻ / Ca per i vari campioni di travertino analizzati

	R	At%	At%	R	R(1/R)*
	Fe/Ca	C-C	CO _x -CN _x	CO ₃ ²⁻ /Ca	∑Ox/O1s tot
Campione #5 (chelante: Deferiprone)	0.06	66.7	27.4	0.8	1.08 (0.92)

* Contributo all'area O1s di tutte le specie ossidate tenendo in conto i rapporti stechiometrici/Area totale O1s; **Accuratezza XPS+/- 10%

I risultati mostrati in Tabella 27, se confrontati relativamente al rapporto Fe/Ca con quelli ottenuti per altri campioni trattati ed esaminati in precedenza, indicano che i risultati migliori nella rimozione del ferro si sono ottenuti con il trattamento con deferiprone. È importante sottolineare come il difetto di ossigeno, dopo il trattamento (colonna 1/R), possa essere attribuita ad un errore di assegnazione delle specie ossigenate. La componente carbonatica (CO₃)²⁻ nella regione C1s non è perfettamente bilanciata dal calcio (area Ca2p sempre in difetto). Anche in questo caso il difetto di calcio potrebbe dipendere da un possibile effetto di chelazione da parte del gel. La quantità relativa percentuale delle specie carboniose (C-C, C-Ox e C-N) risulta molto alta dopo il trattamento, il che suggerisce una possibile adesione del gel alla matrice carbonatica del travertino e quindi a una sua non completa rimozione. Le immagini SEM, infatti, riportate in Figura 118 ed effettuate sul campione dopo rimozione del gel, mostrano fibre

e residui di gel ancora presenti sulla superficie. Su queste porzioni filamentose si possono notare anche residui attribuibili al ferro (aree più bianche). Dall'analisi EDS in 5 punti della superficie del travertino (Figura 119) si può notare come a seconda dei punti in cui viene registrato lo spettro si possono osservare concentrazioni di ferro più o meno evidenti adese a fibre organiche di supporto.

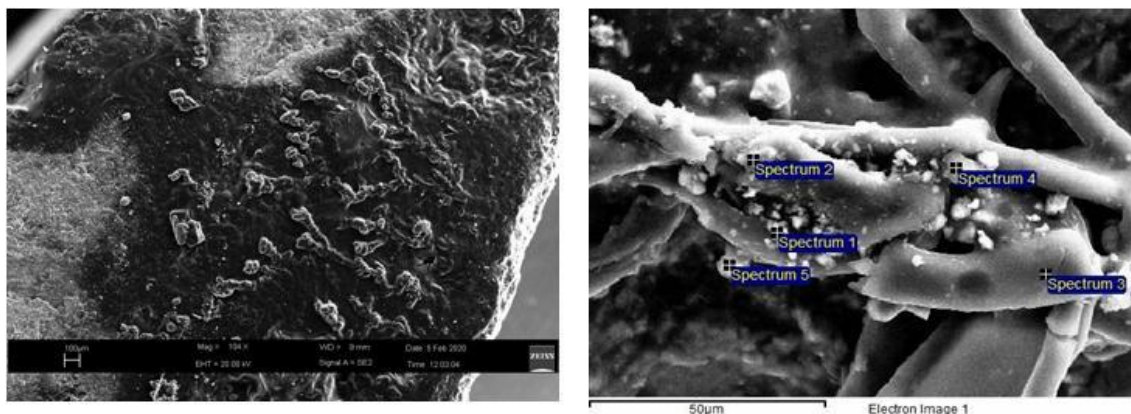


Figura 118. Immagini di residui di gel sulla superficie del travertino campione #5

Dall'analisi di tutti i risultati ottenuti è evidente che le migliori percentuali di rimozione del ferro si ottengono con il glutatione e, in particolare, con il deferiprone. Risultati attesi, in base alle indicazioni bibliografiche, non si sono ottenuti nel caso del travertino con il tioglicolato di ammonio, se non aumentando la sua concentrazione nel gel. Ad ogni modo, per le successive prove su marmo di Carrara, la sperimentazione con questo chelante, vista anche la sua tossicità, non è stata effettuata. Dalle indagini SEM e EDS è evidente che, in relazione alla porosità del travertino, la deposizione degli ossidi di ferro, per effetto della corrosione, avviene anche in profondità e non semplicemente sugli strati superficiali. Questo provoca ritenzione di residui di gel nelle cavità del campione e una non completa eliminazione del ferro.

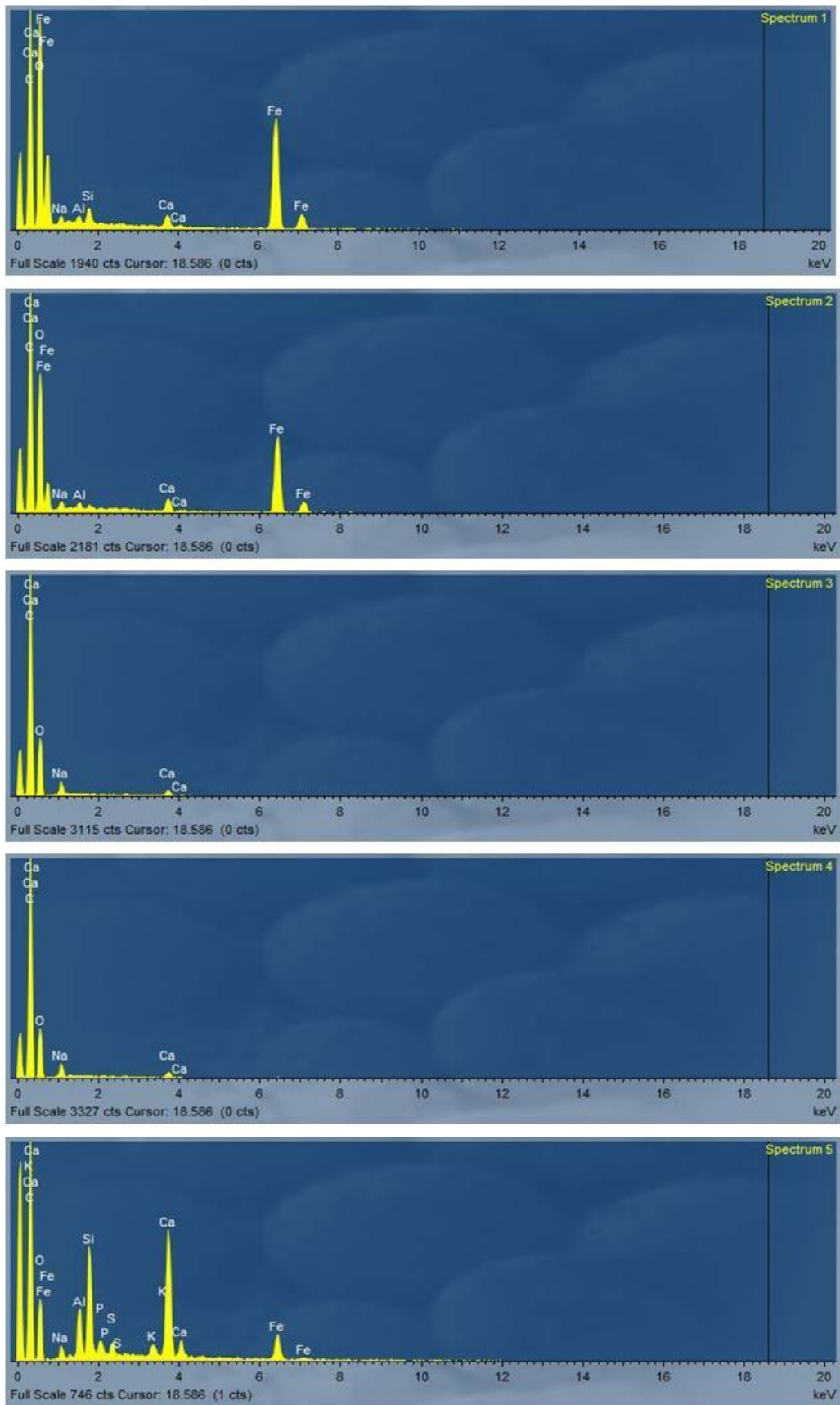


Figura 119. Spettri EDS in 5 punti del campione di travertino #5

3.4.7 ANALISI XPS SU CAMPIONE DI MARMO DI CARRARA MACCHIATO, NON TRATTATO CON CHELANTI

In relazione ai risultati ottenuti sui campioni di travertino, dove soprattutto le indagini di microscopia elettronica SEM avevano messo in evidenza una ritenzione e intrappolamento di residui di gel nella struttura porosa del materiale, su campioni di marmo di Carrara è stata effettuata una prova preliminare su un provino non macchiato su cui è stato applicato semplicemente un gel costituito da PVA al 5% (30 ml) + Alginato di Sodio 2% (30 ml) reticolato con l'aggiunta di CaCl_2 (5%). Questa prova preliminare ha avuto lo scopo di verificare il rilascio di materiale organico da parte del gel sulla superficie del marmo, che però ha una porosità inferiore a quella del travertino.

Il gel è stato applicato per un periodo di tempo di 20 ore. Durante la sua applicazione il gel è stato ricoperto da una pellicola di polietilene per evitarne la disidratazione. Questo accorgimento ha consentito di eliminare l'aggiunta del glicerolo semplificando la formulazione del gel stesso. Il campione di marmo è stato poi analizzato mediante spettroscopia XPS prima e dopo l'applicazione del gel. In Figura 120 sono mostrati gli spettri wide e le regioni di interesse relative al campione di marmo di Carrara non macchiato pre e post applicazione del gel.

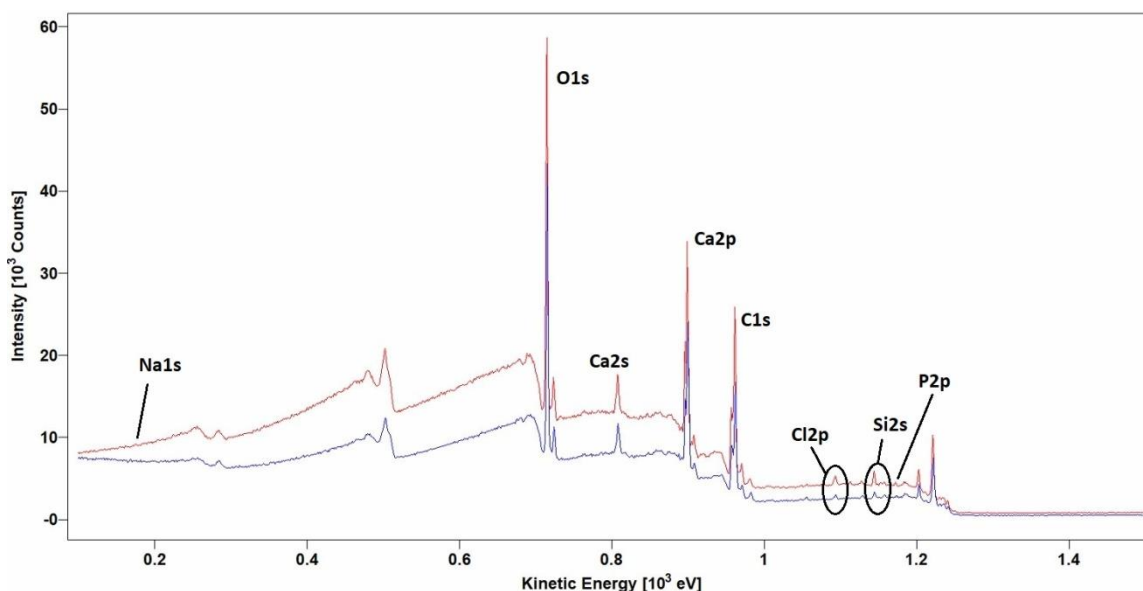


Figura 120. Confronto tra spettri wide (FRR) del marmo di Carrara non macchiato pre (blu) e post (rosso) applicazione del gel

Le regioni di interesse dello spettro sono state acquisite poi a maggiore risoluzione e risolte nei picchi componenti, tramite il programma di curve-fitting “Googly”. Nelle Tabelle che seguono sono riportati i risultati dei curve fitting, le “Binding Energy” dei

vari picchi individuati (corrette per il fattore di caricamento S), le relative assegnazioni e le aree normalizzate, tramite i fattori di sensibilità specifici di ogni orbitale. Tutto ciò è stato utile per ricavare la composizione atomica percentuale (At%) riportata poi nei grafici a torta.

La prima regione dettagliata analizzata è stata quella del carbonio 1s, dalla quale è possibile individuare il segnale del legame carbonio-carbonio. Questo funge da riferimento interno e permette di correggere tutti i valori delle BE in base al caricamento superficiale S. Il picco del C1s alifatico cade, teoricamente, a 285.0 eV: dalla differenza tra il valore teorico e quello sperimentale, è possibile calcolare il fattore di caricamento e sottrarlo a tutti i valori di BE dei segnali acquisiti. In Figura 121 è mostrato il curve fitting delle regioni C1s pre e post applicazione del gel, mentre nella Tabella 28 sono mostrate le assegnazioni relative ai vari picchi.

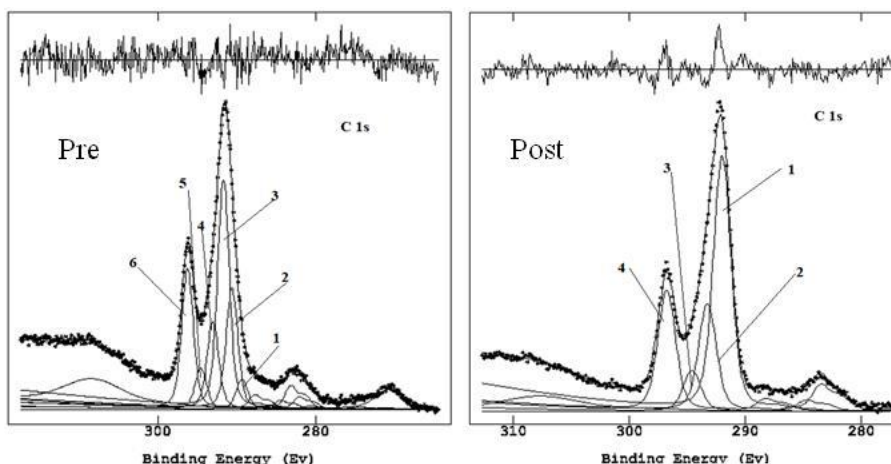


Figura 121. Curve fitting delle regioni C1s pre e post applicazione del gel

Tabella 28 - BE corretta (eV), aree normalizzate e assegnazione dei picchi della regione C1s

Regione	Picco	Pre-trattamento		Post-trattamento		Assegnazioni
		BE corretta	Area normalizzata	BE corretta	Area normalizzata	
C 1s	1	281.5	395.47	-	-	SiC e altre specie contaminanti
	2	283.9	2175.9	-	-	C aromatico
	3	285.0	16620.0	285.0	30858.6	C-C alifatico
	4	286.3	6376.8	286.3	12985.4	C-O, C-N
	5	287.8	2975.7	287.6	4948.0	C=O, O-C-O
	6	289.5	10195.7	289.8	14590.7	CO ₃ ²⁻

Per quanto riguarda le attribuzioni dei picchi relativi alla Tabella 28:

- *picco 1*: riconducibile alla presenza di SiC e contaminanti di tipo carburico, aromatico/grafitico, policiclico;
- *picco 2*: attribuibile a Idrocarburi Policiclici Aromatici (IPA), derivanti da contaminazione esterna;
- *picco 3*: picco del carbonio alifatico C-C, utilizzato per la calibrazione;
- *picco 4*: segnale relativo al legame etere C-O;
- *picchi 5 e 4* segnale relativo a specie contenenti gruppi C=O e O-C-O;
- *picco 6*: segnale attribuibile al carbonato, ossia al legame carbonio-carbonio della matrice carbonatica.

Come è possibile notare dal confronto dei dati relativi al carbonio 1s, l'applicazione del gel ha comportato la scomparsa dei primi due segnali attribuibili a sostanze organiche contaminanti presenti sulla superficie. A dimostrazione di questo, è possibile notare anche un aumento dei segnali relativi alla regione del silicio, alluminio e magnesio (alte KE) nel campione post applicazione, segno evidente del fatto che una parte della patina carboniosa che ricopriva la superficie del campione è stata parzialmente rimossa dal gel. In Figura 122 è illustrato il confronto relativo alle regioni dettagliate del calcio 2p pre e post trattamento. Nella Tabella 29 sono illustrati i picchi individuati, con le relative aree e assegnazioni.

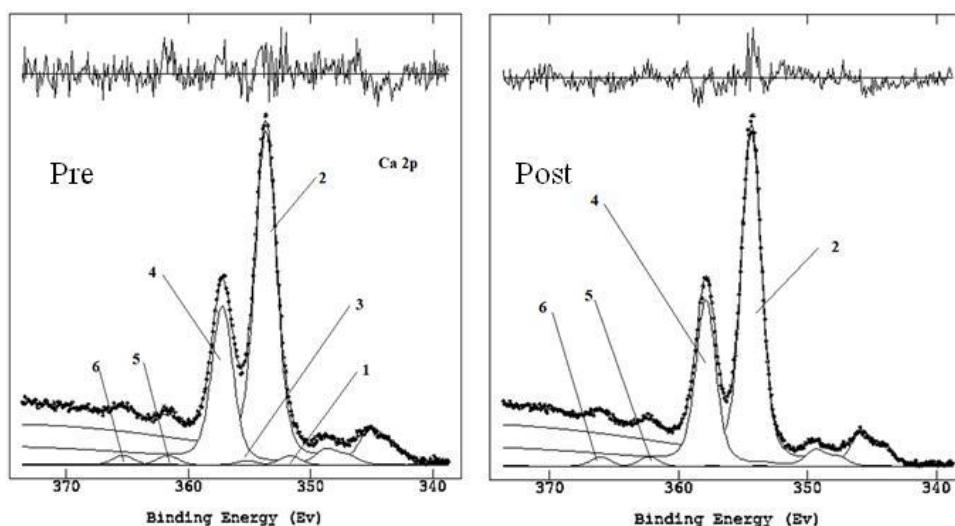


Figura 122. Curve-fitting delle regioni Ca2p pre e post applicazione del gel

Tabella 29 - BE corretta (eV), aree normalizzate e assegnazione per la regione Ca2p

Regione	Picco	Pre-trattamento		Post-trattamento		Assegnazioni
		BE corretta	Area normalizzata	BE corretta	Area normalizzata	
Ca 2p	1	345.0	278.7	-	-	Ca
	2	347.0	9436.6	347.3	12547.5	CaCO ₃
	5	355.0	191.8	355.3	251.2	shake up
	6	358.7	191.8	355.3	251.2	shake up

- *picchi 1 e 3*: doppietto relativo al calcio, stato di ossidazione zero (Ca);
- *picchi 2 e 4*: doppietto del calcio relativo al carbonato di calcio;
- *picchi 5 e 6*: shake-up del doppietto del calcio carbonato.

Il rapporto delle aree normalizzate del C1s carbonato e del calcio totale, nel pre e nel post trattamento, è uguale circa all'unità (come nello standard CaCO₃) nei limiti dell'accuratezza prevista dalla analisi XPS ($\pm 10\%$), a dimostrazione del fatto che il gel depositato sulla superficie non ha intaccato la matrice carbonatica del marmo. Questo dimostra anche che il CaCl₂, usato nella preparazione del gel, non ha contaminato la superficie lasciando invariato il rapporto calcio/carbonato nel campione. In Figura 123 è illustrato il confronto tra le regioni dettagliate relative all'ossigeno 1s pre e post applicazione del gel. In Tabella 30 sono riportate la BE corretta per il picco O1s e la relativa area normalizzata.

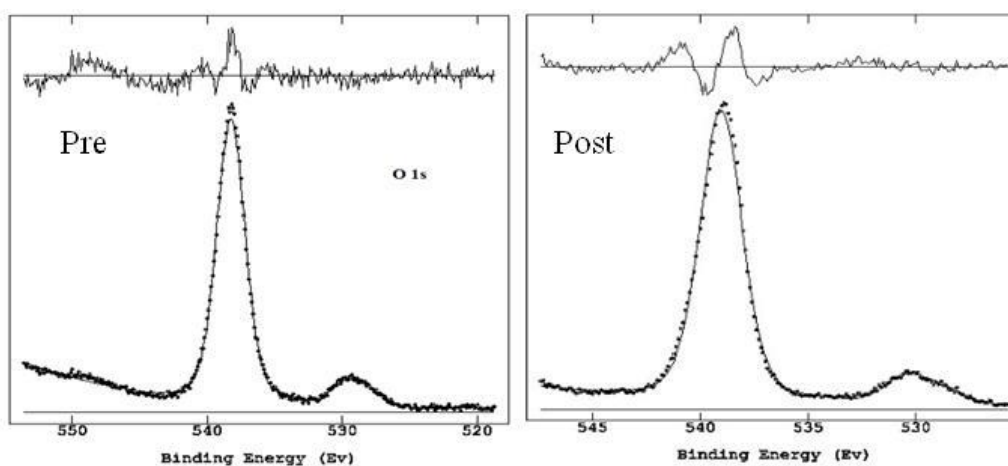


Figura 123. Curve fitting relativo all'ossigeno 1s pre e post applicazione del gel.

Tabella 30 - BE corretta (eV) e Area normalizzata per il picco O1s

Regione	Picco	Pre-trattamento		Post-trattamento	
		BE corretta	Area normalizzata	BE corretta	Area normalizzata
O 1s	1	531.3	48233.6	532.0	60911.2

La regione dell'ossigeno comprende tutti i contributi non risolti dei composti ossigenati. L'area totale viene utilizzata per verificare il bilancio di massa totale e quindi la bontà della elaborazione. Le "binding energies", le aree normalizzate e le assegnazioni relative a vari picchi individuati nelle altre regioni analizzate sono riportate nella Tabella 31. Nella Figura 124 è mostrata la composizione percentuale relativa al campione pre e post trattamento da cui è possibile confermare la similarità delle due analisi e il non rilascio di componenti organiche sul provino di marmo.

Dopo questi risultati ottenuto, il gel è stato utilizzato come supporto dei due chelanti, glutatione e deferiprone, per il trattamento di macchie di corrosione su provini di marmo di Carrara.

Tabella 31 - BE corretta, Area normalizzata e assegnazione altri elementi

REGIONE pre	REGIONE post	BE pre-corretta	BE post-corretta	Area pre-normalizzata	Area post-normalizzata	ASSEGNAZIONI
Si(2p)	Si(2p)	102.0	102.3	1023.03	2570.16	SiC, SiO
Al(2s)	Al(2s)	118.6	119.0	436.35	1057.78	MgAl ₂ O ₄
Mg (2s)	Mg (2s)	88.9	89.5	544.78	1056.67	MgAl ₂ O ₄ , Mg(OH) ₂
Na(1s)	Na(1s)	1071.7	1072.0	756.35	382.90	NaCl, Na ₂ B ₄ O ₇
-	P (2p)	-	133.2	-	230.41	NaH ₂ PO ₄
Cl (2p)	-	198.1	-	118.13	-	NaCl
B1(s)	-	191.5	-	1436.97	-	Na ₂ B ₄ O ₇

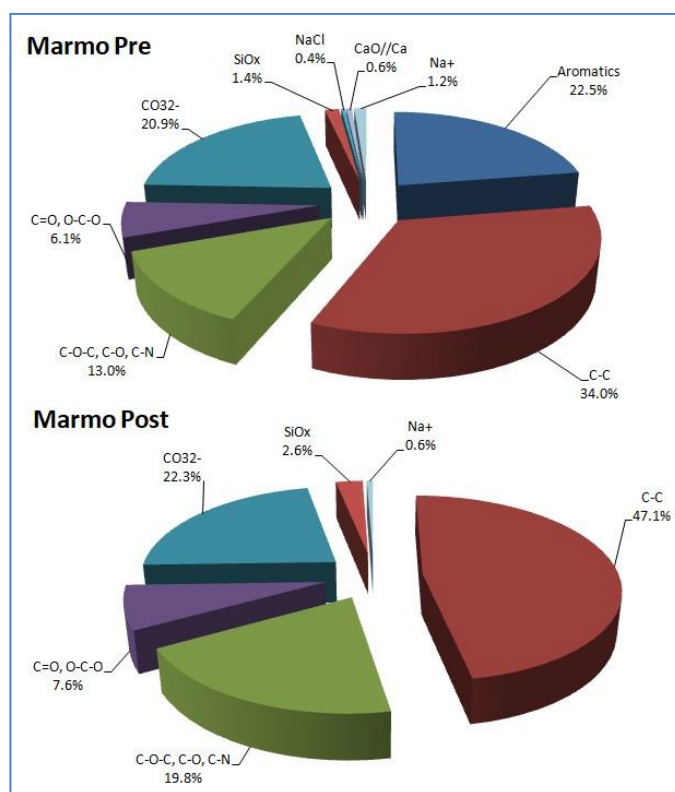


Figura 124. At% marmo di Carrara prima e dopo l'applicazione del gel

3.4.8 ANALISI XPS SU CAMPIONE DI MARMO DI CARRARA MACCHIATO, TRATTATO CON GLUTATIONE

Dopo la prova preliminare atta a verificare eventuali rilasci di residui di gel sulla superficie dei campioni da analizzare, la fase successiva ha riguardato la verifica della efficienza dei due chelanti, glutatione e deferiprone supportati su gel, per la eliminazione di macchie di ferro su provini di marmo di Carrara. La concentrazione dei chelanti nel gel è stata mantenuta allo 0.2%.

La prima esperienza è stata effettuata considerando il gel contenente glutatione. Il provino di marmo è stato sottoposto ad analisi XPS prima del trattamento. Il gel, contenente glutatione, è stato spalmato sulla superficie del marmo e lasciato agire per 20 ore, ricoperto da una pellicola di polietilene per impedirne la disidratazione. Dopo rimozione del gel, il campione è stato analizzato. La sequenza delle analisi XPS è la stessa descritta in precedenza per il campione di marmo non macchiato. In Figura 125 sono mostrati gli spettri wide del campione di marmo di Carrara “macchiato” pre (blu) e post (rosso) trattamento con glutatione. Dall'analisi degli spettri si può notare che

rispetto al provino di marmo non macchiato, oltre al segnale atteso del ferro, si notano anche segnali di bassa intensità relativi a zolfo e azoto.

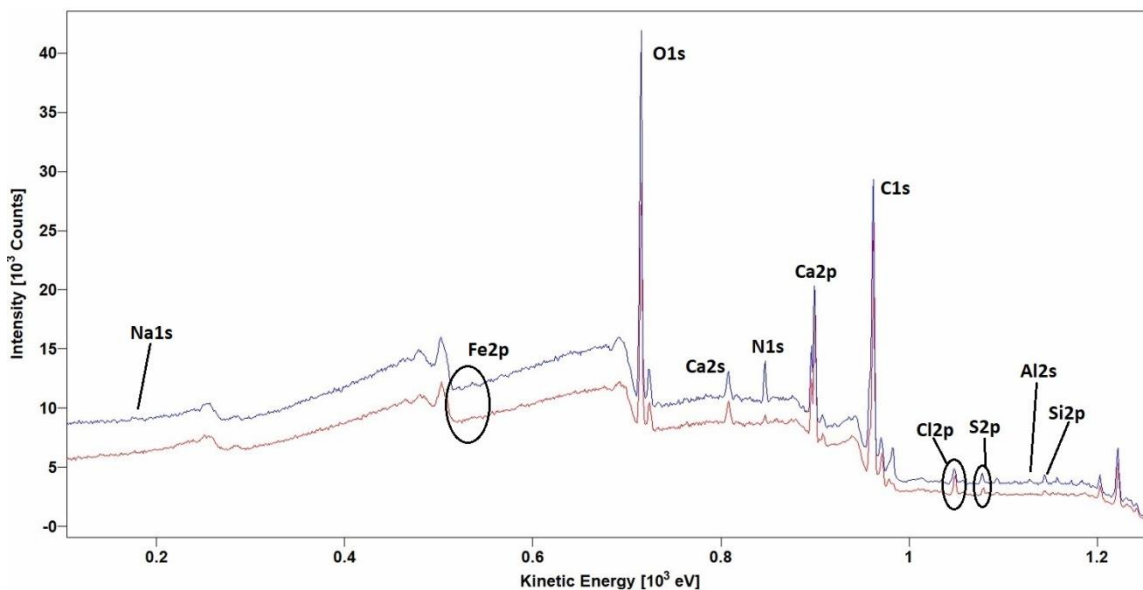


Figura 125. Spettri XPS wide di provino di marmo di Carrara “macchiato” pre (blu) e post (rosso) trattamento con glutazione

Di seguito vengono riportate le regioni dettagliate più importanti (Figura 126, 127, 128 e 129), tra queste anche la regione Fe2p, pre e post trattamento. I risultati dei *curve-fitting* sono riportati nelle rispettive Tabelle 32, 33, 34 e 35 e riepilogati nei grafici a torta come At%,

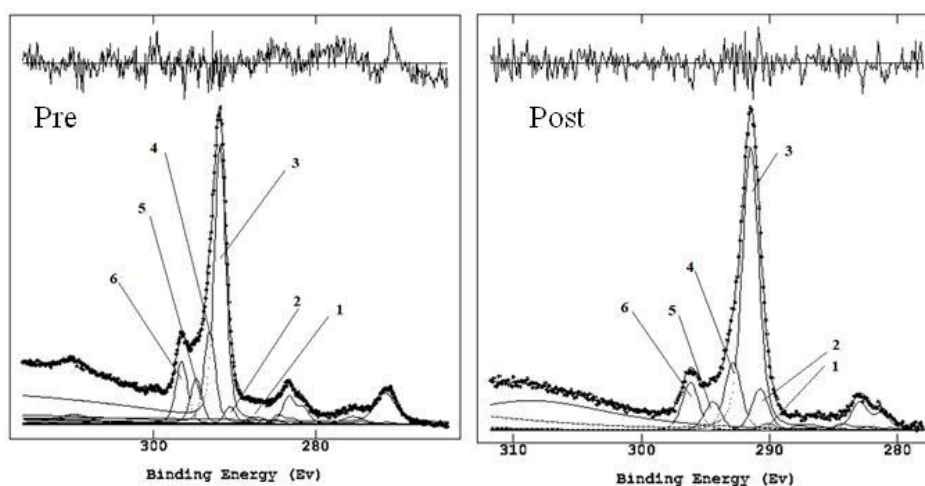


Figura 126. Dettagliate del C1s pre e post trattamento con glutazione

Tabella 32 - BE corretta, Area normalizzata e assegnazioni per la regione C1s

Regione	Picco	Pre trattamento		Post trattamento		Assegnazioni
		BE corretta	Area normalizzata	BE corretta	Area normalizzata	
C 1s	1	281.5	395.5	283.6	814.44	SiC e altri contaminanti
	2	283.8	2270.7	284.4	5064.2	C aromatico
	3	285.0	36330.9	285.0	34303.9	C-C alifatico
	4	286.3	12096.6	286.4	8283.4	C-O, C-N
	5	287.9	5986.4	287.9	3475.9	C=O, O-C-O
	6	289.7	8177.7	289.7	5842.4	CO ₃

- *picco 1*: riconducibile alla presenza di SiC e contaminanti di tipo carburico, aromatico/grafitico, policiclico;
- *picco 2*: attribuibile a carburi o a Idrocarburi Policiclici Aromatici (IPA), derivanti da contaminazione esterna;
- *picco 3*: picco del carbonio alifatico C-C, utilizzato per la calibrazione;
- *picco 4*: segnale relativo al legame etere C-O o C-N.
- *picco 5/4* segnali relativi l specie C-O e C-O-C;
- *picco 6*: segnale attribuibile legame C-C nel carbonato.

Dalla Tabella 32 è possibile notare come le aree dei primi due picchi derivanti da contaminazione carboniosa nel post trattamento siano aumentati. Questo può essere attribuito al fatto che il chelante contenuto nel gel lega il ferro che si trova sulla superficie del campione: i contaminanti carboniosi depositati sullo strato di ossido di ferro non vengono adsorbiti dal gel, per cui nel campione post trattamento la loro area percentuale risulta maggiore. L'analisi dettagliata della regione del calcio Ca2p è illustrata in Figura 127.

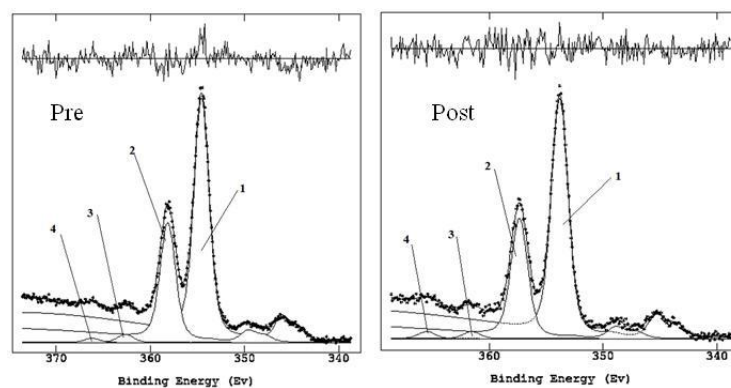


Figura 127.. Dettagliate del calcio 2p pre e post trattamento con Glutazione

Tabella 33 - BE corretta, Area normalizzata e assegnazioni per la regione Ca2p

Regione	Picco	Pre trattamento		Post trattamento		Assegnazioni
		BE corretta	Area normalizzata	BE corretta	Area normalizzata	
Ca 2p	1	347.4	6659.3	347.3	5628.4	CaCO ₃
	3	355.4	354.6	355.0	112.6	shake up
	4	358.9	89.2	359.0	112.6	shake up

- *picchi 1 e 2*: doppietto del calcio relativo al carbonato di calcio;
- *picchi 3 e 4*: shake-up del doppietto del calcio carbonato.

Dai risultati ottenuti, si riscontra che il rapporto tra le aree del carbonato e del calcio è all'incirca (1:1) sia nell'analisi pre che in quella post trattamento, nei limiti di accuratezza della tecnica. Il trattamento pertanto non incide sulla matrice carbonatica. In Figura 128 sono illustrate le dettagliate ottenute mediante "curve fitting" della regione O1s. In Tabella 34 i valori della BE corretta e l'Area normalizzata. La regione dell'ossigeno comprende tutti i contributi non risolti dei composti ossigenati. La sua area totale viene utilizzata per verificare il bilancio di massa totale e quindi la bontà dei fits effettuati.

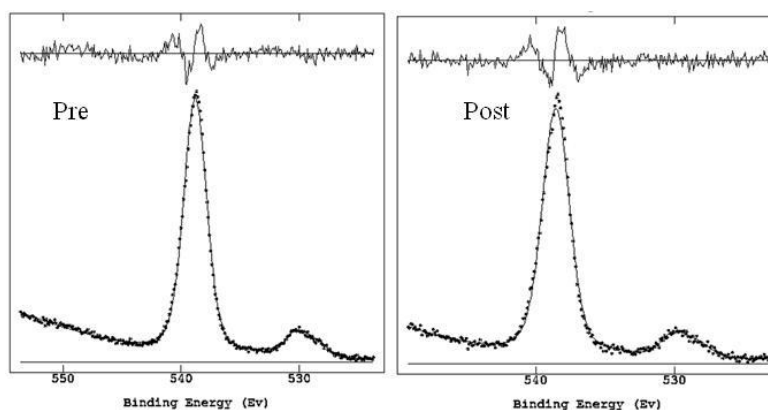


Figura 128. Dettagliate dell'ossigeno 1s pre e post trattamento con Glutazione.

Tabella 34 - BE corretta e Area normalizzata per la regione O1s

Regione	Picco	Pre trattamento		Post trattamento	
		BE corretta	Area normalizzata	BE corretta	Area normalizzata
O 1s	1	532.0	40298.8	532.1	27258.3

Nella Figura 129 è mostrato il confronto delle dettagliate del ferro 2p pre e post trattamento con glutazione. Nella Tabella 35 sono mostrate le BE corrette, l'area normalizzata e le assegnazioni per la regione Fe2p.

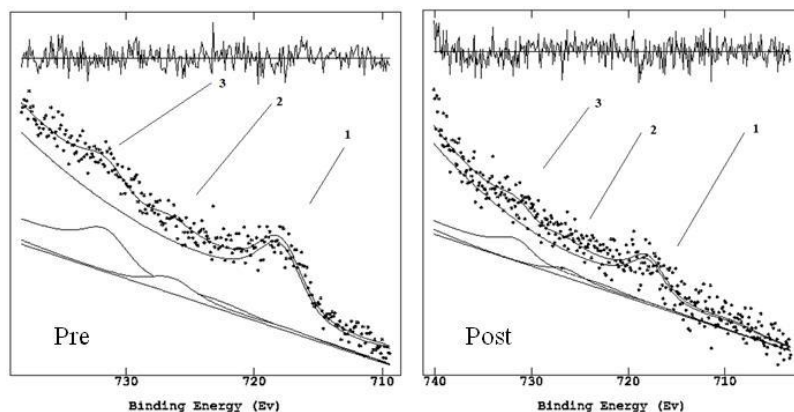


Figura 129. Dettagliate del ferro 2p pre e post trattamento con glutazione

Dai dati riportati in letteratura è stato possibile confrontare le caratteristiche spettrali dei composti contenenti ferro in vari stati di ossidazione. Senza ombra di dubbio le caratteristiche spettrali sono quelle del Fe(III), come ulteriormente verificato dall'analisi di composti standard del tipo Fe₂O₃. L'unica differenza è che vista la bassa intensità dei segnali nel caso in esame, il *multiplet splitting* non si mostra come sdoppiamento ma come allargamento dei doppietti 2p_{3/2} e 2p_{1/2}. Pertanto, la regione Fe2p viene fittata bene con due picchi principali e uno satellite di shake up.

Tabella 35 - BE corretta, area normalizzata e assegnazioni per la regione Fe2p

Regione	Picco	Pre trattamento		Post trattamento		Assegnazioni
		BE corretta	Area normalizzata	BE corretta	Area normalizzata	
Fe 2p	1 (2p _{3/2})	710.7	260.8	711.3	131.7	Fe ₂ O ₃ ,(Mg/Fe)SiO ₃ , (Fe ₃ Al ₂ (SiO ₄) ₃)
	2	718.3	70.4	720.0	35.6	shake up
	3 (2p _{1/2})	724.7	130.4	724.7	65.8	Fe ₂ O ₃ ,(Mg/Fe)SiO ₃ , (Fe ₃ Al ₂ (SiO ₄) ₃)

- *picchi 1 e 3*: doppietto del ferro relativo all'ossido di ferrico e alle specie che il ferro forma con la matrice del marmo;
- *picco 2*: picco satellite *shake up*.

Il bilancio di massa totale richiede di considerare tutte le regioni acquisite per il calcolo della composizione atomica percentuale e per risalire ai composti presenti sulla superficie

del marmo, prima e dopo il trattamento (Tabella 36). In Figura 130 è mostrata la composizione atomica percentuale relativa alle varie specie identificate .

Tabella 36 - BE corretta, area normalizzata e assegnazione altri elementi

REGIONE pre	REGIONE post	BE pre corretta	BE post corretta	Area pre normalizzata	Area post normalizzata	ASSEGNAZIONI
Na (1s)	-	1071.9	-	1067.61	-	NaCl
Mg (2s)	Mg (2s)	89.2	89.1	853.56	216.5	MgAl ₂ O ₄ , Mg elementare
Si (2p)	Si (2p)	102.3	102.5	989.53	549.5	SiOx
Al (2s)	Al (2s)	119.2	119.0	571.12	236.8	MgAl ₂ O ₄ , AlPO ₄
P (2p)	-	133.2	-	254.31	-	AlPO ₄
S (2p)	S (2p)	169.0	168.3	788.50	420.4	SO ₄ ²⁻
Cl (2p)	Cl (2p)	198.3	198.1	1044.04	1261.1	NaCl
N (1s)	N (1s)	399.9	400.0	4670	948.4	C-N

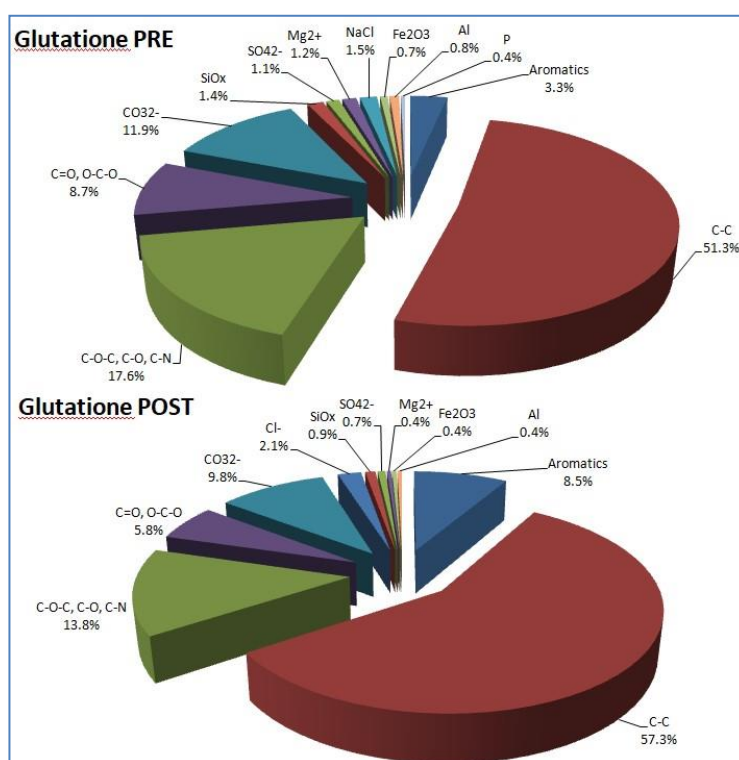


Figura 130. (a) At% marmo pre trattamento; b) At% marmo post trattamento con glutathione

Dai risultati dell'analisi XPS e dal calcolo delle aree normalizzate si evidenzia una riduzione percentuale di ferro nel marmo trattato pari a ca. il 49% dopo una prima applicazione del gel e una riduzione dell'At% da 0.7 a 0.4. Come è possibile notare anche visivamente dalla Figura 131, in seguito all'applicazione del gel la quantità di ferro diminuisce segno che il glutathione riesce effettivamente ad attraversare la reticolazione del gel e a raggiungere la superficie del marmo, chelando il ferro.

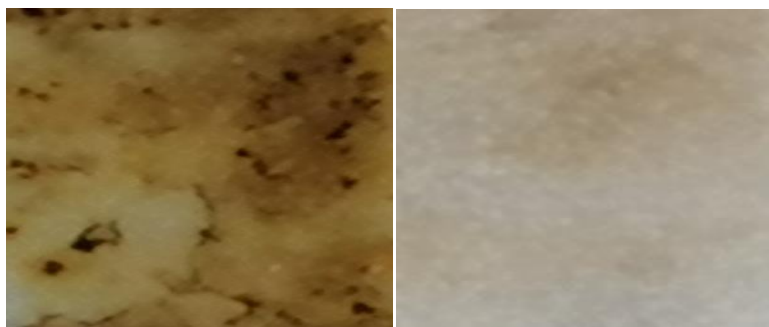


Figura 131. Particolare del provino di marmo di Carrara prima e dopo il trattamento con glutathione

Prove supplementari su un altro campione di marmo macchiato mostrano che la rimozione avviene in modo graduale, probabilmente perchè la quantità di chelante e lo spessore del gel che lo contiene sono insufficienti a rimuovere le macchie di ferro stratificate, con una sola applicazione

3.4.9 ANALISI XPS SU CAMPIONE DI MARMO DI CARRARA MACCHIATO, TRATTATO CON DEFERIPRONE

In Figura 132 sono mostrati gli spettri wide relativi a un campione di marmo di Carrara macchiato pre- e post- trattamento con deferiprone. Nelle Figure 133-136 sono illustrati gli spettri dettagliati relative alle regioni del carbonio C1s, calcio Ca2p, Ossigeno 1s e Ferro Fe2p.

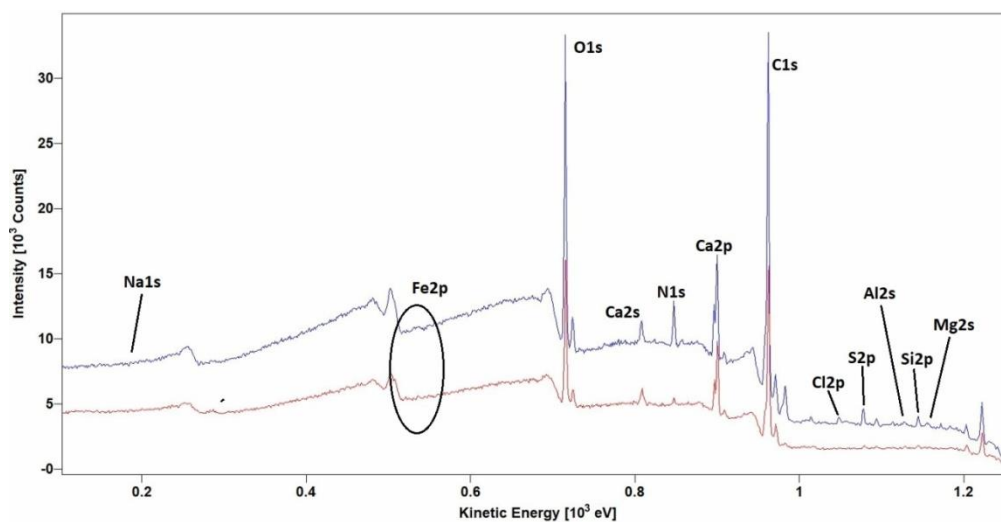


Figura 132. Confronto degli spettri wide pre (blu) e post (rosso) trattamento con deferiprone

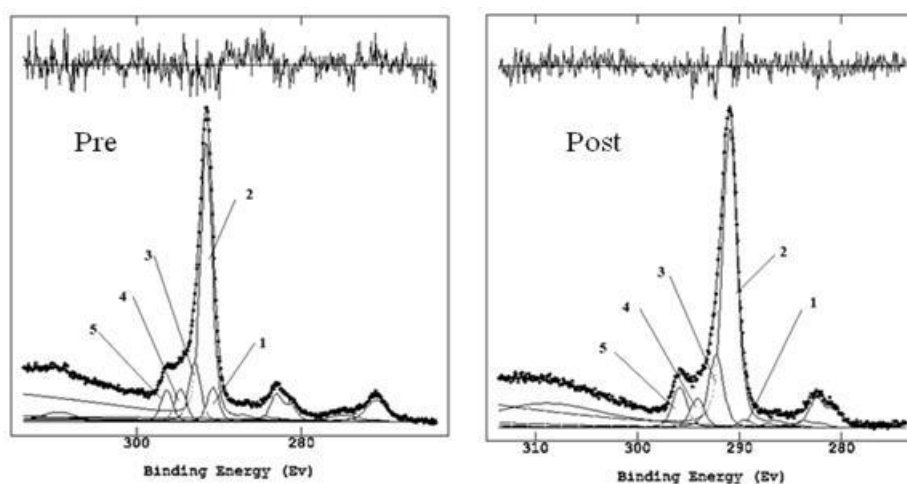


Figura 133. Dettagliate del carbonio 1s pre e post trattamento con deferiprone

Tabella 37 - BE corretta, area normalizzata e assegnazioni per la regione C1s

Regione	Picco	Pre trattamento		Post trattamento		Assegnazioni
		BE corretta	Area normalizzata	BE corretta	Area normalizzata	
C 1s	1	284.2	5081.8	283.5	738.9	C aromatico e altre specie contaminant
	2	285.0	41030.8	285.0	26902.4	C-C
	3	286.4	8777.4	286.4	6588.5	C-O, C-N
	4	288.1	4909.1	288.2	2652.3	C=O, O-C-O
	5	289.8	4705.6	289.9	3657.6	CO ₃ ²⁻

- *picco 1*: segnale attribuibile a carburi o Idrocarburi Policiclici Aromatici (IPA), derivanti da contaminazione esterna;
- *picco 2*: picco del carbonio alifatico C-C, utilizzato come standard interno;

- *picco 3*: segnale relativo al legame etero C-O-C, forse formatosi per ossidazione di idrocarburi contaminanti e composti azotati;
- *picco 4*: segnale relativo a specie quali C=O e O-C-O;
- *picco 5*: segnale attribuibile al legame carbonio-carbonio nel carbonato.

Dalla Tabella 37 è possibile notare come l'applicazione del gel con questo chelante comporta la diminuzione dell'area relativa a specie contenenti carboni alifatici e aromatici derivanti da composti contaminanti presenti sulla superficie del marmo, a conferma della azione svolta dal gel anche nei confronti di queste componenti.

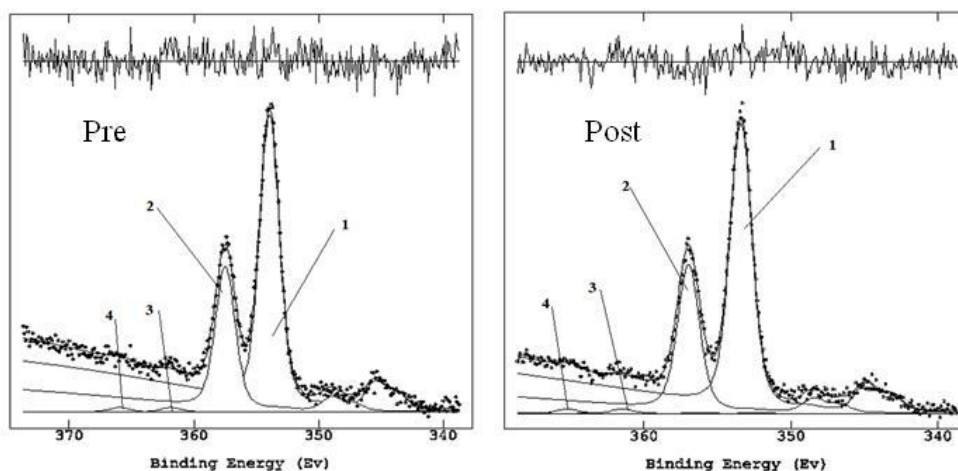


Figura 134. Dettagliate del calcio 2p pre e post trattamento con deferriprone

Tabella 38 -BE corretta, area normalizzata e assegnazioni per la regione Ca2p

Regione	Picco	Pre trattamento		Post trattamento		Assegnazioni
		BE corretta	Area normalizzata	BE corretta	Area normalizzata	
Ca 2p	1	347.4	4024.5	347.4	3292.6	CaCO ₃
	3	355.3	39.76	355.6	33.5	shake up
	4	359.4	39.76	359.2	33.5	shake up

- *picco 1 e picco 2*: doppietto 2p_{3/2} e 2p_{1/2};
- *picco 3 e picco 4*: sono i satelliti shake-up.

Confrontando il rapporto tra carbonato e calcio (1:1) nel pre e nel post non sembrano risultare differenze nei limiti di accuratezza previsti.

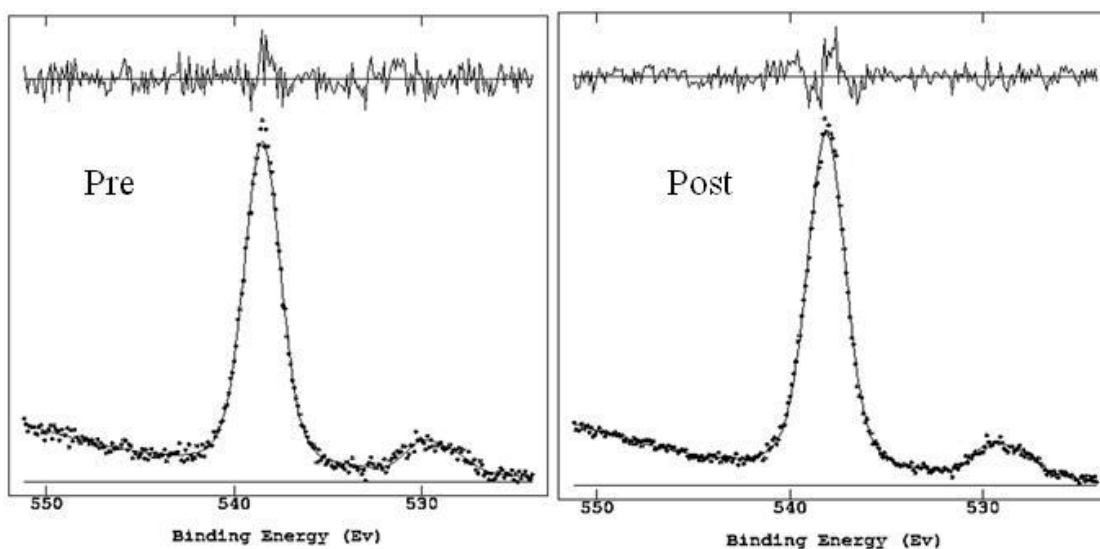


Figura 135. Dettaglio dell'ossigeno 1s pre e post trattamento con deferiprone

Tabella 39 - BE corretta, Area normalizzata per la regione O1s

Regione	Picco	Pre trattamento		Post trattamento	
		BE corretta	Area normalizzata	BE corretta	Area normalizzata
O 1s	1	532.0	29161.1	532.2	18331.1

La regione dell'ossigeno comprende tutti i contributi non risolti dei composti ossigenati. L'area totale viene utilizzata per verificare il bilancio di massa e la bontà dei fits eseguiti.

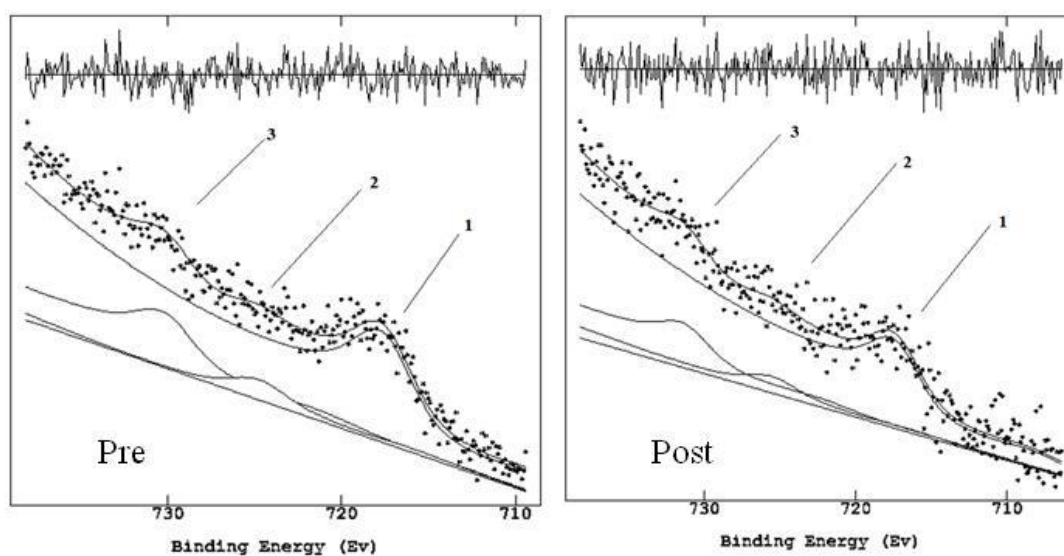


Figura 136. Dettaglio curve-fitted del ferro 2p pre e post trattamento con deferiprone

Tabella 40 - BE corretta, area normalizzata e assegnazioni per la regione Fe2p.

Regione	Picco	Pre trattamento		Post trattamento		Assegnazioni
		BE corretta	Area normalizzata	BE corretta	Area normalizzata	
Fe 2p	1	711.0	239.1	711.3	64.9	Fe ₂ O ₃ , (Mg/Fe)SiO ₃ , (Fe ₃ Al ₂ (SiO ₄) ₃)
	2	718.3	64.5	719.6	18.3	shake up
	3	723.6	119.5	725.2	22.4	shake up

- *picco 1*: doppietto del ferro relativo all'ossido di ferro e alle specie che il ferro forma con la matrice del marmo;
- *picco 2*: picco relativo allo shake up del doppietto

In Figura 137 è apprezzabile la variazione di colore del provino di marmo di Carrara prima e dopo il trattamento con deferiprone.



Figura137. *Provino di marmo di Carrara prima (a sinistra) e dopo (a destra) il trattamento con deferiprone*

Il bilancio di massa totale richiede di considerare tutte le regioni acquisite (Tabella 41) per il calcolo della composizione atomica percentuale illustrata in Figura 138.

Tabella 41 - BE corretta, area normalizzata e assegnazione altri elementi

REGIONE pre	REGIONE post	BE pre corretta	BE post corretta	Area normalizzata	Area post normalizzata	ASSEGNAZIONE
Na (1s)	-	1072.1	-	937.78	-	NaHCO ₃ , NaCl
Mg (2s)	Mg (2s)	89.2	89.5	653.65	237.25	MgAl ₂ O ₄ , MgSO ₄
Si (2p)	Si (2p)	102.3	102.6	1037.90	497.14	SiO _x
Al (2s)	Al (2s)	119.2	118.5	611.67	68.96	AlPO ₄ , MgAl ₂ O ₄
P (2p)	P (2p)	132.0	134.8	144.24	1094.56	AlPO ₄
S (2p)	S (2p)	169.1	168.3	1136.44	266.18	MgSO ₄ , SO ₂
Cl (2p)	-	198.1	-	358.46	-	NaCl
N (1s)	N (1s)	399.9	400.0	7023.40	1011.84	C-N

In Figura 138 è mostrata la distribuzione percentuale dei vari gruppi attribuiti al provino di marmo prima e dopo il trattamento con deferiprone. Come è possibile notare, in seguito all'applicazione del gel la quantità di ferro presente sulla superficie, considerando i valori dell'At% diminuisce di circa il 60% (Tabella 42), indice che il deferiprone riesce ad attraversare la reticolazione del gel e a interagire con la superficie del marmo, chelando il ferro. Le componenti carboniose e calcaree restano più o meno costanti; la matrice carbonatica non viene dunque intaccata dal trattamento. Anche in questo caso, però per una totale rimozione del ferro sarebbe necessario un trattamento successivo.

Tabella 42 - Confronto dell'At% per il Fe2p pre e post trattamento

	At % pre trattamento	At % post trattamento
Fe 2p	0.6	0.2

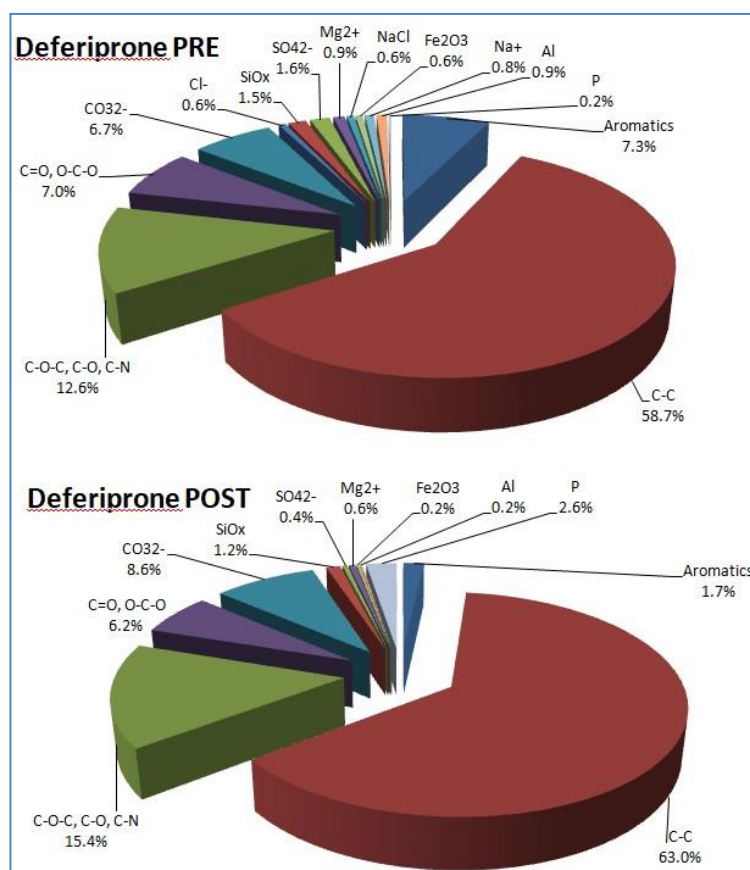


Figura 138. At% marmo pre trattamento e post trattamento con deferiprone

Dai risultati ottenuti, non si registra una netta differenza di prestazione tra i due chelanti (glutazione e deferiprone) anche se il trattamento con deferiprone risulta leggermente più efficace nella rimozione delle macchie di ferro. Pur avendo questi due composti diversi meccanismi di chelazione, il trattamento con entrambi sembra richiedere applicazioni successive per una rimozione soddisfacente delle macchie di ferro: la presenza di contaminanti carboniosi depositati sulla superficie del marmo e ricoprenti gli strati di ossido sembra essere un fattore limitante l'azione del gel e del chelante. Come dimostrato dai risultati XPS, i contaminanti associati alle macchie di ruggine, particolarmente quelli carboniosi, non vengono rimossi e possono accumularsi su ossidi di ferro presenti in superficie rendendolo non disponibile per l'azione dei chelanti.

Entrambi i chelanti trasportano comunque "selettivamente" il ferro nel gel ma l'entità della rimozione dipende dalla massa della soluzione intrappolata nel gel e quindi dallo spessore del gel stesso. La chelazione del ferro è dimostrata comunque anche visivamente dalla colorazione rossa del gel contenente deferiprone (dovuta alla formazione del complesso rosso con Fe(III)) e dalla colorazione grigiastra del gel

contenente glutazione (dovuta all'azione redox che comporta la riduzione del Fe(III) a Fe(II) prima della chelazione) (Capitolo 2).

3.4.10 INDAGINI DI MICROSCOPIA ELETTRONICA SU PROVINI DI MARMO DI CARRARA

Sui campioni analizzati nei paragrafi precedenti, sono state ottenute immagini SEM sia campionando gli elettroni secondari (SE), che gli elettroni retro diffusi (BS). Con il sistema di microanalisi EDS è stato, inoltre, possibile analizzare differenze nella composizione elementare del campione in vari punti della superficie per avere informazioni sulla variabilità della distribuzione del ferro in funzione dei vari trattamenti effettuati. In Figura 139 è mostrata l'immagine degli elettroni retro diffusi del campione di marmo non trattato con chelanti: si nota la dispersione del Fe sulla superficiale evidenziata dalle aree di colore bianco. Dall'immagine degli elettroni secondari SE si nota la irregolarità della superficie del marmo e la differente direzionalità degli assi dei vari cristalli di calcite responsabili della brillantezza diffusa.

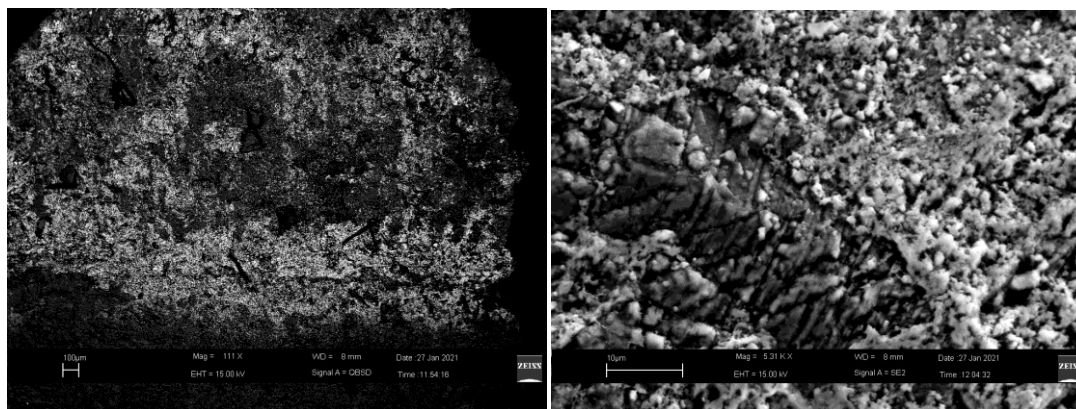


Figura 139. Campione di marmo di Carrara non trattato: a sx immagine degli elettroni retrodiffusi (BS), a dx immagine degli elettroni secondari SE.

La Figura 140 mostra l'immagine ricavata dalla raccolta degli elettroni retro diffusi BS per il campione di marmo trattato con glutazione. La superficie non mostra residui del gel adoperato e solo tracce di ferro: ciò mette in evidenza la bontà del trattamento effettuato. La minore presenza di ferro sulla superficie viene confermata anche dagli spettri EDS. Nelle indagini di microscopia SEM, lo spessore analizzato, secondo le simulazioni effettuate, si aggira intorno ai 250 μm ; questo suggerisce che il gel ha agito in maniera soddisfacente entro questo strato. Ciò lascia supporre che i residui di ferro, ancora visibili

si trovano in parte sulla superficie, come confermato dalle analisi XPS, ma anche al di sotto dello strato campionato dall'XPS, presupponendo la necessità di ulteriori trattamenti di chelazione.

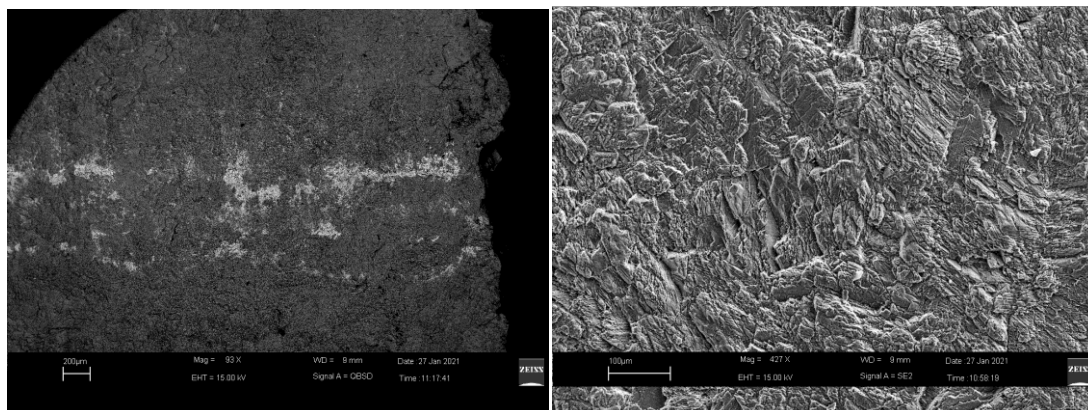


Figura 140. Immagini BS (sinistra) e SE (destra) del campione trattato con glutatione.

Le considerazioni fatte per il trattamento con glutatione, trovano conferma anche dall'analisi del campione trattato con deferiprone (Figura 141). Dalle immagini si può notare una leggera contaminazione di Ferro sulla superficie, minore di quella osservata per il trattamento con glutatione, a conferma dei risultati ottenuti con le analisi XPS.

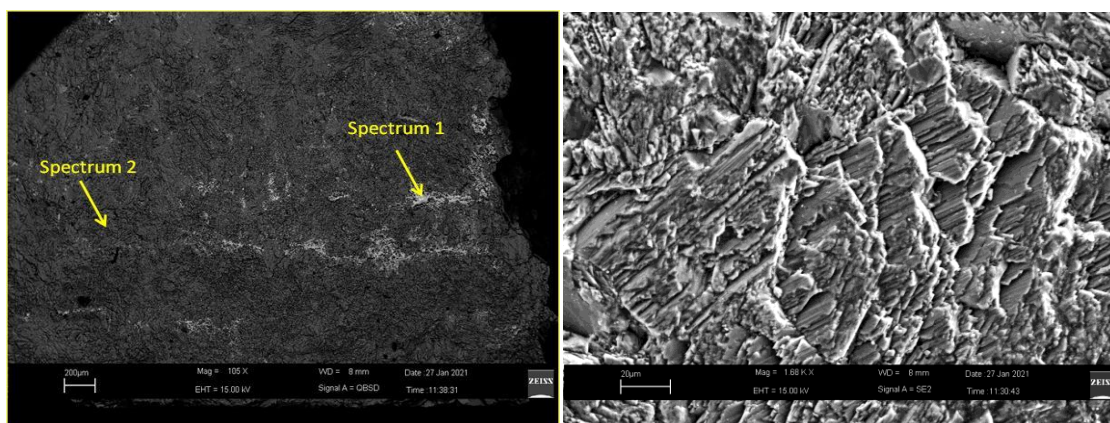


Figura 141. Immagini degli BS (sx) e SE (dx) del campione trattato con deferiprone.

Nella Figura 142 sono illustrati due spettri EDS relativi a due aree (1 e 2) del campione di marmo trattato con deferiprone. Lo spettro campionato nell'area bianca (spettro 1) mostra residui di ferro non rimossi dalla superficie. Lo spettro campionato nell'area più scura (spettro 2) mostra solo tracce di ferro a conferma della rimozione della macchia. Le componenti carboniose e calcaree restano comunque inalterate nei due spettri.

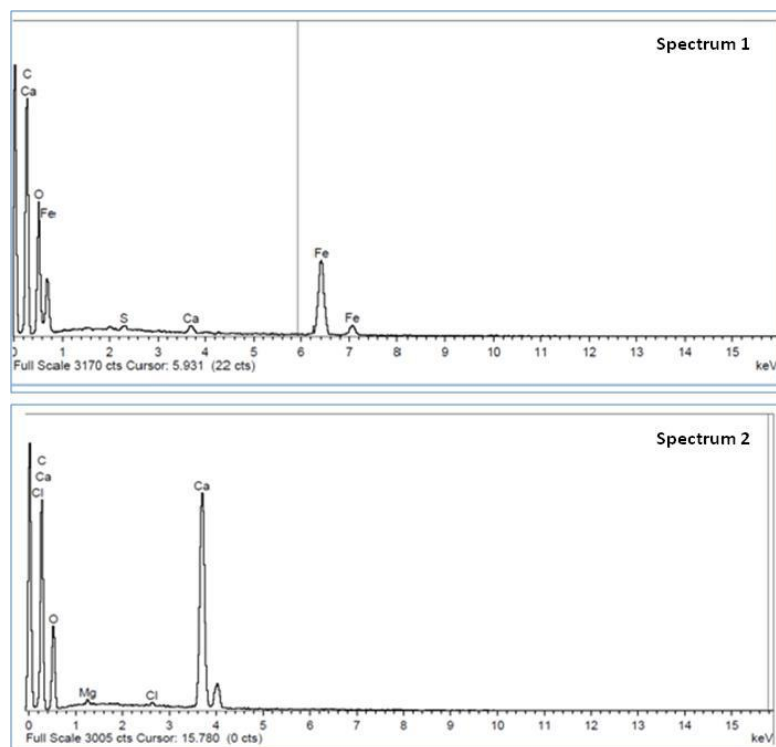


Figura 142. Spettri 1 e 2 campionati in due aree diverse del provino di marmo trattato con deferiprone

I risultati delle indagini di microscopia elettronica confermano che le macchie sui provini di marmo di Carrara sono prevalentemente costituite da ossidi di ferro e che l'entità della loro rimozione è condizionata anche dalla presenza di contaminanti organici. Questi ricoprono o interagiscono con i prodotti di corrosione del ferro, in modo tale che il ferro viene a trovarsi al di fuori del campo di azione del chelante e al sotto dello strato monitorato dall'XPS. L'azione pulente dei due chelanti è selettiva per lo ione ferrico e non mostra effetti significativi sulla matrice calcarea che non viene intaccata, come dimostrano i dati spettrali del calcio e i risultati XPS.

A dimostrazione di ciò, n. 4 provini di marmo macchiati con ferro sono stati analizzati mediante XPS prima e dopo il trattamento con i due chelanti glutatione e deferiprone supportati su gel. I risultati delle analisi, che qui non vengono illustrati per sinteticità, hanno permesso di ricavare i rapporti medi Fe/Ca e le relative deviazioni standard, tenuto conto della precisione della tecnica XPS. Come si può notare dalla Tabella 43 anche in questo caso i risultati migliori si ottengono con il trattamento con deferiprone.

Tabella 43 - Rapporti medi Fe/Ca e relative deviazioni standard relative a quattro provini di marmo analizzati prima e dopo il trattamento con i due chelanti

	Fe/Ca pre-trattamento	Fe/Ca post-trattamento
Deferiprone	0.16 ± 0.02	0.02 ± 0.01
Glutazione	0.15 ± 0.04	0.06 ± 0.02

3.4.11 RIMOZIONE DI MACCHIE DI FERRO SU CAMPIONE REALE

Dai risultati ottenuti nelle prove di laboratorio, è emerso che il deferiprone, supportato su un gel di PVA e alginato di sodio, ha mostrato la più alta efficienza nella rimozione di ossidi di ferro su superfici marmoree. L'efficacia di questo trattamento è stata verificata in campo su un campione reale, dove per le condizioni ambientali particolari, manufatti in marmo presentavano estesa contaminazione da ossidi di ferro. Per una applicazione "in situ", è stato scelto un basamento (stilobate) di una colonna posta all'ingresso della sede del CNR – IRSA di Taranto. Questo sito di sperimentazione, anche se non compreso nel progetto "Smart Cities", è risultato abbastanza interessante vista la particolare situazione ambientale nell'area di Taranto dovuta alla presenza di una estesa area siderurgica. Diversi studi, infatti, sulla qualità dell'aria hanno messo in evidenza, in quest'area dichiarata ad alto rischio ambientale, il ruolo del particolato atmosferico (PM₁₀ e PM_{2.5}) nella diffusione in varie matrici di inquinanti organici e metalli (Ni, Fe, Mn, Zn) (Viviano et al., 2005; Amodio et al., 2013) con flussi di deposizione atmosferica di Ferro valutabili nell'ordine di 57 mg /m²/giorno (Amodio et al. 2014).

Sul piedistallo della colonna del sito in esame, visivamente contaminato da ossidi di ferro, è stato dunque prelevato un campione prima del trattamento raschiando delicatamente la superficie con una spatola di plastica. Il campione è stato poi sottoposto ad analisi XPS. E' stato poi applicato il gel contenente deferiprone, ricoperto da una pellicola di polietilene per evitarne la disidratazione. Il gel è stato poi rimosso dopo 20 ore e la superficie trattata è stata ricampionata e analizzata.

Nella Figura 143 (a) è mostrata l'area di applicazione del gel, dove si nota una estesa colorazione rossastra dovuta a deposizione di ossidi di ferro sul marmo. Nella Figura 143 (b) è possibile notare il gel applicato contenente deferiprone, con la pellicola di polietilene. Il colore rosso, molto evidente nella Figura 144 (b), dopo l'eliminazione del gel, testimonia la chelazione del ferro da parte del deferiprone. Nella Figura 144 (a) si può notare il risultato dell'operazione di pulizia effettuata. Nella Figura 145 sono

illustrati in sintesi i risultati relativi alle analisi XPS prima e dopo il trattamento con il gel.



Figura 143. (a) Piedistallo della colonna: area di intervento; (b) gel dopo 20 ore di applicazione



Figura 144. Risultato della rimozione della macchia di ferro

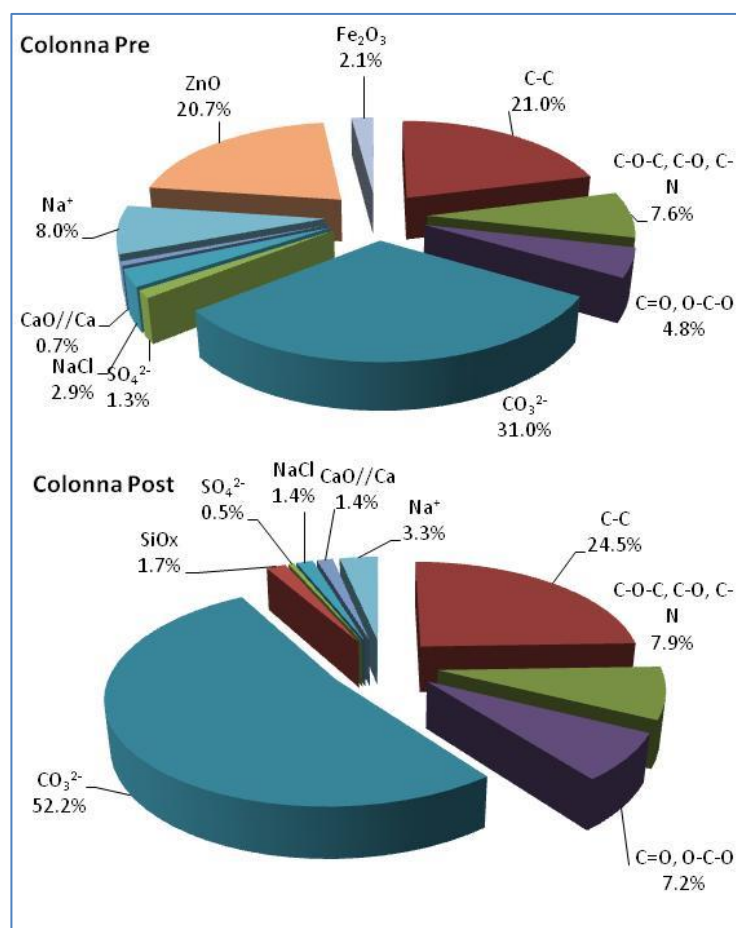


Figura 145. Distribuzione percentuale dei vari gruppi prima e dopo il trattamento con il gel.

Come si può notare dalla Figura 145, il trattamento ha portato non solo alla rimozione del ferro, che nel post trattamento non è evidenziabile, ma anche dello zinco, altro contaminante metallico identificato nel campione non trattato. La percentuale del carbonato aumenta dopo il trattamento, indice della non aggressività del gel verso la matrice marmorea.

3.5 APPROCCIO “GREEN” PER LA RIMOZIONE DI MACCHIE DI FERRO DA SUPERFICI IN MARMO: USO DI PROTEINE CHELANTI

Una delle problematiche più attuali nell’ambito del restauro riguarda l’uso di prodotti non dannosi per l’opera d’arte e, allo stesso tempo, per l’ambiente e la salute umana. Riguardo al problema della eliminazione delle macchie di ossidi di ferro da materiali lapidei, le attuali ricerche, come già visto, sono orientate sull’uso di prodotti naturali con proprietà chelanti verso il ferro. In particolare, in questi ultimi anni, non considerando i chelanti chimici tradizionali del ferro (EDTA, ad esempio), l’attenzione è stata rivolta anche a composti utilizzati in terapia medica, come la Deferoxamina (Hatcher et al, 2009) e amminoacidi contenenti gruppi sulfidrilici, come la cisteina, o gruppi metil-tioeteri come la metionina (Macchia et al., 2016; Spile et al., 2016). Proseguendo su questa linea, lo scopo di questa attività di ricerca nell’ambito del dottorato, è stato quello di verificare l’utilizzo di due proteine, Lattotransferrina (Ltf) e Ovotransferrina (Ovt), come prodotti innovativi per la pulizia di superfici lapidee da macchie di ruggine. Le proprietà chelanti del ferro delle due transferrine erano già state identificate nell’ambito di vari studi clinici (Wu & Lopez, 2012; Kell et al., 2020).

Il lavoro è stato condotto in collaborazione con il Dipartimento di Chimica dell’Università “La Sapienza” di Roma, dove sono stati preparati i provini di marmo, estratte le due proteine da testare, effettuate le analisi per la valutazione del colore delle macchie e la relativa elaborazione delle immagini. Per la sperimentazione sono stati utilizzati campioni di marmo di Carrara, esposti all’aria per un anno presso il Dipartimento di Chimica dell’Università di Roma a contatto con barrette di ferro metallico. L’esposizione per un così lungo periodo ha consentito di ottenere dei campioni macchiati artificialmente in condizioni di temperatura, umidità ed esposizione alla pioggia mediati su quattro stagioni, in modo da ricreare condizioni di esposizione quanto più simili a quelle di manufatti esposti all’ambiente “outdoor”.

Le due proteine sono state estratte da matrici naturali (latte e uova) secondo le procedure descritte nel Capitolo 2. Le proteine sono state poi immobilizzate su polpa di cellulosa bianca e deresinata che è in grado di trattenere una quantità di acqua pari a 5 volte il suo peso. Il pH delle soluzioni è stato mantenuto neutro (pH = 7.4) per entrambe le proteine con l’uso del tampone fosfato salino (PBS).

La Figura 146 mostra la sequenza seguita per la rimozione delle macchie di ferro da due provini di marmo utilizzati, denominati C e S. La polpa di cellulosa è stata applicata sulla

superficie di ciascun provino per 12 ore. Per misurare l'entità delle variazioni cromatiche prima e dopo l'applicazione, sono state utilizzate analisi spettrocolorimetriche e microscopia digitale con elaborazione di immagini.

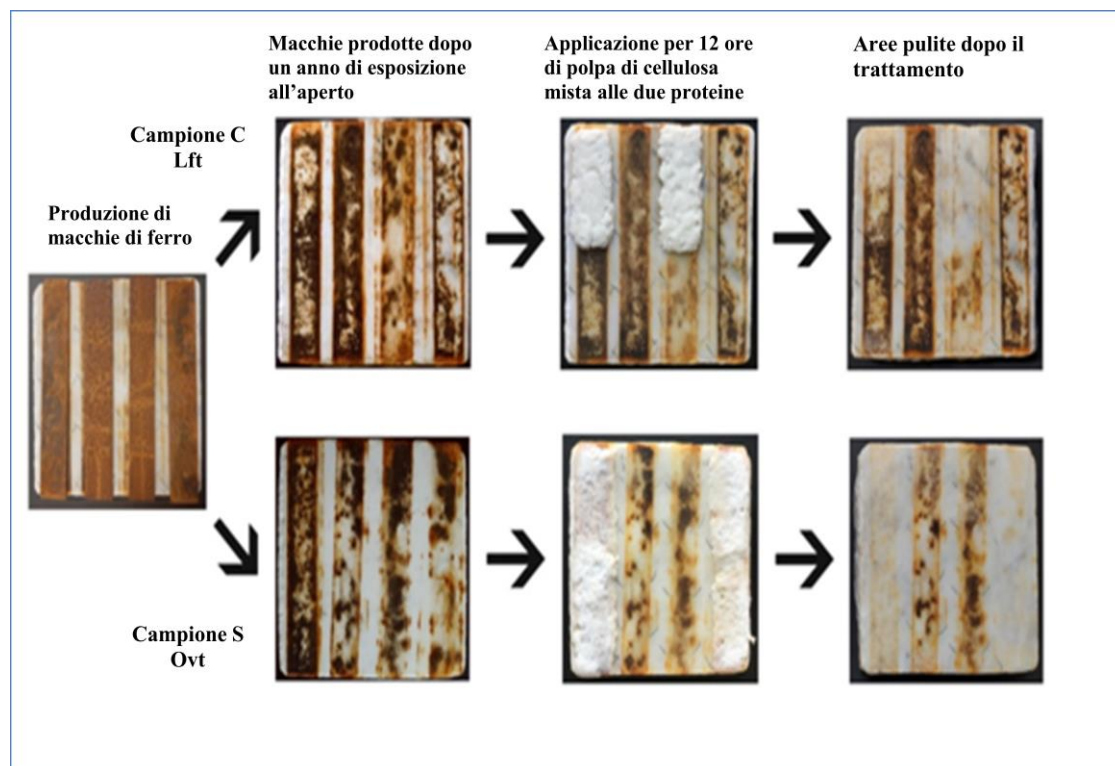


Figura 146. Macchie di ferro su provini di marmo (C e S) e loro rimozione mediante applicazione di polpa di cellulosa contenente Lft e Ovt.

3.5.1 SPETTRI DI RIFLETTANZA E ANALISI DELLE IMMAGINI

Una delle caratteristiche più evidenti degli ossidi, idrossidi e ossi-idrossidi di ferro è la varietà dei colori legati ai diversi tipi di transizioni elettroniche. Di norma, gli ossidi di ferro assorbono fortemente nelle regioni spettrali dell'ultravioletto (UV) e del blu, ma riflettono fortemente anche nelle regioni del rosso e dell'infrarosso (IR). In queste regioni, infatti, si possono osservare differenze significative tra i singoli ossidi nelle tonalità "calde", che vanno dal giallo della goetite (α -FeOOH), al rosso violaceo di alcune ematiti (α -Fe₂O₃). Queste differenze di assorbimento sono alla base di una possibile distinzione tra i diversi tipi di ossidi. Generalmente gli ossidi di ferro si presentano sotto forma di piccole particelle, in forma pura o intimamente legate ad altri minerali. Quando un raggio di luce incidente colpisce la superficie di questi materiali, solo una piccola frazione viene riflessa specularmente, il resto penetra e si disperde nella

massa attraverso fenomeni di riflessioni multiple, rifrazioni e diffrazioni. Le quantità di luce assorbita e di luce riflessa dipendono dal materiale costituente e dalla lunghezza d'onda incidente. Parte di questa radiazione alla fine lascia la superficie in tutte le direzioni e costituisce la cosiddetta “luce diffusa riflessa”. L'analisi della corrispondente “riflettanza diffusa” (RD) può essere utilizzata per identificare e caratterizzare i diversi ossidi. I normali spettri di riflettanza, ottenuti attraverso misure spettrocolorimetriche, possono essere parametrizzati in base al modello matematico di Kubelka-Munk (Torrent & Barrón, 2002; Yang & Kruse, 2004) che fornisce una delle trasformazioni più utili dei dati di riflettanza. Questo modello, di natura empirica, mette in relazione la riflettanza diffusa (R_d) di un mezzo omogeneamente suddiviso, poco assorbente e sufficientemente spesso da non essere attraversato dalla luce, ad un coefficiente di assorbimento K e ad un coefficiente di diffusione S del mezzo. Per il calcolo, il mezzo è suddiviso in una infinità di strati omogenei e lambertiani (riflettenti la luce allo stesso modo in tutte le direzioni dello spazio), in modo tale che:

$$F(R_d) = (1-R_d)^2 / 2R_d = K/S$$

dove $F(R_d)$ è la funzione di Kubelka-Munk (chiamata anche “funzione di remissione”).

Poiché gli spettri di riflettanza risultano dalla sovrapposizione di bande di assorbimento a diverse lunghezze d'onda, la loro risoluzione è più facile se si ottengono le derivate delle curve. La derivata seconda (DS) della curva di solito fornisce più informazioni rispetto alla derivata prima, perché una banda nello spettro originale, sovrapposta ad altre bande, che non produce un massimo di assorbimento reale, produce sempre un minimo nella derivata seconda della curva. Come si può notare dalla Figura 147(a), che mostra gli andamenti medi degli spettri di riflettanza, sia per il provino C che per il provino S, si ha un significativo aumento percentuale di riflettanza nella curva di post-trattamento, soprattutto in quelle aree di lunghezze d'onda caratteristiche degli ossidi di ferro (UV-Vis, vicino IR). Il maggior incremento per il provino S, trattato con polpa di cellulosa contenente Ovt, conferma la migliore pulizia, evidente anche da un punto di vista operativo, con una riduzione sensibile della distanza dalla curva del bianco, relativa al colore originario del marmo di Carrara non macchiato. L'analisi basata sulla derivata seconda delle curve dello spettro di riflettanza e della funzione di remissione (K/S) mostrata in Figura 147(b), è risultata utile per identificare la miscela dei diversi ossidi di

ferro presenti nelle macchie. Le bande di assorbimento mostrate dagli ossidi di ferro provengono da transizioni elettroniche all'interno dei cinque gusci 3d dello ione Fe(III). Gli spettri delle derivate seconde mostrano generalmente quattro bande comprese tra 370-730 nm (Tabella 44) come risultato della sovrapposizione combinata delle diverse bande degli ossidi. Sebbene la loro distinzione possa essere solo indicativa, dalle derivate seconde degli spettri di Figura 147(b), è chiaramente individuabile nelle macchie la presenza di ematite e di fasi miste di lepidocrocite/goethite e maghemite, quest'ultima discriminante per macchie brune.

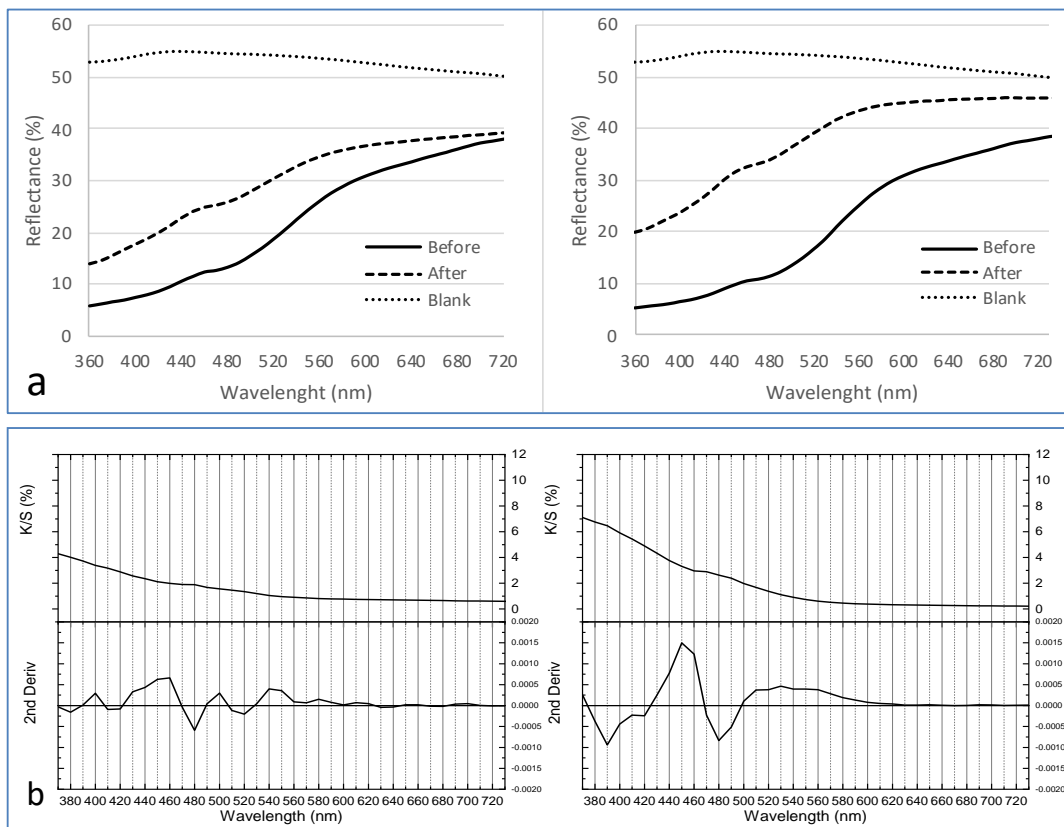


Figura 147. (a) Spettri di riflettanza relativi al provino C (sinistra) e al provino S (destra), prima e dopo la rimozione dell'ossido di ferro, in relazione alla curva del bianco; (b) funzione di remissione (coefficienti K/S) e sua derivata seconda per i due provini C e S, in funzione delle lunghezze d'onda (nm).

Tabella 44 - Bande di adsorbimento basate sulla derivata seconda (Figura 147 b)

Campioni	Ferridrite/ Lepidocrocite/ Goetite	Ferridrite/Maghemite/ Ematite/Goetite/Lepidocrocite		Ematite		Maghemite
C	380	410	480	520	570	-
S	390	420	480	520	560	620

L'elaborazione delle immagini si è rivelata anche strumento utile per riconoscere, differenziare e quantificare i diversi tipi di immagine. Questa tecnica sta diventando sempre più importante e diffusa in quanto può essere eseguita in modo rapido ed economicamente conveniente, avendo a disposizione un microscopio e dei software “open source”, come ad esempio “Image J”, riccamente implementato da numerosi Plug-in. Mediante questo software, le immagini acquisite con microscopio digitale (Figura 148) possono fornire, dopo elaborazione con il sistema RGB (*Red, Green, Blue*), tabelle di dati ed istogrammi di colore, caratterizzati da scale di 256 pixel per ciascuno dei canali Rosso, Verde e Blu. Le medie di queste distribuzioni sono state riportate in istogrammi per monitorare e confrontare le singole componenti cromatiche durante le fasi di estrazione degli ossidi di ferro. Le microfotografie digitali dei provini di marmo macchiato sono state dunque elaborate mediante analisi cromatica RGB, prima e dopo la rimozione delle macchie di ferro con le proteine Ltf e Ovt. I risultati delle analisi RGB hanno permesso di rappresentare le aree processate mediante istogrammi (Figura 149), da cui sono evidenti i buoni risultati ottenuti con le due proteine. In entrambi i casi, nel post-trattamento, si osserva una diminuzione del Rosso e un aumento del Verde e del Blu, indicativi di una diminuzione del colore dovuto agli ossidi di ferro e del viraggio verso il bianco originale del marmo.

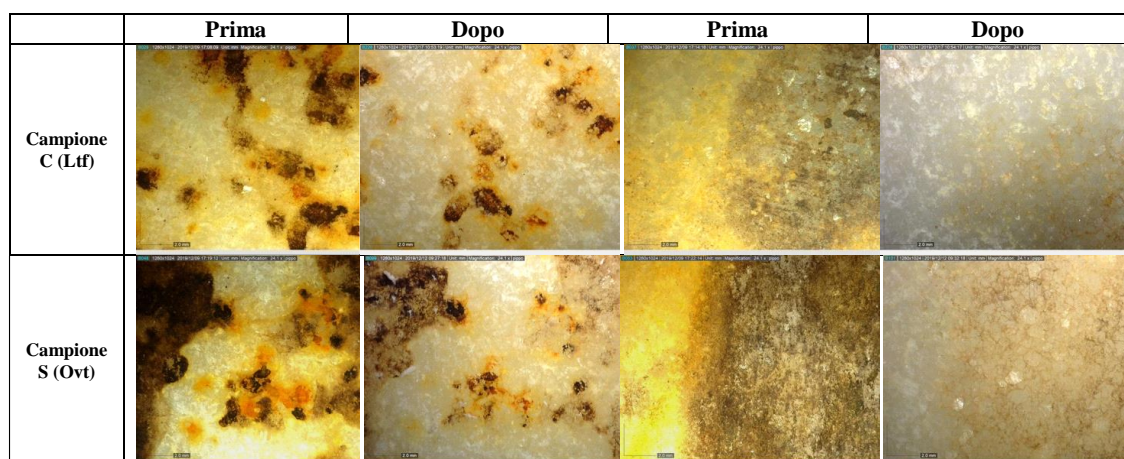


Figura 148. Microfotografie digitali dei campioni C e S acquisite in due aree trattate dei provini prima e dopo il trattamento con le due proteine (aree ingrandite 75x)

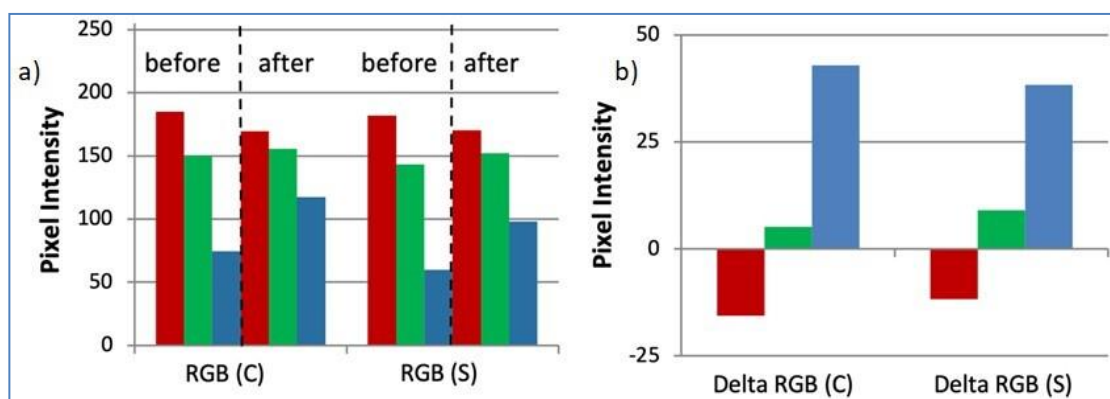


Figura 149. (a) Istogrammi RGB mediati dei campioni C (Ltf) e S (Ovt), prima e dopo il trattamento con le due proteine; (b) differenza relativa (delta RGB)

3.5.2 CARATTERIZZAZIONE XPS

Prima di procedere all'analisi XPS dei campioni prelevati dalle superfici dei provini in esame, l'attenzione è stata posta sia ai dati di letteratura che agli spettri acquisiti in laboratorio con composti standard del ferro. La Figura 150a mostra efficacemente come diverse forme di picco siano associate a diversi stati di ossidazione del ferro in vari ossidi (Graat & Somers, 1996). La Figura 150b mostra la regione dettagliata Fe2p dello spettro XPS dell'ossido di ferro (III) (standard Sigma-Aldrich), ottenuta mediante curve fitting con il programma Googly. La regione Fe2p mostra le posizioni $2p_{3/2}$ e $2p_{1/2}$ (Binding Energies, eV), il loro allargamento dovuto a processi di “*multiplet splitting (MS)*, *shake up (SU)* e *satellites (SU)*”, tutti caratteristici del profilo del Fe^{3+} . Dall'analisi combinata tramite *curve fitting* delle regioni dettagliate Fe2p e O1s, è possibile evidenziare che i risultati ottenuti sono stati quelli corrispondenti stechiometricamente all'ematite idrata, $Fe_2O_3 \cdot H_2O$. L'acquisizione di questo spettro di riferimento si è rivelata utile in considerazione della successiva analisi dei campioni reali. Infatti, tutte le analisi dei campioni relativi alle superfici dei marmi macchiati con ruggine mostravano negli spettri XPS la tipica forma Fe2p degli ossidi di ferro (III).

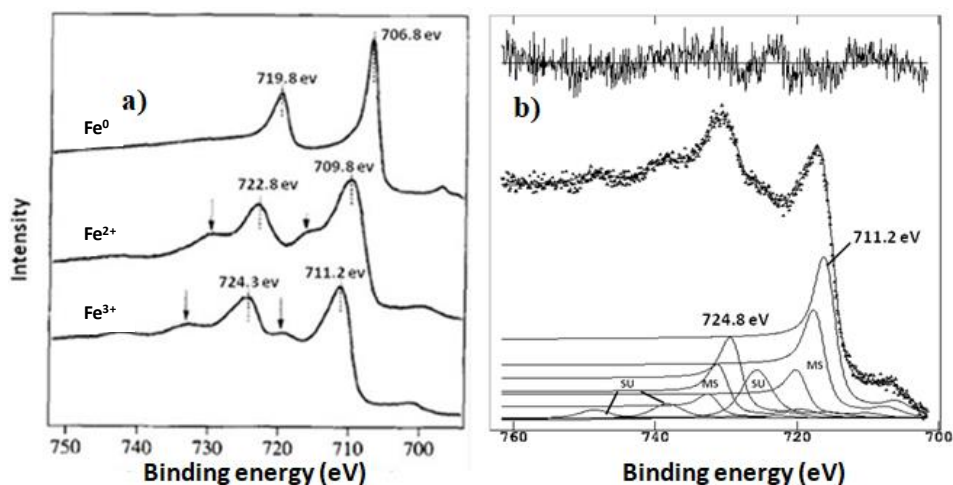


Figura 150. a) Forme spettrali Fe2p sovrapposte di uno standard di ferro (Graat & Somers, 1996); b) spettri XPS dettagliati della regione Fe2p del composto Fe₂O₃

Dai provini di marmo C e S, utilizzati per i test, sono stati raccolti campioni dalle sezioni laterali non trattate (Figura 151): questi campioni, che non avevano subito macchiatura da parte del ferro, sono stati considerati come “bianchi” di riferimento e denominati (BC) e (BS) rispettivamente. Dall’analisi XPS di questi due campioni e dal confronto dei rispettivi “wide spectra” (Figura 152 a e b), è possibile notare che non ci sono differenze sostanziali nella loro composizione, essendo gli spettri per i due campioni quasi perfettamente sovrapponibili.

La Figura 152 b e la Tabella 45 mostrano rispettivamente le regioni dettagliate C1s, Ca2p, O1s relative al campione BS e i risultati ottenuti per l’insieme delle regioni dettagliate, seguendo la consolidata procedura di curve-fitting adottata per tutti i campioni studiati (Castle et al., 2000; Castle & Salvi, 2001; NIST, 2012). Questa procedura consente di calcolare la composizione dei campioni (analisi semiquantitativa), assegnando stati chimici (BEs corretti) e intensità relative a ciascun picco risolto ed eseguendo un bilancio di massa, tenuto conto dei coefficienti stechiometrici di ciascun gruppo in un dato composto, nei limiti dell’accuratezza della tecnica XPS ($\pm 10\%$) (Briggs & Grant, 2003).

I risultati relativi a entrambi i campioni di “bianco” sono stati poi confrontati con quelli relativi a campioni prelevati sulle superfici macchiate, prima (campioni BL e BO) e dopo (campioni AL e AO) il trattamento di pulizia con Ltf e Ovt supportate su polpa di cellulosa (Figura 153). Gli spettri XPS sono stati elaborati mediante curve-fitting e i risultati sono sintetizzati nei grafici a torta di Figura 153. Dall’esame della Figura 153, si nota ancora una volta come i risultati relativi ai campioni BC e BS, presi, come bianco di riferimento, confermano la loro simile composizione, sia per i costituenti principali, che

per quelli minori. Infatti, le percentuali di carbonato di calcio e costituenti carboniosi (gruppo C-C) erano rispettivamente per i due campioni di bianco: BC: CaCO₃ 36.0%, C-C 49.6; BS, CaCO₃ 38.6%, C-C 46.3%. Come mostrato dal numero di picchi che compongono il segnale del carbonio C1s, (Tabella 45), la percentuale non trascurabile dei componenti carboniosi nella parte “bianca” non arrugginita dei provini, potrebbe essere spiegata dall'assorbimento durante il periodo di esposizione di composti organici depositati derivanti da particolato atmosferico dell'atmosfera cittadina.

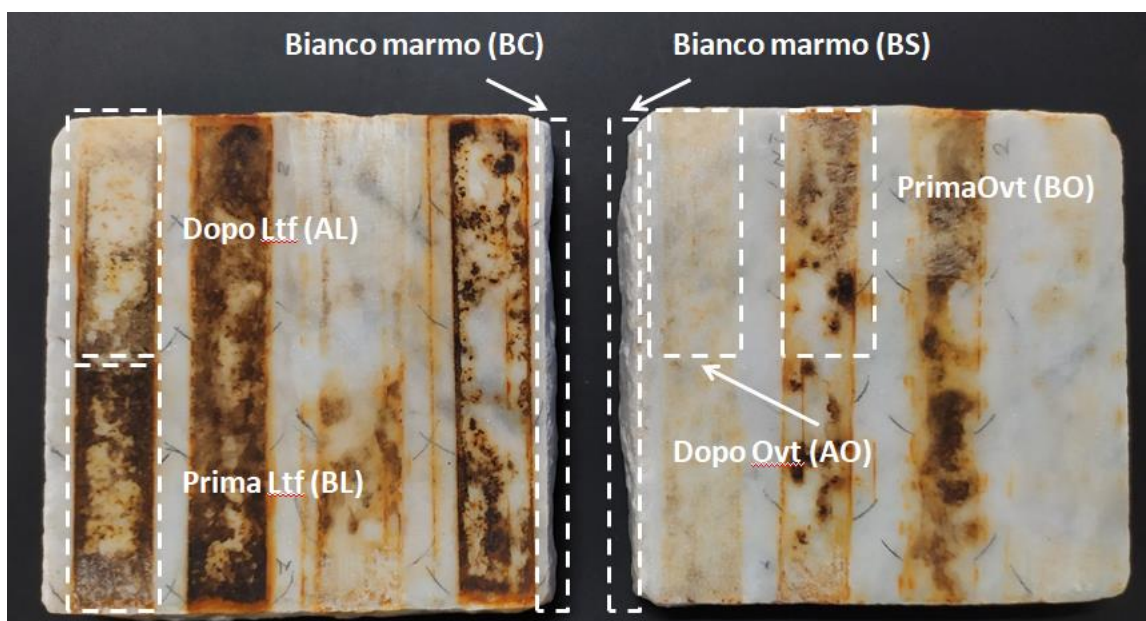


Figura 151. Aree di campionamento sui provini utilizzati per l'analisi XPS; aree laterali BC e BS: campione bianco (lungo lo spessore del marmo); zone BL e BO macchiate da ruggine prima dei trattamenti di pulitura; aree AL e AO trattate con le proteine Lft e Ovt rispettivamente

Ulteriori composti adsorbiti non specificati sono raggruppati, nelle assegnazioni della Tabella 45, come carbonio organico, appartenente alla zona inferiore della BE (Binding Energy), tipica di carburi, grafite, carboni policiclici e aromatici (Beamson & Briggs, 1992; Carbone et al., 2014). La loro compresenza spesso riscontrata su superfici monumentali (Alessandrini, et al., 2013) a lungo influenzate da inquinanti atmosferici, contribuisce alla formazione della caratteristica “patina”. Il termine "patina" indica, senza discriminazioni, tutti gli strati sequenziali, sia di origine biotica che abiotica, eventualmente depositati sopra la cosiddetta "patina nobile", intrinsecamente formata sulla sottostante pietra carbonatica ed eventualmente protettiva verso la progressiva erosione dovuta a piogge acide e ad altre componenti aggressive dell'atmosfera (Garcia-Vallès et al., 1998; Polo et al., 2010).

Confrontando gli spettri dettagliati dei due set di campioni (AL-BL e AO-BO), e i risultati del “curve fitting” sintetizzati nei corrispondenti grafici a torta di Figura 153, si può evidenziare come dopo il trattamento con entrambe le proteine, la stechiometria del carbonato CaCO_3 rimane inalterata, mentre si registra una riduzione del contenuto di ferro e zolfo ed un relativo aumento delle componenti carboniose, più evidenti dopo trattamento con Ovt.

Il trattamento con Ltf non ha determinato un apprezzabile cambiamento del profilo del carbonio C1s. È importante notare che i valori dell'At % relativi all'ossido di ferro (III) sono diminuiti dal 3.1% a circa l'1.3% dopo il trattamento con Ltf e dal 2,5% al di sotto del limite di rilevabilità con il trattamento con Ovt, a dimostrazione che entrambe le proteine mostrano una significativa capacità di riduzione della percentuale di ferro presente nelle macchie.

A causa della presenza di composti di ferro, i campioni di marmo macchiati risultavano più contaminati rispetto alla superficie del bianco, come evidenziato dai valori di At% nei relativi grafici a torta, dove si osserva anche un aumento del contenuto di zolfo e di azoto. È probabile che durante il processo di corrosione all'aria, vari contaminanti (ad esempio particolato atmosferico, ecc.) possano essere inglobati nelle macchie di ruggine (Vindedahl et al., 2016) rendendo più difficile il legame del ferro con le proteine chelanti e quindi la sua completa rimozione con una singola azione pulente.

L'efficacia pulente complessiva, monitorata dopo un singolo trattamento, dipende dunque chiaramente dalle condizioni in cui si sono formati i depositi di ossidi sulle superfici, dalla loro quantità ed estensione in profondità e dalla presenza di contaminanti associati. Inoltre, dopo l'applicazione della polpa di cellulosa, le impurità presenti nelle proteine, derivanti dal processo di estrazione, possono essere rilasciate sulle superfici, riducendo così i segnali XPS del ferro all'interno della polvere campionata (Yamamoto et al., 1996).

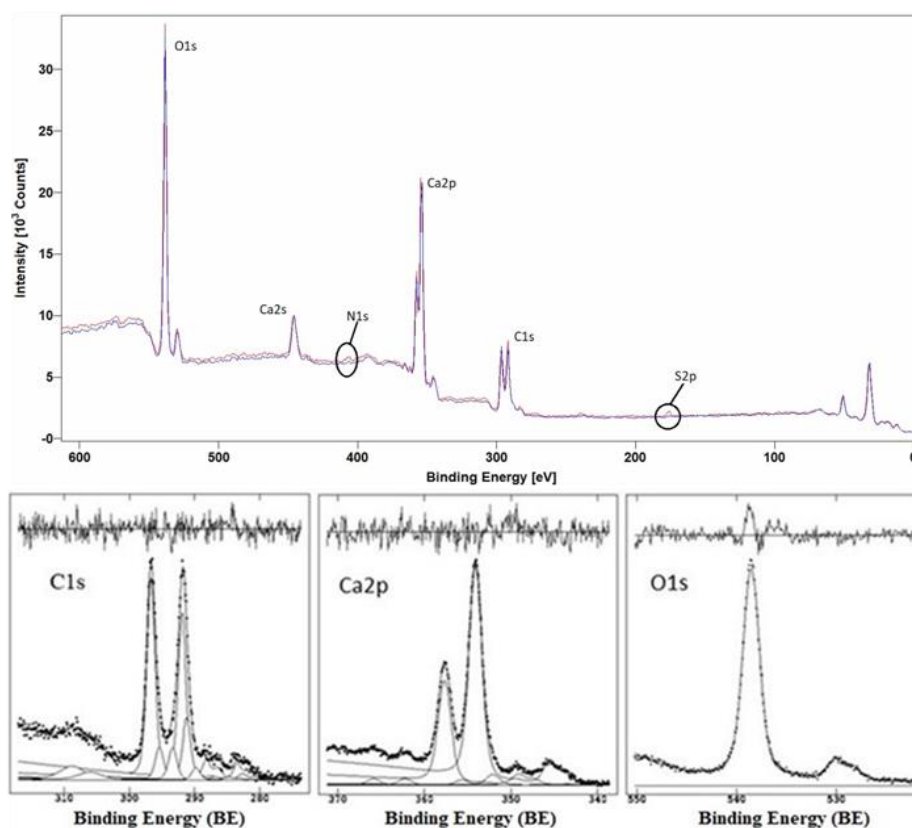


Figura 152. Grafico superiore: confronto degli spettri wide: campione BC (rosso) - campione BS (blu); Grafico inferiore: regioni dettagliate per C1s, Ca2p e O1s relative al campione BS

Tabella 45 - Dati XPS relative alle regioni dettagliate dello spettro del campione bianco BS

Elemento/orbitale	BE orretta (eV) Binding Energy \pm 0.2 eV	Area normalizzata	Assegnazione (dal database NIST, dati di letteratura e standard analizzati)
C1s	282.8	3393	C-C organico
	284.3		
	285.0	7576	C-C alifatico
	286.4	1454	C-O-C, C-N, C-OH, ϕ -OH
	288.5	1483	ϕ -CO-O, -CO-NH ₂
	289.7	9158	CO ₃ ²⁻
S2p	168.6	188	S legato a un anello aromatic / SO ₄ ²⁻ / SO ₃ ²⁻
O1s	531.6	30157	●
Ca2p	345.1	462	Ca, CaO
	347.2	9137	CaCO ₃

(●) L'area totale di O1s tiene conto di tutte le specie ossigenate, dei coefficienti stechiometrici di ciascun gruppo chimico nel dato composto, nei limiti dell'accuratezza XPS (\pm 10%). Φ = gruppo arilico

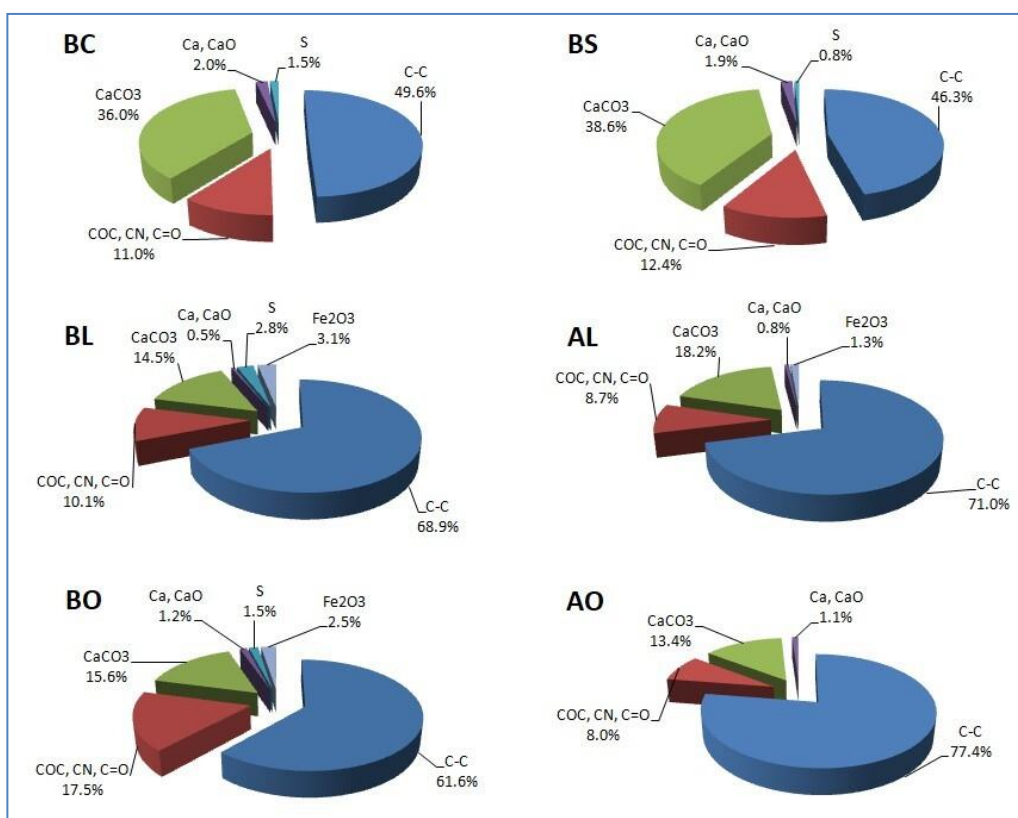


Figura 153. Confronto grafico dei risultati di curve-fitting: (BC e BS) campioni di bianco, (BL e BO) provini macchiati prima e dopo (AL e AO) il trattamento con le proteine Ltf e Ovt. Nota: C-C include sia C-aromatico che C-alifatico.

I risultati ottenuti da tutte le indagini effettuate, evidenziano l'utilità dell'uso combinato delle due tecniche utilizzate (spettrocolorimetria e spettroscopia XPS), che ha permesso di correlare il colore della superficie macchiata con la sua composizione, fornendo informazioni sull'efficacia della procedura di pulizia per una singola applicazione. Le due proteine chelanti (Ltf e Ovt), supportate nella polpa di cellulosa, si sono dimostrate altamente selettive per solubilizzare il ferro nei marmi arrugginiti, senza intaccare il substrato di CaCO₃, la cui integrità è confermata dai valori dell'At% calcolato dopo il curve fitting delle regioni XPS come riportati dai grafici a torta di Figura 153.

I risultati mostrano che Ovt è più efficace di Ltf; dopo l'applicazione della polpa di cellulosa, le impurità presenti nelle proteine, derivanti dal processo di estrazione, possono essere rilasciate sulle superfici, riducendo così i segnali XPS del ferro nel campione. In tal senso, sono ancora possibili ulteriori affinamenti del metodo di estrazione delle proteine dalle loro materie prime, (es. latte e uova) al fine di ridurre al minimo la coestrazione di prodotti indesiderati e il rilascio di ulteriori residui sulle superfici lapidee da trattare. Una ulteriore ottimizzazione di queste procedure

permetterebbe, inoltre, di ridurre i tempi di estrazione e i costi derivanti dall'acquisto delle due proteine purificate.

I risultati finora ottenuti indicano anche come la patina superficiale indotta dalla corrosione del ferro, contribuisca all'alterazione superficiale dei manufatti lapidei. È stato verificato che la presenza e la crescita di ossidi di ferro sulle pietre carbonatiche è associata anche all'assorbimento di altri componenti, come componenti biologiche e particolato carbonioso, che aggravano il processo di alterazione. I metodi di pulizia riportati in letteratura affrontano questo problema complesso con varie strategie, tra cui la scelta e l'uso di miscele di più chelanti, l'aggiunta di vari componenti per controllare lo stato redox del ferro e la rimozione preliminare di inquinanti organici/inorganici indesiderati (Matero & Tagle, 1995; Cushman & Wolbers, 2007; Spile et al., 2016).

In questo contesto, la scelta delle transferrine Ltf e Ovt per la chelazione del ferro e la loro solvatazione nella polpa di cellulosa acquosa neutra sembra essere un metodo promettente per la pulizia di manufatti di interesse artistico-culturale. Sulla base dei risultati ottenuti, è possibile prevedere, infatti, anche successive applicazioni per rimuovere macchie di ruggine ancora presenti sulle superfici dopo la prima applicazione. È inoltre importante sottolineare il ruolo svolto dalla polpa di cellulosa anche nella rimozione meccanica di contaminanti superficiali associati agli ossidi di ferro, e la possibile azione delle due transferrine studiate, vista la loro attività antimicrobica, nel controllo del biodeterioramento, senza alterare il substrato calcareo. (Superti et al., 2007; Giansanti, et al., 2016). Un primo vantaggio nell'utilizzo di Ltf e Ovt immobilizzate nel settore dei Beni Culturali è stato quello di ottenere una chelazione degli ioni ferrici altamente selettiva e non invasiva. Infatti, queste proteine agiscono solo su un composto bersaglio (il ferro) senza attaccare i substrati, come il carbonato di calcio. In secondo luogo, il sistema di immobilizzazione utilizzato è stato in grado di influenzare il grado di pulizia ottenuto, attraverso una buona capacità di trattenere l'acqua, un mantenimento del tempo di contatto ed infine una facilitazione dell'asportazione meccanica della patina indifferenziata, che contribuisce ad alterare le superfici lapidee. Da questo punto di vista va sottolineato il valore innovativo della metodologia sviluppata, che può essere adattata secondo le esigenze richieste, riflettendo i criteri di minimo intervento. Un ulteriore vantaggio è rappresentato dall'aspetto "green" della tecnica, che si dimostra non invasiva per i manufatti e sicura non solo per l'ambiente ma anche per gli operatori del settore dei Beni Culturali.

CONCLUSIONI

La conservazione del patrimonio culturale richiede, oltre a una politica di riduzione dei livelli ambientali di inquinamento, anche una maggiore attenzione allo sviluppo di strategie di protezione innovative, efficaci, di lunga durata e poco costose. Nonostante nel nostro Paese esista una legislazione che preveda la programmazione della manutenzione dei Beni Culturali, in un'ottica di prevenzione del degrado, ad oggi non esistono strumenti di supporto decisionale, utili alla scelta degli interventi da realizzare.

La ricerca presentata in questo lavoro di tesi, condotta in maniera multidisciplinare, ha rispecchiato le linee guida del progetto "Smart Cities" che comprendono la collaborazione tra le varie unità operative e, come obiettivo comune, lo sviluppo di una piattaforma tecnologica basata su un sistema di "data storage" e un software di "governance", non solo per la conoscenza dello "stato" dei Beni Culturali, ma anche per la programmazione di attività di manutenzione e gestione degli interventi. Il sistema messo a punto ha inteso rappresentare un "Integrated Environmental System for Cultural Heritage" per consentire ai vari operatori l'aggiornamento costante sullo stato del bene, anche tramite l'acquisizione di dati sui fenomeni di degrado e sui fattori di impatto chimici, fisici e biologici.

In accordo a tale premessa, un importante risultato raggiunto, alla base dell'attività svolta nel corso del dottorato di ricerca, è stato certamente il confronto continuo con le diverse professionalità impegnate nel progetto. Il problema della conservazione e salvaguardia dei Beni Culturali deve essere, infatti, affrontato sotto diversi aspetti. Oltre all'importante inquadramento storico-culturale del manufatto, è fondamentale la comprensione delle complesse fenomenologie che interessano il suo degrado.

Le chiese rupestri nell'area dei Sassi di Matera, in particolare la chiesa di San Pietro Barisano e la chiesa Madonna dei Derelitti, hanno rappresentato due importanti casi di studio, per testare le potenzialità della piattaforma, che per la prima volta ha costituito una base conoscitiva per queste due "entità fragili" rappresentative della civiltà rupestre. Essendo le due chiese ricavate nella roccia calcarenitica, è stato evidente come le ricerche siano state indirizzate soprattutto allo studio del degrado dei materiali lapidei, valutato anche attraverso modelli matematici e indicatori meteo-climatici specifici.

Lo studio dei fenomeni di degrado condotto ha richiesto un approccio complesso vista la particolare costituzione del materiale lapideo e la presenza di estesi fenomeni di

contaminazione biologica sulle superfici, legate sia alla porosità della pietra che a particolari condizioni ambientali e microclimatiche.

In questo contesto, il principale contributo diagnostico è stato rappresentato dalle indagini chimico-analitiche condotte mediante spettroscopia fotoelettronica XPS, che si sono dimostrate utili sia per la possibilità di analizzare campioni in polvere, opportunamente prelevati dalle superfici degradate, sia per la rapidità dell'analisi che non prevede particolari trattamenti del campione. L'analisi qualitativa e semi-quantitativa, possibile con la tecnica XPS, ha permesso di associare composti chimici ai vari tipi di degrado e biodegrado lapideo. I risultati ottenuti, mediante procedura di curve-fitting delle regioni spettrali, hanno permesso di discriminare le differenti tipologie di degrado e di valutare l'efficacia dei relativi interventi di trattamento.

Un importante argomento della ricerca, relativo alla rimozione di macchie di ossido di ferro su materiali lapidei, come marmo e travertino, è stato approfondito nel corso dello stage sperimentale nel laboratorio di chimica analitica dell'Università di Roma 1. Il fenomeno delle macchie riguarda soprattutto manufatti lapidei esposti all'aria o all'umidità e a contatto con elementi metallici. La sperimentazione in questo campo è stata indirizzata verso composti non tossici in grado di chelare il ferro e allo stesso tempo non invasivi verso la matrice carbonatica. La scelta dei chelanti è stata fatta dopo un'accurata ricerca bibliografica al fine di trovare composti selettivi per il ferro, ed è ricaduta sul deferiprone e sul glutatione la cui efficacia è stata confrontata con uno dei chelanti tradizionali, come il tioglicolato di ammonio, che è stato preso solo come riferimento e non considerato per la sua tossicità.

La preparazione dei gel di supporto è stata ottimizzata nel corso del dottorato. I chelanti sono stati dispersi nel gel meglio performante, composto di PVA + alginato di sodio, e applicati sui provini macchiati di travertino e marmo di Carrara, ricoperti durante il trattamento da una pellicola di polietilene al fine di evitare l'essiccamento del gel stesso.

Dai risultati XPS ottenuti da prove ripetute su campioni di travertino, si è potuto constatare come i chelanti agissero in maniera soddisfacente. Purtroppo, come risulta dalle immagini SEM selezionate, a causa della porosità del travertino, porzioni di gel rimanevano intrappolate nel materiale, non permettendo una rimozione completa del ferro. Da qui la scelta di rivolgere l'attenzione ai provini di marmo di Carrara che presentavano una porosità minore rispetto al travertino. Le indagini in questa direzione, sempre su un numero rilevante di provini, hanno evidenziato come la rimozione delle macchie era efficace con entrambi i chelanti e, in modo particolare, con il deferiprone. Le

analisi SEM hanno confermato tale risultato, mostrando una rimozione superficiale quasi completa anche se, in alcuni casi, è stata valutata la necessità di un secondo trattamento. Dopo la sperimentazione in laboratorio, l'utilizzo del deferiprone supportato su gel è stato testato con successo su un manufatto reale contaminato da ossidi di ferro, metalli pesanti e inquinanti organici, come il basamento di una colonna della facciata della sede di Taranto del CNR – IRSA. Dopo il trattamento la superficie è apparsa visivamente pulita; tale risultato è stato confermato poi dalle indagini XPS.

Un ulteriore obiettivo della ricerca è stato quello di studiare l'efficacia di interventi di pulizia su patine biologiche presenti sia nell'ipogeo della chiesa di San Pietro Barisano, che all'interno della chiesa Madonna dei Derelitti. In questo ambito è stata fondamentale per le indagini biologiche la collaborazione con il Dipartimento di Biologia, Difesa e Biotecnologie Agro-forestali (DiCEM) dell'Università della Basilicata (Polo di Matera) e il Dipartimento di Scienze Chimiche e Fisiche dell'Università dell'Aquila per la sperimentazione di biocidi innovativi per la pulizia delle superfici biodegradate.

La strategia seguita nel lavoro è stata quella di porre l'attenzione su composti meno tossici e soprattutto di origine naturale. Nel caso dell'ipogeo di San Pietro Barisano, dove per particolari condizioni ambientali le pareti erano ricoperte da estese patine biologiche, si è sperimentato l'utilizzo di una miscela di due glicoalcaloidi, già testati nei laboratori di biologia, secondo le indicazioni procedurali fornite dal Dipartimento DiCEM dell'Unibas.

I glicoalcaloidi sono stati supportati su gel sperimentati in situ per rendere facile ed efficace la loro applicazione e rimozione. Importante anche in questo contesto, è stato il supporto della microscopia elettronica a scansione, effettuata presso i laboratori del CNR-IMAA di Tito Scalo (Potenza), che ha permesso di analizzare le caratteristiche delle superfici calcarenitiche trattate e, soprattutto, la contaminazione da specie fungine e microalghe. Interessanti sono state le immagini SEM ottenute nell'ipogeo, che hanno evidenziato come colonie fungine, anche in collaborazione con specie batteriche, siano capaci di produrre cristalli di carbonato di calcio, che alla fine possono consolidare la roccia calcarenitica all'interno della quale le ife fungine si sviluppano. Questo della produzione di cristalli di carbonato di calcio da parte di funghi è certamente un importante argomento da approfondire nel settore dei Beni Culturali, a dimostrazione che la valutazione di fenomeni di degrado sia un intreccio tra fattori abiotici e biotici. Per quanto riguarda, infine, la contaminazione fungina nell'ipogeo è opportuno sottolineare il possibile impatto sanitario sia su operatori che su visitatori.

I risultati della sperimentazione con glicocalcoloidi supportati su gel nell'ipogeo della chiesa di San Pietro Barisano, hanno evidenziato la maggiore efficacia del gel contenente tetraborato di sodio nel contrastare la ricrescita della patina biologica, anche per l'azione debolmente antisettica del borace. Nel caso della chiesa Madonna dei Derelitti, il prodotto sperimentato dal gruppo di lavoro dell'Università dell'Aquila, costituito da sodio dicloroisocianurato (NaDCC) disperso in idrogel e a rilascio controllato, si è rivelato di facile applicazione/rimozione ed efficace per la eliminazione di macchie biologiche al pari dei vari ipocloriti più tossici. In alcuni casi, viste le caratteristiche di porosità e di trattamenti precedenti delle pareti, si è ricorso a più di un intervento. I risultati delle analisi XPS, pre e post trattamento, hanno mostrato le buone capacità pulenti di questo biocida, con incremento della componente carbonatica delle superfici trattate e relativa diminuzione delle componenti organiche, in accordo con le analisi visive poste a confronto. Sia nel caso della chiesa della Madonna dei Derelitti che dell'ipogeo della chiesa di San Pietro Barisano, l'utilizzo dei gel di supporto ai biocidi ha permesso, in genere, di raggiungere punti di difficile trattamento delle superfici e di rimuovere anche la contaminazione organica prodotta dall'azione biocida sui microorganismi. È importante sottolineare però come i vari biocidi abbiano avuto tempi di applicazione differenti e come la scelta del supportante sia stata valutata anche in base al tempo di trattamento e alle caratteristiche della superficie.

Infine, sempre nell'ambito della collaborazione con l'Università di Roma 1, nell'ottica di messa a punto di metodologie di pulizia a base di prodotti naturali, è stato condotto uno studio sperimentale su due proteine aventi capacità chelanti nei confronti del ferro, l'Ovotransferrina (Ovt) e la Lattotransferrina (Ltf), estratte dalle matrici naturali (latte e uova) e intrappolate nella polpa di cellulosa utilizzata come supporto. La procedura, alternativa all'uso dei chelanti glutatione e deferiprone, si è rivelata efficace con entrambe le proteine, anche se l'ottimizzazione delle condizioni operative, i protocolli di trattamento e le procedure di estrazione sono ancora da migliorare. In ogni caso, i risultati preliminari ottenuti in laboratorio su provini macchiati di marmo di Carrara sono abbastanza incoraggianti, sia per la selettività delle due proteine nei confronti del ferro rispetto al calcio della matrice carbonatica, condizione necessaria per la pratica applicazione, sia per l'attività antimicrobica riconosciuta *in vivo* alle due proteine. Infatti, in previsione di applicazioni su campioni reali, le analisi XPS pre- e post- trattamento, hanno confermato la duplice utilità della procedura proposta, facilitata anche dall'azione del supporto di polpa di cellulosa, per la rimozione (anche meccanica) della patina

organica che può depositarsi su superfici lapidee esposte a contaminazione atmosferica e sovrastare le macchie di ruggine.

In conclusione, il lavoro di tesi, molto articolato nelle sue attività, ha dimostrato come importante sia l'intersezione tra le varie indagini chimiche, biologiche e strutturali, oltre allo studio di nuovi materiali innovativi e procedure di trattamento e conservazione rispettose dell'ambiente e della salute umana. A tale proposito, nell'ambito del progetto "Smart Cities", i risultati scientifici acquisiti hanno rappresentato un utile base conoscitiva anche per la scelta, da parte delle unità operative del progetto, di materiali per il consolidamento delle superfici lapidee degradate. Le esperienze e le attività condotte in laboratorio e soprattutto "*in situ*" nelle due chiese rupestri oggetto di studio, hanno prodotto una consistente mole di dati che, razionalizzati e inseriti nella piattaforma tecnologica, potranno rappresentare sia un supporto conoscitivo per la conservazione e valorizzazione di questo importante patrimonio culturale e paesaggistico, sia una guida da utilizzare per altri siti di studio.

Alcuni dei risultati ottenuti, relativi alla presente tesi di dottorato, sono stati presentati in diversi congressi e sono oggetto di pubblicazione, come di seguito evidenziato.

COMUNICAZIONI A CONGRESSI CON PUBBLICAZIONI DEGLI ATTI

1. **F. Cardellicchio**, A.M. Salvi: XPS study on the degradation of calcarenite stones of two rupestrian churches in the "Sassi" of Matera". Lavoro accettato al XIX Congresso Nazionale della Divisione di Chimica dell'Ambiente e dei Beni Culturali, Torino, 20 – 23 Giugno 2022.
2. **F. Cardellicchio**, E. Farinini, C. Malegori, R. Leardi, A.M. Salv, and P. Olivieri: A chemometric approach for the development of a new cleaning strategies of iron stains on Carrara marbles and its evaluation through image analysis. Lavoro accettato al XIX Congresso Nazionale della Divisione di Chimica dell'Ambiente e dei Beni Culturali, Torino, 20 – 23 Giugno 2022.
3. Campanella L., Dell'Aglio E., Reale R., **Cardellicchio F.**, Salvi A.M., Casieri C., Cerichelli G., Gabriele F., Spreti N., Bernardo G., Guida A., Porcari V.: Development of natural gels for cleaning the stone materials of cultural heritage from iron stains and biodeteriogenic microorganisms. XII International Conference

Diagnosis, Conservation and Enhancement of the Cultural Heritage. Naples 9-10 December 2021.

4. Bernardo G., Guida A., Porcari V., Campanella L., Dell'Aglio E., Reale R., **Cardellicchio F.**, Salvi A.M., Casieri C., Cerichelli G., Gabriele F., Spreti N.: New materials and diagnostic techniques to prevent and control calcarenite degradation. XII International Conference Diagnosis, Conservation and Enhancement of the Cultural Heritage. Naples 9-10 December 2021.
5. **F. Cardellicchio**, L. Campanella, E. Dell'Aglio, R. Reale, S.P. Nigro, F.Langerame, A.M. Salvi: Use of natural gels in the treatment of rusty stains in stone materials of cultural heritage, Atti XXVII Congresso Nazionale della Società Chimica Italiana 14-23 settembre 2021. ISBN 978-88-94952-24-7
6. **F. Cardellicchio**, S.M. Mang, L. Scrano, F. Langerame, S. Berlingieri, I. Camele, A.M. Salvi: Use of natural products for the microorganisms removal from stone church cultural heritage Atti XXVII Congresso Nazionale della Società Chimica Italiana, 14-23 settembre 2021. ISBN 978-88-94952-24-7.
7. Casieri C., Gabriele F., Spreti N., **Cardellicchio F.**, Scrano L., Salvi A.M.: Novel hydrogels for the selective removal of bio-contaminants from stone artworks. A case study: Rupestrian Church Madonna dei Derelitti in Matera. XI Congresso Nazionale AIAR, Napoli, 28-30 luglio 2021.
8. Luigi Campanella, **Francesco Cardellicchio**, Emanuele dell'Aglio, Rita Reale, Anna Maria Salvi: Innovative methodologies to remove stains from stone surfaces based on natural products, ECBSM 2020, 4th European Conference on Biodeterioration of Stone Monuments, November 5-6, 2020. file:///C:/Users/maria/Downloads/ECBSM2020-Program-Final2.pdf.
9. Laura Scrano, Rocco Laviano, Giacomo Eramo, Anna Maria Salvi., Matteo Santacroce, **Francesco Cardellicchio**, Sabino Aurelio Bufo: Extensive preventive diagnostics for biocleaning and bioconsolidation of two rupestrian churches. Atti

XXVIII Congress of the Analytical Chemistry Division, Bari 22 – 26 September 2019. ISBN: 978-88-94952-10-0.

ARTICOLI IN FASE DI PUBBLICAZIONE

Luigi Campanella, **Francesco Cardellicchio**, Emanuele Dell’Aglia, Rita Reale, Anna Maria Salvi. A green approach to clean iron stain from marble surfaces. In corso di pubblicazione su Heritage Science. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-1167704/v1>

PUBBLICAZIONI IN ATTI DI CONGRESSI

1. G. Bernardo, A. Guida, V. Porcari, L. Campanella, E. Dell’Aglia, R. Reale, **F. Cardellicchio**, A.M. Salvi, C. Casieri, G. Cerichelli, F. Gabriele, N. Spreti (2021) Culture Economy: Innovative strategies to sustainable restoration of artistic heritage. Part II - New materials and diagnostic techniques to prevent and control calcarenite degradation. Atti del Convegno: Diagnosis for the Conservation and Valorization of Cultural Heritage, Napoli, 9 - 10 dicembre 2021, Cervino Edizioni, 325–334. ISBN 978 88 95609 61
2. Campanella, E. Dell’Aglia, R. Reale, **F. Cardellicchio**, A.M. Salvi, C. Casieri, G. Cerichelli, F. Gabriele, N. Spreti, G. Bernardo, A. Guida, V. Porcari (2021) Culture Economy: Innovative strategies to sustainable restoration of artistic heritage. Part I - Development of natural gels for cleaning the stone materials of cultural heritage from iron stains and biodeteriogenic microorganisms. Atti del Convegno: Diagnosis for the Conservation and Valorization of Cultural Heritage, Napoli, 9 - 10 dicembre 2021, Cervino Edizioni, 313 – 324. ISBN 978 88 95609 61 4

ARTICOLI IN FASE DI ULTIMAZIONE

Paolo Olivieri, Riccardo Leardi, Cristina Malegori, **Francesco Cardellicchio**, Emanuele Farinini, Anna Maria Salvi. Titolo provvisorio: Automated evaluation of the cleaning efficiency of gel formulations for the removal of iron oxide fouling from white marbles: a comparison between multivariate image analysis and naked-eye evaluation. Possibile pubblicazione su Journal of Cultural Heritage.

Anna Maria Salvi, Ippolito Camele, **Francesco Cardellicchio**, Çağdaş Özdemir, Stefania Mang, Laura Scrano. Correlation between chemical composition by XPS and biological activities detected in the hypogeum of San Pietro Barisano(MT).

BIBLIOGRAFIA

Aasa R., Malmström B.G., Saltman P., Vänngård T. (1963) The specific binding of iron (III) and copper (II) to transferrin and conalbumin. *Biochimica et Biophysica Acta*, 75, 203-222. [https://doi.org/10.1016/0006-3002\(63\)90599-7](https://doi.org/10.1016/0006-3002(63)90599-7)

Abdallah, F. B., Chahine, J. M. (1999). Transferrins, the mechanism of iron release by ovotransferrin. *European Journal of Biochemistry*, 263(3), 912-920. <https://doi.org/10.1046/j.1432-1327.1999.00596.x>

Abdallah F.B., Chahine J.M.E.H. (2000) Transferrins: iron release from lactoferrin. *Journal of Molecular Biology*, 303(2), 255-266. <https://doi.org/10.1006/jmbi.2000.4101>

Abeyrathne E.D.N.S., Lee H.Y., Ham J.S., Ahn D.U. (2013) Separation of ovotransferrin from chicken egg white without using organic solvents. *Poultry Science*, 92(4), 1091-1097. <https://doi.org/10.3382/ps.2012-02654>

Accardo G., Altieri A., Cacace C., Giani E., Giovagnoli A. (2002) Risk map: a project to aid decision-making in the protection, preservation and conservation of Italian cultural heritage. *Conservation Science*, paper from the International Congress, Edinburgh 22-24 maggio 2002, 44-49.

Accardo G., Giani E., Giovagnoli A. (2003) The risk map of Italian cultural heritage. *Journal of Architectural Conservation*, 9 (2), 41-57. <https://doi.org/10.1080/13556207.2003.10785342>

Al Sinani S.S.S., Eltayeb E.A. (2017) The steroidal glycoalkaloids solamargine and solasonine in *Solanum* plants. *South African Journal of Botany*, 112, 253-269. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2017.06.002>

Albertano P., Urzì C. (1999) Structural Interactions among Epilithic Cyanobacteria and Heterotrophic Microorganisms in Roman Hypogea. *Microb. Ecol.*, 38, 244–252. <https://doi.org/10.1007/s002489900170>

Albertano P., Moscone D., Palleschi G., Hermosin B., Saiz-Jimenez C., Sanchez-Moral S., Hernandez-Marine M., Urzi C., Groth I., Schroeckh V., Saarela M., Mattila-Sandholm T., Gallon J.R., Graziottin F., Bisconti F., Giuliani R. (2003) Cyanobacteria attack rocks (CATS): control and preventive strategies to avoid damage caused by cyanobacteria and associated microorganisms in Roman hypogean monuments. Book: *Molecular biology and cultural heritage*, 151-162.

<https://doi.org/10.1201/9780203746578-20>

Alessandrini G., Toniolo L., Cariati F., Daminelli G., Polesello S., Pozzi A. (2013) A black paint on the facade of a renaissance building in Bergamo, Italy. *Studies in Conservation*, 41(4), 193-204. <https://doi.org/10.1179/sic.1996.41.4.193>.

Altschul S.F., Gish W., Miller W., Myers E.W., Lipman D.J. (1990) Basic local alignment search tool. *Journal of Molecular Biology*, 215(3), 403-410. [https://doi.org/10.1016/S0022-2836\(05\)80360-2](https://doi.org/10.1016/S0022-2836(05)80360-2)

Amodio M., Andriani E., De Gennaro G., Di Gilio A., Ielpo P., Placentino C.M., Tutino M. (2013) How a steel plant affects air quality of a nearby urban area: a study on metals and PAH concentrations. *Aerosol and Air Quality Research*, 13(2), 497-508. <https://doi.org/10.4209/aaqr.2012.09.0254>

Amodio M., De Gennaro G., Di Gilio A., Tutino M. (2014) Monitoring of the Deposition of PAHs and Metals Produced by a Steel Plant in Taranto (Italy). *Advances in Meteorology*, ID 598301, 10 pp. <https://doi.org/10.1155/2014/598301>

Ansari M.I., Schiwon K., Malik A., Grohman E. (2012) Biofilm Formation by Environmental Bacteria. *Environmental protection strategies for sustainable development*, Ed. Springer, Chapter 11: 341-367. https://doi.org/10.1007/978-94-007-1591-2_11

APAT (2006) L'impatto dell'inquinamento atmosferico sui beni di interesse storico-artistico esposti all'aperto, 74 pp.

Atherton I., Bosanquet S.D.S., Lawley M. (2010) Mosses and Liverworts of Britain and Ireland, A Field Guide. British Bryological Society, By: Atherton I., Bosanquet S.D.S., Lawley M. (Editors), 848 pp.

Baglioni P., Berti D., Bonini M., Carretti E., Dei L., Fratini E., Giorgi R. (2014) Micelle, microemulsions, and gels for the conservation of cultural heritage. *Adv. Colloid Interface Sci.*, 205, 361–371. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2013.09.008>

Baglioni P., Carretti E., Chelazzi D. (2015) Nanomaterials in art conservation. *Nat. Nanotechnol.*, 10, 287–290. <https://doi.org/10.1038/nnano.2015.38>

Baglioni P., Dei L., Carretti E., Giorgi R. (2009) Gels for the conservation of cultural heritage. *Langmuir*, 25, 8375–8377. <https://doi.org/10.1021/la900961k>

Balliana E., Ricci G., Pesce C., Zendri E. (2016) Assessing the value of green conservation for cultural heritage: positive and critical aspects of already available methodologies. *International Journal of Conservation Science*, Vol. 7, Special Issue 1: 185-202.

Bams V., Dewaelem S. (2007) Staining of white marble. *Materials Characterization*, 58 (11-12), 1052–1062. <https://doi.org/10.1016/J.MATCHAR.2007.05.004>

Barca D., Comite V., Belfiore C.M., Bonazza A., La Russa M.F., Ruffolo S.A., Crisci G.M., Pezzino A., Sabbioni C. (2014) Impact of air pollution in deterioration of carbonate building materials in Italian urban environments. *Applied Geochemistry*, 48, 122–131. <http://dx.doi.org/10.1016/j.apgeochem.2014.07.002>

Bartoli F., Municchia A.C., Futagami Y., Kashiwadani H., Moon K.H., Caneva G. (2014) Biological colonization patterns on the ruins of Angkor temples (Cambodia) in the biodeterioration vs bioprotection debate. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 96, 157-165. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ibiod.2014.09.015>

Beamson G., Briggs D. (1992) High resolution XPS of organic polymers, the scienta ESCA 300 Database, Wiley, Chichester, 295 pp. <https://doi.org/10.1002/adma.19930051035>

Bellucci, R., Cremonesi, P., Pignagnoli, G. (1999) A note on the use of enzymes in conservation. A preliminary report on the removal of aged acrylic resin coatings with Lipase. *Studies in Conservation*, 44 (4), pp. 278-281. <https://doi.org/10.1179/sic.1999.44.4.278>

Bernardo G., Guida A., Porcari V., Campanella L., Dell’Aglia E., Reale R., Cardelicchio F., Salvi A.M., Casieri C., Cerichelli G., Gabriele F., Spreti N. (2021) New materials and diagnostic techniques to prevent and control calcarenite degradation. XII International Conference Diagnosis, Conservation and Enhancement of the Cultural Heritage, Naples 9-10 December 2021.

Bigham J.M, Schwertmann U., Carlson L. (1992) Mineralogy of precipitates formed by the biogeochemical oxidation of Fe(II) in mine drainage. In *Biomineralization Processes of Iron And Manganese—Modern and Ancient Environments*. Skinner HCW, Fitzpatrick RW (Eds) *Catena Supplement* 21:219-232, Cremlingen-Destedt.

Blandino A., Macías M., Cantero D. (1999) Formation of calcium alginate gel capsules: Influence of sodium alginate and CaCl₂ concentration on gelation kinetics. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 88 (6), 686-689. [https://doi.org/10.1016/S1389-1723\(00\)87103-0](https://doi.org/10.1016/S1389-1723(00)87103-0)

Blazquez A.B., Lorenzo J., Flores M., Gómez-Alarcón G. (2000) Evaluation of the effect of some biocides against organisms isolated from historic monuments. *Aerobiologia*, 16, 423-428. <https://doi.org/10.1023/A:1026562407821>

Boccalon E., Nocchetti M., Pica M., Romani A., Sterflinger K. (2021). Hydrogels: a ‘stepping stone’ towards new cleaning strategies for biodeteriorated surfaces. *J. Cult. Herit.* 47, 1-11. <https://doi.org/10.1016/j.culher.2020.07.008>

Bonazza A., Messina P., Sabbioni C. Grossi C.M., Brimblecombe P. (2009) Mapping the impact of climate change on surface recession of carbonate buildings in Europe. *Science of Total Environment*, 407, 2039-2050.

<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2008.10.067>

Bonazza A., Messina P., Sabbioni C., Grossi C. M., Brimblecombe P. (2009) Mapping the impact of climate change on surface recession of carbonate buildings in Europe. *Science of Total Environment*, 407, 2039 – 2050.

<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2008.10.067>

Bonomo A.E., Amodio A.M., Prosser G., Sileo M., Rizzo G. (2020) Evaluation of soft limestone degradation in the Sassi UNESCO site (Matera, Southern Italy): loss of material measurement and classification. *Journal of Cultural Heritage*, 42, 191–201.

<https://doi.org/10.1016/j.culher.2019.07.017>

Bonomo A.E., Prosser G., Rizzo G., Sileo M. (2017) Degradation diagnosis on Gravina Calcarenite: classification and damage indexes on the Sassi di Matera site (Southern Italy). *Proceedings of IMEKO, International Conference on Metrology for Archaeology and Cultural Heritage*, Lecce, October 23-25, 401-406.

Boyd A., Chakrabarty A.M. (1995) *Pseudomonas aeruginosa* biofilms: role of the alginate exopolysaccharide. *Journal of Industrial Microbiology*, 15, 162–168 (1995).

<https://doi.org/10.1007/BF01569821>

Brandi C. (2005) *Theory of Restoration*. Istituto Centrale per il Restauro, Ed. Nardini Rome-Florence 157 pp.

Briggs D., Grant J.T. (2003) *Surface Analysis by Auger and X-ray Photoelectron Spectroscopy*. IM Publications, Chichester, U.K., 1901019047, 900 pp.

Briggs D., Seah M.P. (1990) *Practical Surface Analysis*. John Wiley & Sons, Chichester, ISBN 0-471-26279-X

Briggs D., Seah M.P. (1992) *Practical Surface Analysis*, John Wiley and Sons, Chichester, U.K. SEcond Edition, Vol. 2, 755 pp. [https://doi.org/10.1016/0042-207X\(94\)90087-6](https://doi.org/10.1016/0042-207X(94)90087-6)

Brimblecombe P. (2014) Refining climate change threats to heritage. *J. Inst. Conserv.*, 37, 85–93. <https://doi.org/10.1080/19455224.2014.916226>

Bruno L., Rugini L., Spizzichino V., Caneve L., Canini A., Ellwood N.T.W. (2019) Biodeterioration of Roman hypogea: the case study of the Catacombs of SS. Marcellino and Pietro (Rome, Italy). *Annals of Microbiology*, 69, 1023–1032. <https://doi.org/10.1007/s13213-019-01460-z>

Campanella L., Dell’Aglio E., Reale R., Cardellicchio F., Salvi A.M., Casieri C., Cerichelli G., Gabriele F., Spreti N., Bernardo G., Guida A., Porcari V. (2021) Development of natural gels for cleaning the stone materials of cultural heritage from iron stains and biodeteriogenic microorganisms. XII International Conference Diagnosis, Conservation and Enhancement of the Cultural Heritage, Naples 9-10 December 2021.

Camuffo D. (2019) *Microclimate for Cultural Heritage: Conservation, Restoration, and Maintenance of Indoor and Outdoor Monuments*. Book, Elsevier, Third Edition, 557 pp. <https://www.sciencedirect.com/book/9780444641069/microclimate-for-cultural-heritage>

Cappitelli F., Zanardini E., Ranalli G., Mello E., Daffonchio I., Sorlini C. (2006) Improved methodology for bioremoval of black crust on historical stone artworks by use of sulfate reducing bacteria. *Appl. and Environ. Microbiol.*, 72(5), 3733-3737. <https://doi.org/10.1128/AEM.72.5.3733-3737.2006>

Carbone M.E., Ciriello R., Guerrieri A., Salvi A.M. (2014) Poly(o-aminophenol) electrosynthesized onto platinum at acidic and neutral ph: comparative investigation on the polymers characteristics and on their inner and outer interfaces. *International Journal of Electrochemical Science*, 9, 2047-2066.

Cariati F., Rampozzi L., Toniolo L., Pozzi A. (2000) Calcium oxalate films on stone surface experimental assessment of the chemical formation. *Studies in Conservation*, 45(3), 180-188. <https://doi.org/10.1179/sic.2000.45.3.180>

Carretti E., Dei L., Weiss R.G., Baglioni P. (2008) A new class of gels for the conservation of painted surfaces. *Journal of Cultural Heritage*, 9, 386-393. <https://doi.org/10.1016/j.culher.2007.10.009>

Carretti E., Grassi S., Cossalter M., Natali I., Caminati G., Weiss R.G. Baglioni P., Dei L. (2009) Poly(vinylalcohol)-Borate Hydro/Cosolvent Gels: Viscoelastic Properties, Solubilizing Power, and Application to Art Conservation. *Langmuir*, 25(15), 8656–8662. <https://doi.org/10.1021/la804306w>

Casieri C., Gabriele F., Spreti N., Cardellicchio F., Scrano L., Salvi A.M. (2021) Novel hydrogels for the selective removal of bio-contaminants from stone artworks. A case study: Rupestrian Church Madonna dei Derelitti in Matera. XI Congresso Nazionale AIAR, Napoli, 28-30 luglio 2021.

Castle J.E., Chapman-Kpodo H., Proctor A., Salvi A.M. (2000) Curve-fitting in XPS using extrinsic and intrinsic background structure. *Journal of Electron Spectroscopy and Related Phenomena*, 106(1), 65-80. [https://doi.org/10.1016/S0368-2048\(99\)00089-4](https://doi.org/10.1016/S0368-2048(99)00089-4)

Castle J.E., Salvi A.M. (2001) Chemical state information from the near-peak region of the X ray photoelectron background. *J. Electron Spectrosc. Relat. Phenom.*, 114-116, 1103-1113. [https://doi.org/10.1016/S0368-2048\(00\)00305-4](https://doi.org/10.1016/S0368-2048(00)00305-4)

Cataldi T.R.I., Lelario F., Bufo S.A. (2005) Analysis of tomato glycoalkaloids by liquid chromatography coupled with electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Rapid Commun. Mass Spectrom*, 19 (21), 3103–3110. <https://doi.org/10.1002/rcm.2176>

Charola A.E. (2000) Salts in the Deterioration of Porous Materials: An Overview. *Journal of the American Institute for Conservation*, 39 (3) 327-343. <https://doi.org/10.1179/019713600806113176>

Charola A.E., Pühringer J., Steiger M. (2007) Gypsum: a review of its role in the deterioration of building materials. *Environmental Geology*, 52 (2), 339–352. <https://doi.org/10.1007/s00254-006-0566-9>

Christodoulakis J., Tzanis C., Varotsos C. A., Ferm M., Tidblad J. (2017) Impacts of air pollution and climate on materials in Athens, Greece, *Atmospheric Chemistry and Physics Discussion*. *Atmos. Chem. Phys.*, 17, 439–448. <https://doi.org/10.5194/acp-17-439-2017>

CIE Publication No. 116. *Industrial Color-Difference Evaluation (Technical Report)*. CIE Central Bureau, Vienna (1995).

CIE Publication No. 15.2. *Colorimetry (Technical Report)*. CIE Central Bureau, Vienna (1986).

CNR –ICR (1980) *Normal 3/80: Materiali lapidei: campionamento*. Roma, 6 pp.

CNR-ICR (1990) *Normal 1/88 “Alterazioni macroscopiche dei materiali lapidei: lessico”*. Roma, 17 pp.

Comite V., Pozo-Antonio J.S., Cardell C., Randazzo L., La Russa M.F., Fermo P. (2020) A multi-analytical approach for the characterization of black crusts on the facade of an historical cathedral. *Microchemical Journal*, 158, 105121. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2020.105121>

Cornell R.M., Schwertmann U. (2003) *The Iron Oxides Structure, Properties, Reactions, Occurrences and Uses*. Wiley-Vch Verlag GmbH & Co., 2nd Edition, 664 pp. <https://doi.org/10.1002/3527602097>

Coutinho M.L., Millerd A.Z., Macedo M.F. (2015) Biological colonization and biodeterioration of architectural ceramic materials: An overview. *Journal of Cultural Heritage*, 16 (5), 759–777. <http://dx.doi.org/10.1016/j.culher.2015.01.006>

Cushman M., Wolbers R. (2007) A New Approach to Cleaning Iron-Stained Marble Surfaces. WAAC Newsletter, 29(2), 23-28.

<https://cool.culturalheritage.org/waac/wn/wn29/wn29-2/wn29-205.pdf>

D.Lgs 155 (2010) Attuazione della direttiva 2008/50/CE relativa alla qualità dell'aria ambiente e per un'aria più pulita in Europa. Gazzetta Ufficiale n. 216, 15 settembre 2010, Suppl. Ordinario n. 217.

De France K.J., D'Emilio E., Cranston E.D., Geiger T., Nystrom G. (2020) Dual physically and chemically crosslinked regenerated cellulose – gelatin composite hydrogels towards art restoration. Carbohydr. Polym., 234, 115885. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.115885>

de la Fuente D., Vega J. M., Viejo F., Díaz I., Morcillo M. (2013) Mapping air pollution effects on atmospheric degradation of cultural heritage. Journal of Cultural Heritage, 14, 138–145. <https://doi.org/10.1016/j.culher.2012.05.002>

Della Torre S. (2021) Italian perspective on the planned preventive conservation of architectural heritage. Frontiers of Architectural Research, 10 (1), 108-116. <https://doi.org/10.1016/j.foar.2020.07.008>

Desferrioxamine. Doctoral thesis, 46 pp. URN: urn:nbn:se:umu:diva-46605

Di Carlo E., Chisesi R., Barresi G., Barbaro S., Lombardo G., Rotolo V., ... & Palla F. (2016) Fungi and bacteria in indoor Cultural Heritage environments: microbial-related risks for artworks and human health. Environment and Ecology Research, 4(5), 257-264. <https://doi.org/10.13189/eer.2016.040504>

E.B.C. s.r.l. (2020) Rapporto tecnico: campagna di monitoraggio della qualità dell'aria con utilizzo di laboratori mobili presso la Chiesa di San Pietro Barisano – Matera, 21 pp.

Faimon J., Stelcl J., Kubesov´a S., Zimak J. (2003) Environmentally acceptable effect of hydrogen peroxide on cave “lamp-flora”, calcite speleothems and limestones. Environ. Pollut., 122, 417–422. [https://doi.org/10.1016/S0269-7491\(02\)00309-3](https://doi.org/10.1016/S0269-7491(02)00309-3)

Fernandez R., Phillips S.F. (1982) Components of fiber bind iron in vitro. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 35 (1), 100-106. <https://doi.org/10.1093/ajcn/35.1.100>

Fewell A. M., Roddick J. G., Weissenberg M. (1994) Interactions between the glycoalkaloids solasonine and solamargine in relation to inhibition of fungal growth. *Phytochem.*, 37(4), 1007-1011. [https://doi.org/10.1016/s0031-9422\(00\)89518-7](https://doi.org/10.1016/s0031-9422(00)89518-7).

Fewell A.M., Roddick J.G. (1993) Interactive antifungal activity of the glycoalkaloids α -solanine and chaconine. *Phytochem.*, 33, 323-328. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(93\)85511-O](https://doi.org/10.1016/0031-9422(93)85511-O)

Fidanza M.R., Caneva G. (2019) Natural biocides for the conservation of stone cultural heritage: A review. *Journal of Cultural Heritage*, 38, 271-286. <https://doi.org/10.1016/j.culher.2019.01.005>

Frenier W.W., Growcock F.B. (1984) Mechanism of Iron Oxide Dissolution. A Review of Recent Literature. *Corrosion—Nace*, 40 (12), 663-668. <https://doi.org/10.5006/1.3593905>

Gabriele F., Tortora M., Bruno L., Casieri C., Chiarini M., Germani R., Spreti N. (2021) Alginate-biocide hydrogel for the removal of biofilms from calcareous stone artworks. *Journal of Cultural Heritage* 49, 106–114. <https://doi.org/10.1016/j.culher.2021.02.009>

Gabriele F., Tortora M., Bruno L., Casieri C., Chiarini M., Germani R., Spreti N. (2021b) Alginate-biocide hydrogel for the removal of biofilms from calcareous stone artworks. *Journal of Cultural Heritage*, 49, 106–114. <https://doi.org/10.1016/j.culher.2021.02.009>

Gabriele F., Vetrano A., Bruno L., Casieri C., Germani R., Rugnini L., Spreti N. (2021a) New oxidative alginate-biocide hydrogels against stone biodeterioration. *International, Biodeterioration & Biodegradation*. 163, 105281. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2021.105281>

Gadd G. M., Bahri-Esfahani J., Li Q., Rhee Y. J., Wei Z., Fomina M., Liang X. (2014) Oxalate production by fungi: significance in geomycology, biodeterioration and bioremediation. *Fungal Biology Reviews*, 28(2-3), 36-55.

<https://doi.org/10.1016/j.fbr.2014.05.001>

Galert W., Hassold E. (2021) Environmental Risk Assessment of Technical Mixtures Under the European Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals-A Regulatory Perspective. *Integr. Environ. Assess. Manag.*,17(3),498-506.

<https://doi.org/10.1002/ieam.4393>

Garcia-Vallès M., Vendrell-Saz M., Molera J., Blazquez F. (1998) Interaction of rock and atmosphere: patinas on Mediterranean monuments. *Environmental Geology*, 36, 137-149. <https://doi.org/10.1007/s002540050329>.

Gervais C, Grissom C.A., Little N., Wachowiak M.J. (2010) Cleaning marble with ammonium citrate. *Studies in Conserv.*, 55(3), 164–76.

<https://doi.org/10.1179/sic.2010.55.3.164>

Ghany T.M.A., Omar A.M., Elwkeel F.M., Al Abboud M.A., Alawlaqi M.M. (2019) Fungal deterioration of limestone false-door monument. *Heliyon*, 5 (10), e02673.

<https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e02673>

Giansanti F., Leboffe L., Angelucci F., Antonini G. (2015) The nutraceutical properties of ovotransferrin and its potential utilization as a functional food. *Nutrients*, 7(11), 9105-9115. <https://doi.org/10.3390/nu7115453>

Giansanti F., Panella G., Leboffe L., Antonini G. (2016) Lactoferrin from milk: nutraceutical and pharmacological properties. *Pharmaceuticals (Basel)*, 9(4), 61.

<https://doi.org/10.3390/ph9040061>

Graat P.C.J., Somers M.A.J. (1996) Simultaneous determination of composition and thickness of thin iron oxide films from XPS Fe2p spectra. *Applied Surface Science*, 100-101, 36-40. [https://doi.org/10.1016/0169-4332\(96\)00252-8](https://doi.org/10.1016/0169-4332(96)00252-8)

Guilbaud R., White M.L., Poulton S.W. (2013) Surface charge and growth of sulphate and carbonate green rust in aqueous media. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 108, 141–153. <https://doi.org/10.1016/j.gca.2013.01.017>

Hamed M.Y., Silver J., Wilson M.T. (1983) Studies of the Reactions of Ferric Iron with Glutathione and some Related Thiols. *Inorganica Chimica Acta*, 80, 237-244. [https://doi.org/10.1016/S0020-1693\(00\)91289-1](https://doi.org/10.1016/S0020-1693(00)91289-1)

Hatcher H.C., Singh R.N., Torti F.M., Torti S.V. (2009) Synthetic and natural iron chelators: therapeutic potential and clinical use. *Future Med. Chem.*, 1(9), 1643-70. <https://doi.org/10.4155/fmc.09.121>.

Hecht H, Srebnik S. (2016) Structural Characterization of Sodium Alginate and Calcium Alginate. *Biomacromolecules*, 17(6), 2160–2167. <https://doi.org/10.1021/acs.biomac.6b00378>.

Heling I., Rotstein I., Dinur T., Szwec-Levine Y., Steinberg D. (2001) Bactericidal and cytotoxic effects of sodium hypochlorite and sodium dichloroisocyanurate solutions in vitro. *J. Endod.*, 27, 278–280. <https://doi.org/10.1097/00004770-200104000-00009>

Hide R.C., Kong X.L. (2011) Glutathione: a key component of the cytoplasmic labile iron pool. *BioMetals*, 24, 1179–1187. <https://doi.org/10.1007/s10534-011-9476-8>

Hider R.C., Hoffbrand A.V. (2018) The Role of Deferiprone in Iron Chelation. *New England Journal of Medicine*, 379, 2140-2150. <https://doi.org/10.1056/NEJMra1800219>

Hirose M. (2000) The structural mechanism for iron uptake and release by transferrins. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, 64(7), 1328-1336. <https://doi.org/10.1271/bbb.64.1328>

Hueck H.J. (1965) The biodeterioration of materials as a part of Hylobiology. *Mater. Org.*, 1, 5-34. <http://resolver.tudelft.nl/uuid:cd2e06b7-2a61-4685-96b9-08a490c6e2c0>

ISO 15686-1 (2011) Buildings and constructed assets, Service life planning, Part 1: General principles and frame work. 21 pp. <https://www.iso.org/standard/45798.html>

ISPRA (2017) Inquinamento atmosferico e beni culturali: effetti sui materiali a Roma. Rapporti 270/2017 55 pp.
https://www.isprambiente.gov.it/files2017/pubblicazioni/rapporto/R_270_17.pdf

Istituto Centrale del Restauro (ICR) (1988) Normativa Materiali Lapidei (NORMAL) 1/88. Roma, 36 pp.

Kakakhel M.A., Wu F., Gu J.D., Feng H., Shah K., Wang W. (2019) Controlling biodeterioration of cultural heritage objects with biocides: a review. *Int. Biodeterior. Biodegrad.*, 143, 104721. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2019.104721>

Kell D.B., Heyden E.L., Pretorius E. (2020) The biology of lactoferrin, an iron-binding protein that can help defend against viruses and bacteria. *Front Immunol.*, 11: 1221. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.01221>

Keukens E.A., de Vrije T., van den Boom C., de Waard P., Plasman H.H., Thiel F., Chupin V., Jongen W.M., de Kruijff B. (1995) Molecular basis of glycoalkaloid induced membrane disruption. *Biochim. Biophys. Acta*, 1240 (2), 216-28. [http://dx.doi.org/10.1016/0005-2736\(95\)00186-7](http://dx.doi.org/10.1016/0005-2736(95)00186-7).

Kremenetskaya I.P., Korytnaya O.P., Vasileva T.N., Belyaevskii A.T. (2007) Reactions of Calcite and Dolomite with Iron (III) Sulfate Solutions. *Russian Journal of Applied Chemistry*, 80 (10), 1592–1596. <https://doi.org/10.1134/S1070427207100023>

Kucera V., Henriksen J., Knotkova D., Sjöström C. (1993) Model for calculations of corrosion costs caused by air pollution and its applications in three cities. Progress in the understanding and prevention of corrosion. Papers presented at the 10th European Corrosion Congress, Barcelona, Vol. 1, 24-32.

Kucera V., Tidblad J., Kreislova K., Knotkova D., Faller M., Reiss D., Sneath R., Yates T., Henriksen J., Schreiner M., Melcher M., Ferm M., Lefèvre R-A., Kobus J.

(2007) UN/ECE ICP materials dose-response functions for the multi-pollutant situation. *Water, Air, and Soil Pollution: Focus*, 7(1-3), 249-258. <https://doi.org/10.1007/s11267-006-9080-z>

Kuz'Mina M. A., Rusakov A. V., Frank-Kamenetskaya O. V., Vlasov D. Y. (2019) The influence of inorganic and organic components of biofilms with microscopic fungi on the phase composition and morphology of crystallizing calcium oxalates. *Crystallography Reports*, 64(1), 161-167. <https://doi.org/10.1134/S1063774519010176>

La Russa M.F., Belfiore C.M., Comite V., Barca D., Bonazza A., Ruffolo S.A., Crisci G.M., Pezzino A. (2013) Geochemical study of black crusts as a diagnostic tool in cultural heritage. *Applied Physics A-Materials Science & Processing*, 113, 151–1162. <https://doi.org/10.1007/s00339-013-7912-z>

Langerame, F., Lovaglio, T., Reale, R., Salvi, A.M., Sammartino, M.P., Visco, G. (2016) Ironstains on carbonatic stones: XPS investigation on corrosion–induced deterioration. *Book of contributions to ISA*, 54-55.

Legrand L., Mazerolles L., Chausse A. (2004) The oxidation of carbonate green rust into ferric phases: solid-state reaction or transformation via solution. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 68 (17), 3497–3507. <https://doi.org/10.1016/j.gca.2004.02.019>

Lelario F., Scrano L., De Franchi S., Bonomo M.G., Salzano G., Milan S., Milella L., Bufo S.A. (2018) Identification and antimicrobial activity of most representative secondary metabolites from different plant species. *Chem. Biol. Technol. Agric.*, 5:13, 12pp. <https://doi.org/10.1186/s40538-018-0125-0>.

Leplat J., François A., Bousta F. (2020) *Parengyodontium album*, a frequently reported fungal species in the cultural heritage environment. *Fungal Biology Reviews*, 34 (3) 126-135. <https://doi.org/10.1016/j.fbr.2020.06.002>

Leussing D.L., Kolthoff I.M. (1953) Iron-Thioglycolate Complexes. *Journal of American Chemical Society*, 75(16), 3904-3911. <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/ja01112a009>

Lipfert F.W. (1989) Atmospheric damage to calcareous stones: comparison and reconciliation of recent experimental findings. *Atmos. Environ.*, 23, 415–429. [https://doi.org/10.1016/0004-6981\(89\)90587-8](https://doi.org/10.1016/0004-6981(89)90587-8)

Macchia A, Sammartino MP, Tabasso ML. (2011) A new method to remove copper corrosion stains from stone surfaces. *J. Archaeol. Sci.*, 38, 1300–7. <https://doi.org/10.1016/j.jas.2011.01.005>

Macchia A., Ruffolo S.A., Rivaroli L., La Russa M.F. (2016) The treatment of iron-stained marble: toward a “green” solution. *International Journal of Conservation Science*, 7 (1), 323-332. <https://www.researchgate.net/publication/299843193>

Mang S., Scrano L., Camele I. (2020) Preliminary Studies on Fungal Contamination of Two Rupestrian Churches from Matera (Southern Italy). *Sustainability*, 12 (17), 6988; 13 pp. <https://doi.org/10.3390/su12176988>

Martin G., Guggiari M., Bravo D., Zopfi J., Cailleau G., Aragno M., Job D., Verrecchia E., Junier P. (2012) Fungi, bacteria and soil pH: the oxalate-carbonate pathway as a model for metabolic interaction. *Environ. Microbiol.*, 14(11), 2960-70. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2012.02862.x>.

Matero F.G., Tagle A.A. (1995) Cleaning, iron stain removal and surface repair of architectural marble and crystalline limestone: the metropolitan club. *Journal of the American Institute for Conservation*, 34(1), 49-68. <https://doi.org/10.2307/3179435>

Milner S.E., Brunton N.P., Jones P.W., O'Brien N.M., Collins S.G., Maguire A.R. (2011) Bioactivities of glycoalkaloids and their aglycones from *Solanum* species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59, 3454–3484. <https://doi.org/10.1021/jf200439q>.

MULTI-ASSESS Project, Model for multi-pollutant impact and assessment of threshold levels for cultural heritage. Deliverable 02, Final Report (2007). <http://www.corr-institute.se/MULTI-ASSESS>.

Munoz Vinas S. (2015) Who is Afraid of Cesare Brandi? Personal reflections on the Teoria del Restauro. *CeROArt: Conservation, Exposition, Restauration d'Objets d'Art*, 12 pp. <https://doi.org/10.4000/ceroart.4653>

Negi A., Sarethy I.P. (2019) Microbial Biodeterioration of Cultural Heritage: Events, Colonization, and Analyses. *Microb. Ecol.*, 78(4), 1014–1029. <https://doi.org/10.1007/s00248-019-01366-y>

NIST X-ray Photoelectron Spectroscopy Database 20, Version 4.1, 2012. <https://srdata.nist.gov/xps/default.aspx>.

Nordstrom D.K. (1982) Aqueous pyrite oxidation and the consequent formation of secondary minerals. In Book: *Acid Sulfate Weathering*, Publisher: Soil Science Society of America Editors: Kittrick JA, Fanning DS, Hosner LR, Chapter 3, 37-56. <https://doi.org/10.2136/sssaspecpub10.c3>

Obidi O., Okekunjo F. (2017) Bacterial and fungal biodeterioration of discolored building paints in Lagos, Nigeria. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 33(11), 196, 6pp. <https://doi.org/10.1007/s11274-017-2362-y>

Parkar D.R., Jadhav R.N., Pimpliskar M.R. (2016) Extraction and Characterization of Lactoferrin from Commercial Milk. *International Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Research*, 6 (2), 355-361.

Pauly B.D., Schiffman P., Zierenberg R.A., Clague D.A. (2011) Environmental and chemical controls on palagonitization. *Geochemistry, Geophysics, Geosystems*, 12 (12), 1-26. <https://doi.org/10.1029/2011GC003639>

Pinna D, Galeotti M, Rizzo A. (2015) Brownish alterations on the marble statues in the church of Orsanmichele in Florence: what is their origin? *Herit. Sci.* 3(7), 13 pp. <https://doi.org/10.1186/s40494-015-0038-1>

Pirazzoli N. (1988) *Le diverse idee di restauro*. Edizioni Essegi, 123 p.

Polo A., Cappitelli F., Brusetti L., Principi P., Villa F., Giacomucci L., Ranalli G., Sorlini C. (2010) Feasibility of Removing Surface Deposits on Stone Using Biological and Chemical Remediation Methods, *Microbial Ecology*, 60 , 1–14 .
<https://doi.org/10.1007/s00248-009-9633-6>.

Pozo-Antonio J.S., Rivas T., L´opez A.J., Fiorucci M.P., Ramil A. (2016) Effectiveness of granite cleaning procedures in cultural heritage: a review. *Sci. Total Environ.*, 571, 1017–1028. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.07.090>

Rani P., Khullar N. (2003) Antimicrobial evaluation of some medicinal plants for their anti-enteric potential against multi-drug resistant *Salmonella typhi*. *Phytother Res.* 18 (2), 670-673. <https://doi.org/10.1002/ptr.1522>

Reale R. (2017) Chromatic alterations of carbonate stone materials: study of stains induced by coexistence with ferrous materials and innovative methods for their removal. PhD thesis: 227 pp. <https://iris.uniroma1.it/handle/11573/1022194#.YYbSZ2DMKuk>

Roddick J.G., Rijnenberg A.L., Weissenberg M. (1990) Membrane-disrupting properties of the steroidal glycoalkaloids solasonine and solamargine. *Phytochemistry*, 29 (5), 1513-1518. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(90\)80111-S](https://doi.org/10.1016/0031-9422(90)80111-S)

Romeu F.V., Silva V.M. (2019) Review of environmental and air pollution impacts on built heritage: 10 questions on corrosion and soiling effects for urban intervention. *Journal of Cultural Heritage*, 37, 273-295. <https://doi.org/10.1016/j.culher.2018.11.006>

Rousk K., Jones D.L., Deluca T.H. (2013) Moss-cyanobacteria associations as biogenic sources of nitrogen in boreal forest ecosystems. *Front. Microbiol.*, 4:150, pp 10. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2013.00150>

Rovella N., Aly N., Comite V., Randazzo L., Fermo P., Barca D., de Buergo M.A., La Russa M.F. (2021) The environmental impact of air pollution on the built heritage of historic Cairo (Egypt). *Science of the Total Environment*, 764, 142905. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.142905>

Rueda E.H., Ballesteros M.J., Grassi R.L. (1992) Dithionite as a dissolving reagent for goethite in the presence of EDTA and citrate. Application to soil analysis. *Clays and Clay Miner*, 40(5), 575–85.

Ruffolo S.A., Comite V., La Russa M.F., Belfiore C.M., Barca D., Bonazza A., Crisci G.M., Pezzino A., Sabbioni C. (2015) An analysis of the black crusts from the Seville Cathedral: A challenge to deepen the understanding of the relationships among microstructure, microchemical features and pollution sources. *Science of the Total Environment*, 502, 157–166. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.09.023>

Ruga L., Orlandi F., Fornaciari M. (2019) Preventive Conservation of Cultural Heritage: Biodeteriogens Control by Aerobiological Monitoring. *Sensors*, 19, 3647. <https://doi.org/10.3390/s19173647>

Ruskin J. (2021) *Le sette lampade dell'architettura*. Traduzione Renzo Pivetti, Jaca Book, 260 pp.

Salvi A.M., Langerame F., Macchia A., Sammartino M.P., Tabasso M.L. (2012) XPS characterization of (copper-based) coloured stains formed on limestone surfaces of outdoor Roman monuments. *Chemistry Central Journal*, 6 (2), S10. <https://doi.org/10.1186/1752-153X-6-S2-S10>

Sasso S., Miller A.Z., Rogerio-Candelera M.A., Cubero B., Coutinho M.L., Scrano L., Bufo S.A. (2016) Potential of natural biocides for biocontrolling phototrophic colonization on limestone. *Int. Biodeter. Biodegr.*, 107, 102–110. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ibiod.2015.11.017>

Sasso S., Miller A.Z., Rogerio-Candelera M.A., Laiz L., Scrano L., Bufo S.A., Saiz-Jimenez C. (2014) Tertiary bioreceptivity of Hontoria limestone: assessment of secondary metabolites as natural biocides. In Rogerio-Candelera M.A. (Ed.), *Science, Technology and Cultural Heritage - Proceedings of the 2nd International Congress on Science and Technology for the Conservation of Cultural heritage*, Taylor & Francis Group, London (UK), 185–190. <http://dx.doi.org/10.13140/2.1.3796.1281>

Sasso S., Scrano L., Bonomo M.G., Salzano G., Bufo S. A. (2013) Secondary metabolites: applications on cultural heritage. *Commun. Agr. Appl. Biol.Sci.*, 78(2), 101-108.

Sasso S., Scrano L., Ventrella E., Bonomo M.G., Crescenzi A., Salzano G., Bufo S.A. (2013) Natural biocides to prevent the microbial growth on cultural heritage. In Boriani M., Gabaglio R., Gulotta D. (Eds.), *Proceedings of the Conference Built Heritage - Monitoring Conservation and Management*, Milan, Italy, 1035–1042. <https://doi.org/10.13140/RG.2.1.3871.4329>

Schwertmann U. (1991) Solubility and dissolution of iron oxide. *Plant and Soil*, 130 (1), 1–25. <https://doi.org/10.1007/BF00011851>

Schwertmann U., Fechter A.H. (1994) The formation of green rust and its transformation to lepidocrocite. *Clay Minerals*, 29, 87-92. <http://dx.doi.org/10.1180/claymin.1994.029.1.10>

Scrano L., Fraddosio-Boccone L., Langerame F., Laviano R., Adamski Z., Bufo S.A. (2011) Application of different methods of surface analysis for the early diagnosis of art stone (calcarenite) deterioration. *Karaelmas Science and Engineering Journal*, 1 (2), 1-14. <https://doi.org/10.7212/zkufbd.v1i2.53>

Scrano L., Laviano R., Salzano G., Santacroce M., De Franchi S.A., Baranek J., Bufo S.A. (2020) Natural biocides and bio-calcite: innovative tools for cultural heritage. *Heritech 2020 IOP Conf. Series: Materials Science and Engineering* 949, 012096, 10 pp. <https://doi.org/10.1088/1757-899X/949/1/012096>

Shamim S., Ahmed S.W., Azhar I. (2004) Antifungal activity of allium, aloe, and Solanum species. *Pharm. Biol.*, 42(7), 491-498. <https://doi.org/10.3109/13880200490891845>

Silva R. (1983) The Significance of the Venice International Charter for the Conservation and Restoration of Monuments and Sites, with Special Reference to Eastern Countries. Icomos.org, 40-44.

<https://www.icomos.org/venicecharter2004/silva.pdf>

Simanova A. (2011) Molecular perspectives on goethite dissolution in the presence of oxalate and desferrioxamine-B. Doctoral tesi, 46 pp. <http://umu.diva-portal.org/smash/record.jsf?pid=diva2%3A439370&dswid=4583>

Sjöberg E.L. (1976) A fundamental equation for calcite dissolution kinetics. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 40 (4), 441-447. [https://doi.org/10.1016/0016-7037\(76\)90009-0](https://doi.org/10.1016/0016-7037(76)90009-0)

Slaton D., Normandin K.C. (2005) Masonry Cleaning Technologies. Overview of Current Practice and Techniques. *Journal of Architectural Conservation*, 11(3), 7-31. <https://doi.org/10.1080/13556207.2005.10784950>

Spagnuolo A., Vetromile C., Masiello A., Alberghina M.F., Schiavone S., Lubritto C. (2019) Climate and Cultural Heritage: The Case Study of Real Sito di Carditello. *Heritage*, 2, 2053–2066. <https://doi.org/10.3390/heritage2030124>

Spile S., Suzuki T., Bendix J., Simonsen K.P. (2016) Effective cleaning of rust stained marble. *Herit. Sci.*, 4:12, 10 pp. <https://doi.org/10.1186/s40494-016-0081-6>

Stambolov T., Van Rheedem B. (1968) Note on the removal of rust from old iron with thioglycolic acid. *Studies in Conservation*, 13(3), 142-144.

<https://doi.org/10.2307/1505318>

Steiger M., Charola A.E., Sterflinger K. (2011) *Weathering and Deterioration in Stone in Architecture*, Springer ed., 227-316. https://doi.org/10.1007/978-3-642-14475-2_4

Sterflinger K., Piñar G. (2013) Microbial deterioration of cultural heritage and works of art — tilting at windmills? *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 97, 9637–9646. <https://doi.org/10.1007/s00253-013-5283-1>

Stipp S.L., Hochella M.F. Jr (1991) Structure and bonding environments at the calcite surface as observed with X-Ray photoelectron spectroscopy (XPS) and low energy electron diffraction (LEED). *Geochimica Acta*, 55(6), 1723-1736. [https://doi.org/10.1016/0016-7037\(91\)90142-R](https://doi.org/10.1016/0016-7037(91)90142-R)

Stumm W., Furrer G. (1987) The dissolution of oxide and aluminium silicates: examples of surface-coordination-controlled kinetics. *Aquatic Surface Chemistry*, J. Wiley and Sons, New York, 197-219.

Superti F., Ammendolia M.G., Berlutti F., Valenti P. (2007) Ovotransferrin. In: Huopalahti R., López-Fandiño R., Anton M., Schade R. (eds): *Bioactive Egg Compounds*. Springer, Berlin, Heidelberg, 43-50. https://doi.org/10.1007/978-3-540-37885-3_7

Tab Consulting S.r.l. (2019) Rapporto tecnico finale del progetto di ricerca “Smart City”: Innovazione di prodotto e di processo per una manutenzione, conservazione e restauro sostenibile e programmato del patrimonio culturale. 242 pp.

Thawabteh A., Juma S., Bader M., Karaman D., Scrano L., Bufo S.A., Karaman R. (2019) The biological activity of natural alkaloids against herbivores, cancerous cells and pathogens. *Toxins*, 11, 656; 28 pp. <https://doi.org/10.3390/toxins11110656>

Thorn A. (2005) Treatment of heavily iron-stained limestone and marble sculpture. In: Verger I, James J, editors. *ICOM Committee for Conservation 14th Triennial Meeting*, vol. 2. Copenhagen: ICOM Publications. 888–94.

Thorn, A. (1993) The Impact of Disodium EDTA on Stone. *ICOM Committee for Conservation tenth triennial meeting*, Washington, 357-363.

Tidblad J., Kucera V., Ferm M., Kreislova K., Brüggerhoff S., Doytchinov S., Screpanti A., Grøntoft T., Yates T., de la Fuente D., Roots O., Lombardo T., Simon S., Faller M., Kwiatkowski L., Kobus J., Varotsos C., Tzanis C., Krage L., Schreiner M., Melcher M., Grancharov I., Karmanova N. (2012) Effects of air pollution on materials and cultural heritage: ICP Materials Celebrates 25 Years of Research Atmospheric International

Journal of Corrosion, Vol. 2012, Article ID 496321, 16 pp.
<https://doi.org/10.1155/2012/496321>

Torrent J., Barrón V. (2002) Diffuse reflectance spectroscopy of iron oxides. Encyclopedia of surface and Colloid Scienc, CRC Press 1, 1438-1446.

Torsello B.P. (2005) Che cos'è il restauro? - Nove studiosi a confronto, Venezia, Marsilio Editori, 159 pp.

Tzani C., Varotsos C., Ferm M., Christodoulakis J., Assimakopoulos M. N., Efthymiou C. (2009) Nitric acid and particulate matter measurements at Athens, Greece, in connection with corrosion studies, Atmospheric Chemistry and Physics, 9, 8309–8316.
<https://doi.org/10.5194/acp-9-8309-2009>

U.N. - WGE (2009) Review of air pollution effects. Indicators and targets for air pollution effects. Report to the 28th session of the Working Group on Effects, UN-ECE Convention on Long range Transboundary Air Pollution, Geneva, Switzerland. ECE/EB.AIR/WG.1/2009/16, 12 pp.
[file:///C:/Users/maria/Downloads/\[E_\]ECE_EB.AIR_WG.1_2009_16-EN.pdf](file:///C:/Users/maria/Downloads/[E_]ECE_EB.AIR_WG.1_2009_16-EN.pdf)

UNI 10829 (1999) Beni di interesse storico e artistico - Condizioni ambientali di conservazione - Misurazione ed analisi.

UNI 10921 (2001) Beni culturali – Materiali lapidei naturali ed artificiali – Prodotti idrorepellenti – Applicazione su provini e determinazione in laboratorio delle loro caratteristiche ICS: [91.100.15]. <http://www.ari-restauro.org/index.php/uni-normal/>

UNI EN 15757 (2010) Conservazione dei Beni Culturali - Specifiche concernenti la temperatura e l'umidità relativa per limitare i danni meccanici causati dal clima ai materiali organici igroscopici.

UNI EN 16242 (2013) Conservazione dei beni culturali - Procedure e strumenti per misurare l'umidità dell'aria e gli scambi di vapore tra l'aria e i beni culturali

UNI EN ISO 11664-2 Part 2, (2007) CIE standard illuminants, International Organization for Standardization, 14 pp.

Urzì C., De Leo F., Krakova L., Pangallo D., Bruno L. (2016) Effects of biocide treatments on the biofilm community in Domitilla's catacombs in Rome. *Science of the Total Environment*, 572, 252-262. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.07.195>

Urzì C., Albertano P. (2001) Studying phototrophic and heterotrophic microbial communities on stone monuments, in Doyle R.J (Eds.). *Method Enzimol.*, 336, 340-355.

Van Grieken R., Delalieux F., Gysels K. (1998) Cultural heritage and the environment. *Pure and Applied Chemistry*, 70 (12), 2327-2331. <https://doi.org/10.1351/pac199870122327>

Varadachari C., Goswami G., Ghosh K. (2006) Dissolution of Iron Oxides. *Clay Research*, 25, 1-19.

Ventrella E., Marciniak P., Adamski Z., Rosinski G., Chowanski S., Falabella P., Scrano L., Bufo S.A. (2015) Cardioactive Properties of Solanaceae Plant Extracts and Pure Glycoalkaloids on *Zophobas Atratus* Insect. *Science*, 22, 251-262. <http://dx.doi.org/10.1111/1744-7917.12110>

Vergès-Belmin V., Heritage A., Bourgès A. (2011) Powdered cellulose poultices in stone and wall painting conservation - myths and realities. *Studies in Conservation*, 56(4), 281-297. <https://doi.org/10.1179/204705811X13159282692923>

Verney-Carron A., Dutot A.L., Lombardo T., Chabas A., (2012) Predicting changes of glass optical properties in pollutant atmospheric environments by a neural network model. *Atmospheric Environment*, 54, 141- 148. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2012.02.093>

Vidorni G., Sardella A., De Nuntiis P., Volpi F., Dinoi A., Contini, D., Comite V., Vaccaro C., Fermo P., Bonazza A. (2019) Air pollution impact on carbonate building

stones in Italian urban sites. *The European Physical Journal Plus*, 134 (9), 439, 10 pp. <https://doi.org/10.1140/epjp/i2019-12943-0>

Vindedahl A.M., Strehlau J.H., Arnold W.A., Penn R.L. (2016) *Organic Matter and Iron Oxide Nanoparticles: Aggregation, Interactions, and Reactivity* Environmental Science. Nano, 3, 494-505. <https://doi.org/10.1039/C5EN00215J>

Viviano G., Ziemacki G., Settimo G., Cattani G., Spartera M., Catucci F., Carbotti G. (2005) Air quality assessment in an urban-industrial area: the Taranto case study. *Epidemiol. Prev.*, 29(5-6), 45-9.

Watt J., Tidblad J., Kucera V., Hamilton R. (2009) *The Effects of Air Pollution on Cultural Heritage*, Springer Ed, 306 pp. <https://doi.org/10.1007/978-0-387-84893-8>

Wu J., Acero-Lopez A. (2012) Ovotransferrin: Structure, bioactivities, and preparation. *Food Research International*, 46(2), 480-487. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.07.012>

Yamamoto T., Juneja L.R., Hatta H., Kim M. (1996) *Hen Eggs: Basic and Applied Science*, CRC Press, 204 pp. <https://doi.org/10.1201/9780203752081>

Yang L., Kruse B. (2004) Revised Kubelka-Munk theory. I. Theory and application. *Journal of the Optical Society of America*, 21 (10), 1933-1941. <https://doi.org/10.1364/JOSAA.21.001933>

Zhao Y., Ren H., Dai H., Jin W. (2011) Composition and expansion coefficient of rust based on X-ray diffraction and thermal analysis. *Corrosion Science*, 53 (5), 1646–1658. <https://doi.org/10.1016/j.corsci.2011.01.007>

RINGRAZIAMENTI

Desidero esprimere i miei più sinceri ringraziamenti alla **Prof.ssa Anna Maria Salvi** che, oltre ad avermi ospitato e seguito nel suo laboratorio per tutto il percorso del Dottorato, non mi ha fatto mancare il suo costante incoraggiamento, aiuto e sostegno.

Un ringraziamento va al gruppo di ricerca “**Smart Cities**” con cui nel corso di questi anni di attività, ho avuto modo di interagire. In particolare ringrazio la **Tab Consulting S.r.l. di Potenza** per l’ospitalità durante i primi sei mesi di stage e per avermi dato la possibilità di approfondire le problematiche legate al degrado, gestione e conservazione dei Beni Culturali.

Ringrazio il **Prof. Luigi Campanella** del Dipartimento di Chimica dell’Università “La Sapienza” di Roma per avermi ospitato nel suo laboratorio e per il notevole sostegno al lavoro di tesi, soprattutto per quel che riguarda l’utilizzo di chelanti naturali nella rimozione di macchie di corrosione.

Ringrazio la **Prof.ssa Laura Scrano, il Prof. Ippolito Camele e la Dr.ssa Stefania Mang**, dell’Università della Basilicata per il supporto alle indagini biologiche sul biodeterioramento di manufatti lapidei.

Un ringraziamento al **Dott. Fausto Langerame** dell’Università della Basilicata, per il costante supporto alle analisi di spettroscopia fotoelettronica XPS, alle attività di laboratorio e la continua compagnia e disponibilità.

Ringrazio anche il **Dott. Antonio Lettino, il Dott. Luca Medici e il Sig. Pietro Pasquale Ragone** per avermi concesso l’opportunità di svolgere analisi in microscopia elettronica e Difrattometria presso il laboratorio di Geologia Medica ed Ambientale dell’istituto IMAA-CNR di Tito Scalo – Potenza.

Ringrazio la **Dr.ssa Cristina Malegori** dell’Università di Genova, per la disponibilità, l’entusiasmo e l’aiuto nell’interpretazione delle indagini chemiometriche.

Ringrazio la **Dr.ssa Mariangela Curcio**, per l'accoglienza mostrata all'inizio di questo percorso e per il contributo apportato al caso studio della chiesa di San Pietro Barisano.

Si ringraziano il **Prof. Gianluigi De Gennaro** (Dipartimento di Biologia - Università di Bari) e il **Prof. Pasquale Giungato** (Dipartimento di Chimica - Università di Bari) per la costruttiva revisione del manoscritto della testi di dottorato.

Desidero, inoltre, ringraziare il Coordinatore del Corso di Dottorato di Ricerca in Chimica dell'Università di Salerno, **Prof. Claudio Pellecchia** e tutti i componenti del Collegio dei Docenti.

Ringrazio tutti gli amici e tutte le persone che in questi anni hanno fatto parte di questo viaggio; in maniera particolare, ringrazio Luca per la sua genuina amicizia, per le giornate passate insieme, per le difficoltà affrontate senza remore e per il suo continuo supporto.

Vorrei ringraziare Roberta, che ha condiviso con me ogni passo di questo cammino, per i suoi consigli, per il suo affetto, per la sua vicinanza e per la dolcezza mostrata ogni volta che ne avevo bisogno.

Grazie a Stefania, che con la sua continua presenza ha saputo sostenermi in ogni momento, accompagnandomi in questo tortuoso percorso e nella vita, rivelandosi la parte indispensabile del mio cuore.

Infine, ringrazio la mia famiglia per non aver mai smesso di esser presente e in particolar modo i miei genitori, per l'affetto, i sacrifici e la loro incrollabile fiducia in me.