Laboratorio di Risonanza Magnetica "Annalaura Segre"
Area della Ricerca Roma 1. Via Salaria Km. 29.300
Monterotondo 00016 (RM)
Valeria Di Tullio, valeria.ditullio@cnr.it

**Report progetto "BIO-REMP. Il Biorisanamento dei dipinti murali. Studio e valutazione del biorestauro con batteri ed idrogel sui dipinti murali della Cappella Vitelleschi (1500) nel Duomo di Tarquinia".**

Call IPERION_CH.it 2016. Responsabile scientifico: Valeria Di Tullio

**Introduzione**

Il piano diagnostico, realizzato sul ciclo pittorico della Cappella del Vitelleschi, ha visto la partecipazione di diversi attori provenienti dal mondo della ricerca e dall'università, il cui coordinamento è stato svolto grazie all'infrastruttura italiana di IPERION_CH nell'ambito del progetto BIO-REMP.

Il progetto, presentato e selezionato nel bando nazionale 2016 di IPERION_CH.it, richiedeva l'uso delle facilities dell'infrastruttura italiana per effettuare una importante campagna diagnostica di supporto alle attività di restauro della Cappella Vitelleschi. Nelle attività del progetto hanno preso quindi parte oltre a CNR-ISB (ex IMC) e CNR-ISPC, l'unità del MOLAB sotto la responsabilità della Dott.ssa Costanza Miliani; il Dipartimento di Chimica e Chimica Industriale dell'Università di Pisa sotto la responsabilità della Prof.ssa Maria Perla Colombini; il Dip. di Chimica dell'Università di Bologna sotto la responsabilità del Prof. Rocco Mazzeo.
La campagna diagnostica ha avuto due obiettivi fondamentali ed è stata articolata in una ampia fase di raccolta dei dati mediante misurazioni in situ, seguita da un campionamento selettivo ed una fase diagnostica realizzata in laboratorio. Il primo obiettivo è stato indirizzato alla caratterizzazione dei materiali costitutivi dell'opera e del loro stato di degrado al fine di una migliore conoscenza della tecnica esecutiva usata dall'artista.
Il secondo obiettivo del progetto è stato quello di supportare i restauratori durante la progettazione dell'intervento di pulitura, attraverso la caratterizzazione dei prodotti di degrado, la conoscenza dei materiali impiegati in occasione dei precedenti interventi di restauro ed il monitoraggio dei test di pulitura.

## Le indagini scientifiche per la caratterizzazione dei materiali costitutivi e dello stato conservativo

Le prime indagini sono state effettuate direttamente in situ utilizzando tecniche a raggi-X e infrarossi. Queste due tecniche hanno permesso di mappare vaste aree dipinte in modo non distruttivo, ottenendo informazioni puntuali sulla tecnica esecutiva dell'artista e sullo stato di conservazione del ciclo pittorico. La tavolozza dei pigmenti è stata studiata mediante strumentazione portatile con tecniche fotografiche di imaging (fluorescenza UV, UV riflesso, UV falso colore, Infrarosso e Infrarosso falso colore), spettroscopia di fluorescenza a raggi X (XRF) e spettrofotometria infrarossa (FT-IR) e le indagini sono state comparate fra loro. Di seguito vengono riportati i risultati dell'analisi con XRF e FTIR portatile, ottenuti su diverse aree del ciclo pittorico.

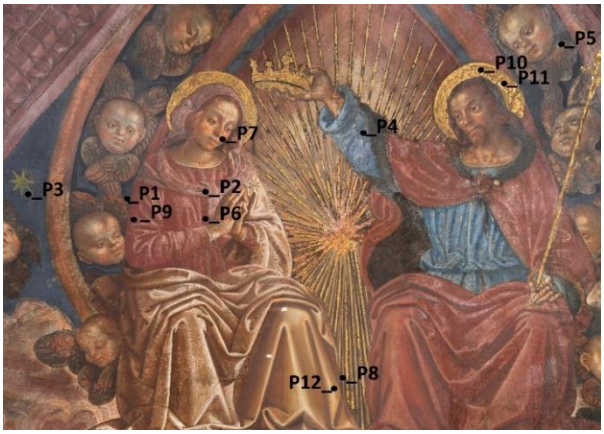



**Fig. 1:** Incoronazione della Vergine, punti di misura

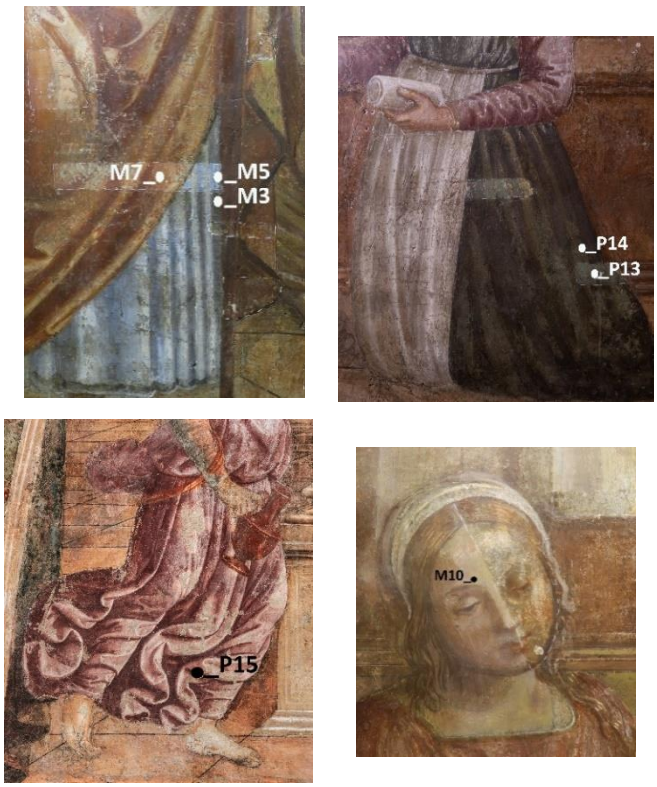
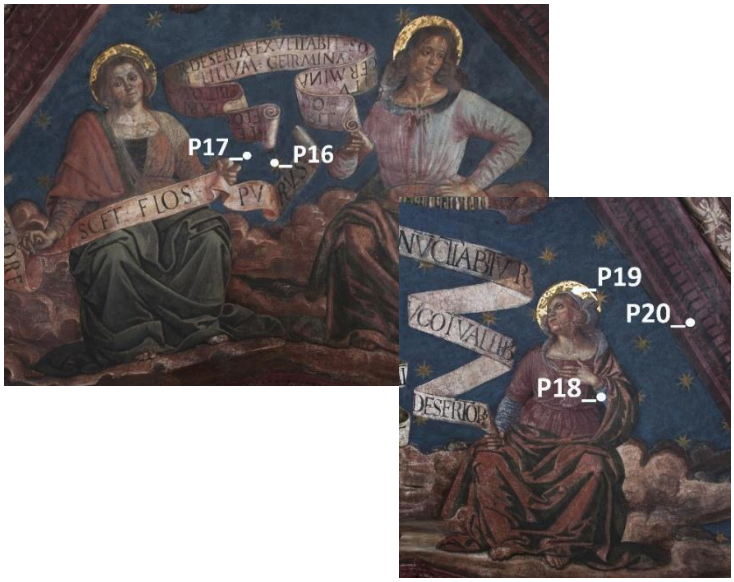



**Fig. 2:** Particolari della Nascita della Vergine, punti di misura

| Colore | Risultati XRF |
|---|---|
| Verde | **P13** (stesura pittorica originale): Ca, Fe, K, Sr, Cu, Si, S (Ti, Mn, Pb, Rb) |
| | **P14** (stesura non originale): Ca, Fe, Pb, Sr, K, Ti, Zn, (Si, Mn, Rb) |
| Rosso | **P15**: Ca, Fe, Sr, K, S (Ti, Mn, Rb, Pb) |
| **Colore** | **Risultati FTIR** |
| Marrone | **M1**: Cera molto intensa, gesso, $CaCO_3$ |
| | **M2**: Cera molto intensa, gesso, $CaCO_3$, ossalati di Ca. |
| Blu | **M3**: Cera, lapislazzuli, $CaCO_3$ |
| | **M5**: Lapislazzuli, $CaCO_3$, ossalati di Ca, CH stretching e bande di combinazione (cera), possibile proteico. |
| Rosso | **M7**: $CaCO_3$, ossalati di Ca, CH stretching e combinazione bending più intensi (possibile cera), componente silicatica (probabilmente ocra), possibile proteico. |
| Incarnato | **M10** (ridipintura): gesso, $CaCO_3$, CH stretching stretti e carbonile 1740 $cm^{-1}$ intenso (cera?) |

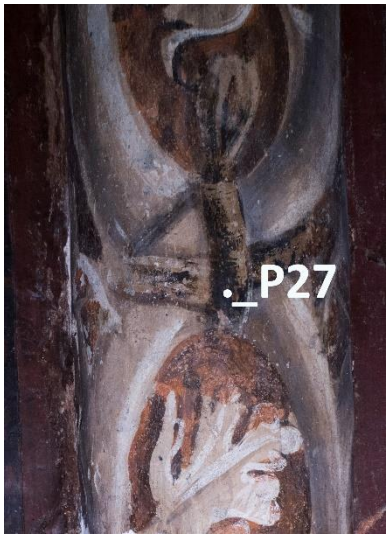


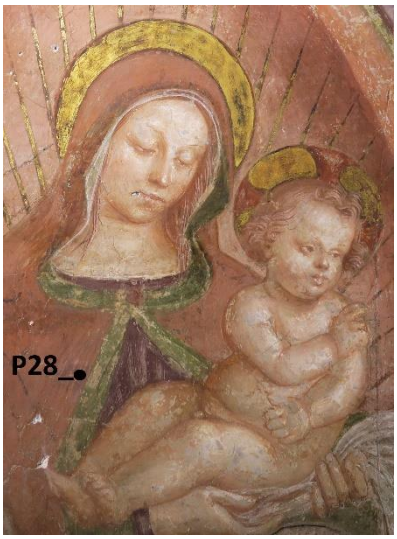

| Colore | Risultati XRF |
|---|---|
| Doratura | **P16**: Ca, Cu, Au, Pb, Fe, Sr, S (Cr, Rb) |
| Blu | **P17**: Cu, Ca, Fe, Co, Sr, S, Cr, K, Pb, Ti (Si, Al, Rb) |
| | **P18**: Ca, S, Sr, K, Fe, Si (Rb) |
| Doratura | **P19**: Cu, Ca, Pb, Sr, Au, S?, Ti (Rb) |
| | **P20**: Ca, Fe, Au, S? (Pb, Rb, Cr, Ti) |

**Fig. 3:** Profeti e Sibille, punti di misura.

***Fig. 4:*** *Scene dello Sposalizio della Vergine, punti di misure.*

| Colore | XRF-Analisi |
|---|---|
| | |
| Blu | **P21**: Ca, K, Sr, S, Fe, Si (Ti, Pb, Rb). Possibile Lapis. |
| | **P22**: Ca, Sr, K, Fe, Co, Cu, S (si, Ti, Rb, Pb, Mn) |
| Marrone | **P23**: Ca, Fe, Sr, K, Cu, S (Si, Ti, Mn, Pb, Rb) |
| Rosso | **P24**: Ca, Fe, K, Sr, S, Ti (Si, Mn, Cu, Pb, Rb) |
| | **P25**: Ca, Fe, Sr, K, S (Ti, Mn, Pb, Rb) |
| | **P26**: Ca, Fe, Sr, K, Cu, Pb, Au (Ti, Rb) |




| Colore | XRF-Analisi |
|---|---|
| Verde | **P27**: Ca, Cu, Fe, Sr, K, Cl, Ba/Ti, Mn, S (Rb, Pb, Si) |
| Blu | **P28**: Ca, Cu, Fe, Sr, K, S, Si (Ti, Pb, Rb) |

***Fig. 5:*** *Costolone (sinistra) e Madonna con bambino, punti di misura.*

Dalle analisi riportate, è stato possibile individuare i tipi di pigmenti utilizzati e l'utilizzo di diversi leganti organici per l'applicazione. In alcune aree la caratterizzazione dei materiali costitutivi originale è stata resa difficoltosa dalla presenza di materiali di restauro utilizzato negli anni Settanta e dalle gravi condizioni di degrado causato da un incendio avvenuto nel 1642. Per le stesure a fresco i pigmenti utilizzati sono principalmente terre naturali (ocre gialle, ocre rosse e terra verde), bianco di calce, nero di vite e blu lapislazzuli.

Per le stesure a secco sono stati invece rinvenuti verdi a base di rame e azzurrite alterata in tenorite, per effetto delle alte temperature raggiunte durante l'incendio del 1642. Le indagini FTIR rilevano inoltre una presenza diffusa di ossalati di calcio. Le prime indagini sono state effettuate direttamente in situ utilizzando raggi-X ed infrarossi. Queste due tecniche hanno permesso di mappare vaste aree di dipinto in modo non distruttivo, ottenendo informazioni puntuali sul tipo di composti che costituiscono i pigmenti e sull'eventuale presenza di strati di rifinitura. A seguito della campagna diagnostica in situ, è stato effettuato un campionamento selettivo per effettuare ulteriori indagini in laboratorio. Le sezioni stratigrafiche del dipinto sono state osservate attraverso mapping FT-IR, microscopia ottica (MO), microscopia elettronica con microsonda per analisi ai raggi X (SEM-EDS) e diffrattometria a raggi X (XRD), in figura 6 e 7sono mostrate le aree campionate.

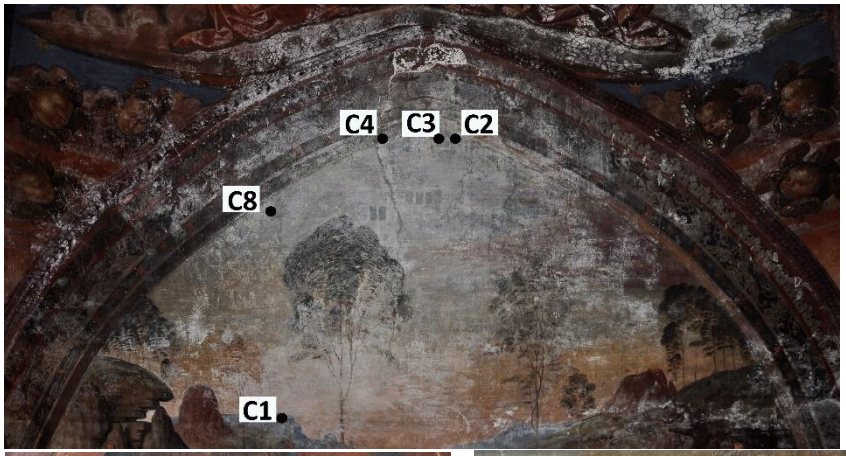



**Fig. 6:** Sposalizio della Vergine, punti di prelievo.

**Fig. 7:** Incoronazione della Vergine (a sinistra) e Nascita della Vergine (a destra), punti di prelievo.

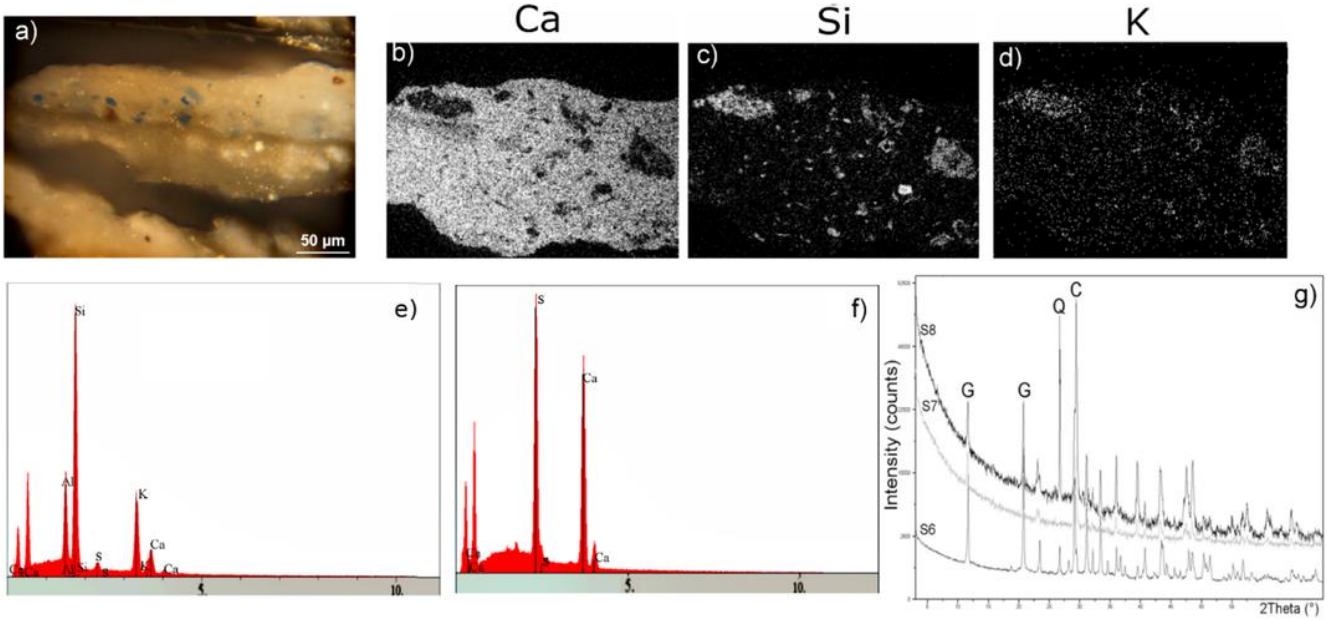


**Fig. 8:** a) MO immagine. b-d) Mappa degli elementi ottenuta dall'analisi SEM-EDS sul campione C1 campionato nell'area del cielo dello Sposalizio della Vergine e) spettro EDS del lapislazzuli. f) spettro EDS dei cristalli bianchi. g) spettri XRD dei campioni C2, C3, e C4. G = gesso, Q = quarzo, C = calcite

Per studiare in dettaglio la componente inorganica delle sezioni stratigrafiche, il campione C1 è stato analizzato con MO e SEM-EDS (Fig. 8 a–f). L'analisi al MO ha rivelato la presenza di uno strato molto sottile di circa 30 µm, costituito da calcio, silicio e potassio (Fig.8 b, c, d) che sono gli elementi costitutivi lo strato pittorico, inoltre sono stati osservati pochi singoli cristalli azzurri. Dalla composizione elementale ottenuta con l'analisi EDS (Fig.8 e) su questi cristalli, è stato possibile ipotizzare la presenza del lapislazzuli, la cui presenza nella stessa area del dipinto (cielo Sposalizio) è stata rilevata anche dalle indagini diagnostiche con strumentazione portatile XRF. La composizione elementale di alcuni cristalli bianchi ha permesso di identificare la presenza di solfati (Fig. 8 e) attribuibile alle efflorescenze saline visibili.
Per caratterizzare la composizione delle ampie e numerose stuccature di colorazione bianca presenti nell'intero ciclo pittorico sono state eseguite delle indagini XRD. Dal risultato del campione C6 risulta chiara la natura gessosa dell'impasto (Fig. 9).

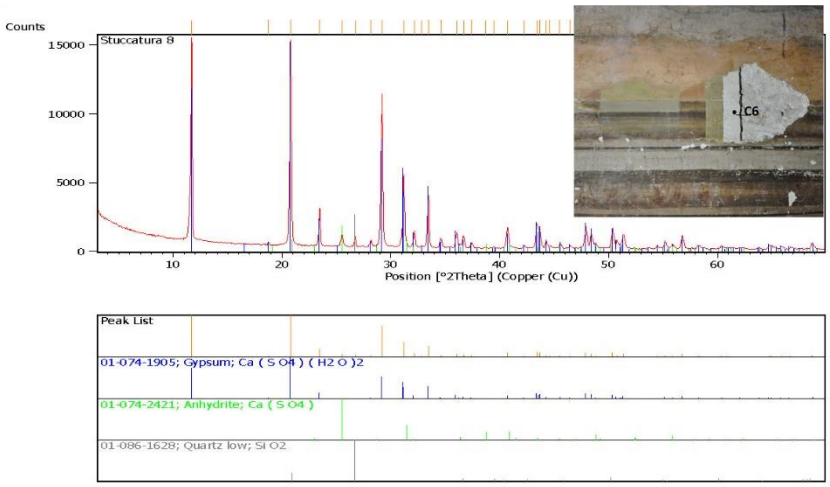
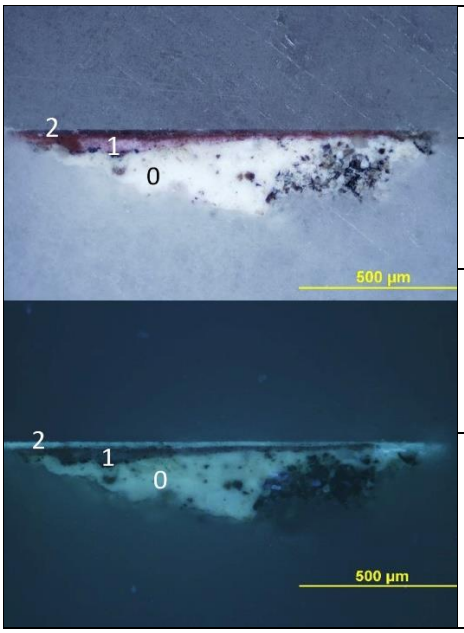



**Fig. 9**: Difrattrogramma ottenuto sul campione C6.

La completa caratterizzazione della composizione molecolare delle efflorescenze saline è stata effettuata su tre campioni C2, C3 ed C4 attraverso XRD. Il difrattrogramma mostra la presenza di notevoli quantità di gesso (G); una significativa quantità di calcite, appartenente ovviamente all'intonaco originale. Infine, quantità notevoli di quarzo sono state trovate nel campione S8, completamente assente nel campione C3.

Quattro sezioni stratigrafiche, C7, C8, C9 e C10, sono state preparate ed analizzate attraverso il mapping FTIR, osservate al microscopio ottico ed analizzate con ATR-FTIR.
La sezione **C7** è caratterizzata dalla presenza di uno spesso strato rosso (strato 1, Fig. 10) composto principalmente da silicati (banda a 1080cm$^{-1}$, Si-O stretching), attribuibili a pigmenti terrosi, e dal carbonato di calcio come composto costitutivo dell'intonaco e dello strato pittorico (originale banda a 875cm$^{-1}$, $CaCO_3$ bending). È possibile, inoltre, osservare un ulteriore strato in superficie fluorescente (strato 2, Fig. 10 b) la cui analisi molecolare della stratigrafia ha permesso di identificare e chiaramente osservare la distribuzione della cera, grazie alla presenza della banda a 730 cm$^{-1}$ (CH rocking vibration mode). Inoltre, grandi quantità di

carbossilati di calcio sono stati individuati all'interfaccia con lo strato di preparazione, grazie alla doppia banda diagnostica a 1576 e a 1538 $cm^{-1}$. La presenza dei carbossilati di calcio è stata probabilmente prodotta dall'interazione di leganti a base lipidica ed i sali di calcio presenti nel dipinto. In aggiunta, sono stati individuati apprezzabili quantità di ossalati di calcio (bande a 1320 $cm^{-1}$ associati al COO symmetric stretching mode), già rilevati dalle indagini con strumentazione FTIR portatile nella quasi totalità dei punti di misura. Tuttavia, non è stata individuata nessuna banda di assorbimento relativa alla presenza di leganti organici. Anche se questo risultato potrebbe suggerire l'uso di una tecnica pittorica a secco, non è possibile confermarlo con certezza visto che le bande di assorbimento della frazione inorganica presente potrebbero coprire quelle relative alla frazione organica.




| Strato | | Colore | Colore in fluorescenza UV | Risultati ATR-FTIR |
|---|---|---|---|---|
| **0** | Substrato | Bianco con inclusi neri e marroni | Biancastra senza la matrice | ▪ Carbonato di calcio<br>▪ silicati<br>▪ ossalati di calcio |
| **1** | Pellicola pittorica/ Pigmenti | Rosso | | ▪ Silicati<br>▪ carbonato di calcio<br>▪ ossalati di calcio |
| **2** | Strato traslucido | | Bluastra | ▪ Cera<br>▪ Carbossilati di calcio<br>▪ ossalati di calcio |

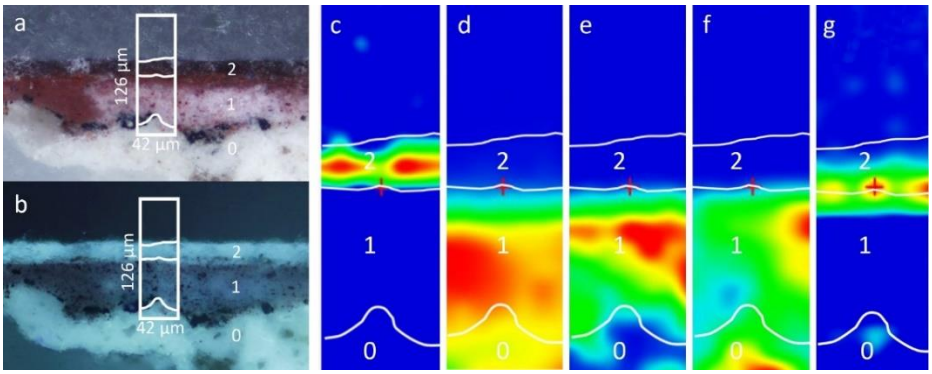
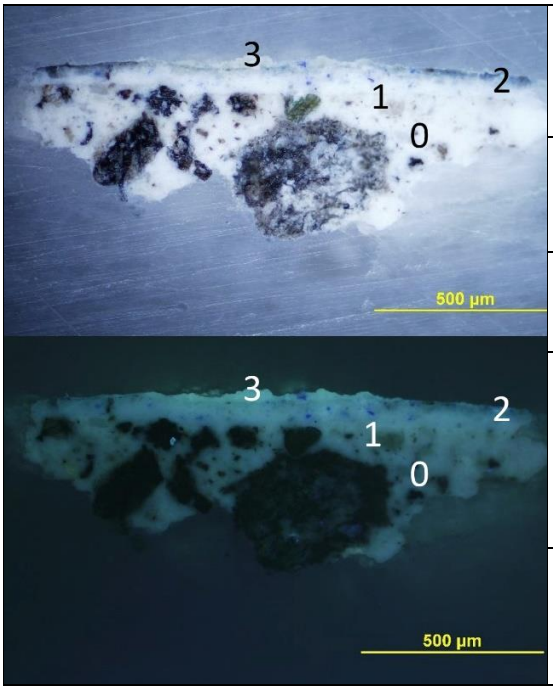



**Fig.10:** Cross section campione C7 a) immagine al microscopio in luce visibile; b) immagine della fluorescenza ultravioletta. L'area selezionata in bianco indica l'area analizzata con ATR-FTIR mapping. FTIR falso-colore plots c) Cera (banda 730 cm−1); d) Carbonato di calcio (banda 875 cm−1); e) Silicati (banda 1080 cm−1); f) Ossalati di calcio (banda 1320 cm−1); g) Carbossilati di calcio.

La sezione stratigrafica **C8** è stata analizzata al fine di caratterizzare e mappare la distribuzione delle efflorescenze saline presenti sulla superficie del dipinto (Fig.11). Il gesso è chiaramente presente sulla superficie del campione (strato 3), e nel vicino strato 2 insieme a tracce di sostanze organiche (banda a 2918 $cm^{-1}$), la cui natura chimica risulta incerta a causa delle limitate quantità presenti. Nello strato 1 è possibile ipotizzare la presenza di silicati miscelati a carbonato di calcio.




| | Strato | Colore | Colore in fluorescenza UV | Risultati ATR-FTIR |
|---|---|---|---|---|
| **0** | Substrato | Bianco con inclusi neri e verdi | Biancastra senza la matrice | ▪ Carbonato di calcio<br>▪ silicati |
| **1** | Pellicola pittorica/Pigmenti | Bianco con cristalli blu | Bluastra | ▪ Carbonato di calcio<br>▪ silicati |
| **2** | Strato traslucido | Grigio | Bluastra | ▪ Gesso<br>▪ carbonato di calcio<br>▪ tracce di sostanza organica |
| **3** | Efflorescenza | Bianco | Bianco giallastra intensa | ▪ Gesso<br>▪ tracce di sostanza organica |

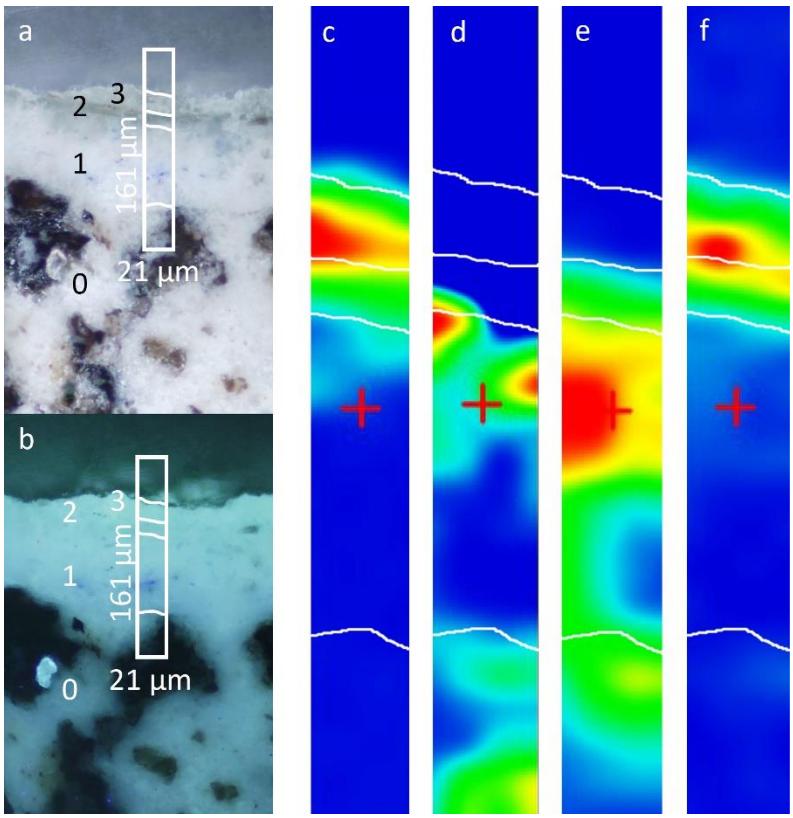
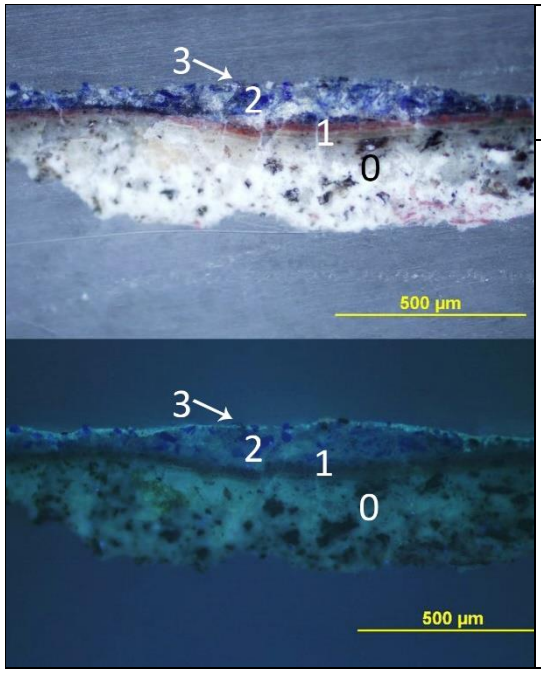



**Fig.11:** Cross section campione C8 a) immagine al microscopio in luce visibile; b) immagine della fluorescenza UV.
L'area selezionata in bianco indica l'area analizzata con ATR-FTIR mapping. FTIR falso-colore plots c) Gesso (banda 3530 cm−1); d) Silicati (banda 990 cm−1); e) Carbonato di calcio (banda 875 cm−1); f) Sostanza organica (banda 2918 cm−1).

La sezione stratigrafica **C9,** campione prelevato in corrispondenza di una stesura azzurra molto frammentaria, sovrammessa alla stesura rossa della veste della Madonna nell'Incoronazione, mostra la presenza di gesso, rilevata anche in altre zone del dipinto e relativa alla presenza delle efflorescenze saline. Negli strati superficiali è presente uno strato di sostanza grassa, probabilmente olio, e un'altra sostanza organica caratterizzata dal rilevamento della banda a *2918* $cm^{-1}$. Si osserva la presenza di carbossilati di calcio in concomitanza degli strati di sostanze organiche. Lo stesso punto del prelievo era stato indagato mediante XRF portatile (punto di misura P2), che aveva rilevato la presenza di elementi quali ferro e rame, riconducibili ai pigmenti qui presenti.

| | **Strato** | | **Colore** | **Colore in fluorescenza UV** | **Risultati ATR-FTIR** |
|---|---|---|---|---|---|
| | **0** | Substrato | Bianco con inclusi neri e marroni | Bianca con inclusi neri e verdi | ▪ Carbonato di calcio<br>▪ tracce di gesso<br>▪ silicati |
| | **1** | Pellicola pittorica/ Pigmenti | Rosso | | ▪ Gesso<br>▪ silicati<br>▪ tracce di sostanza organica |




| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| **2** | Pellicola pittorica/ Pigmenti | Blu | Bluastra | ▪ Silicati<br>▪ gesso<br>▪ tracce di sostanza organica |
| **3** | Strato traslucido | | Gialla intensa | ▪ Materiali grassi<br>▪ carbossilati di calcio<br>▪ ossalati di calcio |

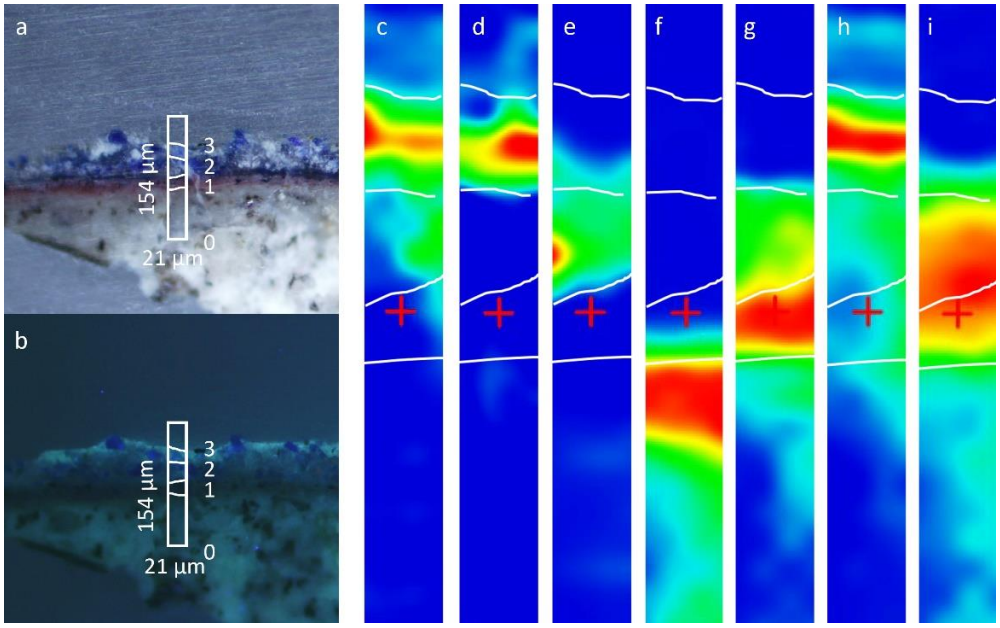
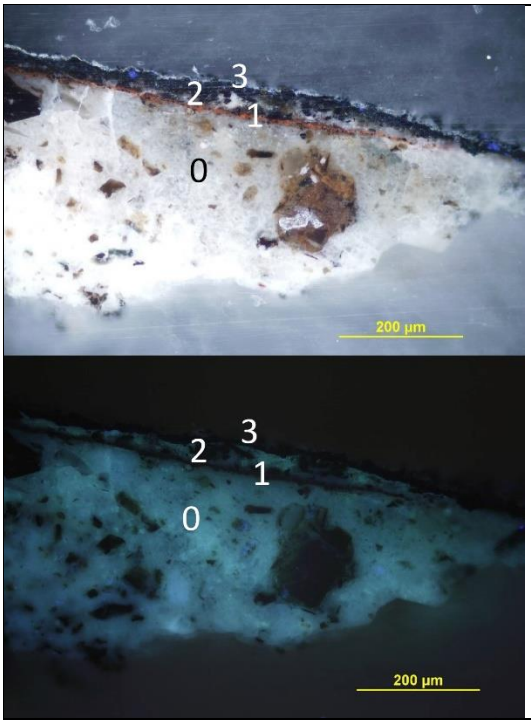



**Fig. 12:** Cross section campione C9 a) immagine al microscopio in luce visibile; b) immagine UV. L'area selezionata in bianco indica l'area analizzata con ATR-FTIR mapping. FTIR falso-colore plots c) Materiale grasso (banda 1735 $cm^{-1}$); d) Carbossilati di calcio (banda 1578 $cm^{-1}$); e) Silicati (banda 973 $cm^{-1}$); f) Carbonato di calcio (banda 875 $cm^{-1}$); g) Gesso (banda 3536 $cm^{-1}$); h) Sostanza organica (banda 2918 $cm^{-1}$); i) Silicati (banda 1010 $cm^{-1}$).

Nella sezione **C10**, campione prelevato dalla ridipintura azzurra del cielo della vela dell'Incoronazione, si osserva la presenza, in corrispondenza dello strato 3, di blu di prussia, PVA (polivinil acetato), la cui distribuzione coincide sostanzialmente con quella del blu di Prussia, e silicati, probabile "filler" della stesura pittorica azzurra. Negli strati 1 e 2, più profondi, si rilevano inoltre gesso ed ossalati di calcio, questi ultimi totalmente assenti nello strato 3, Fig.13.




| | Strato | Colore | Colore in fluorescenza UV | Risultati ATR-FTIR |
|---|---|---|---|---|
| **0** | Substrato | Bianco con inclusi neri | Bianca con inclusi neri e bruni | ▪ Carbonato di calcio<br>▪ gesso |
| **1** | Pellicola pittorica/ Pigmenti | Rosso con inclusi neri | | ▪ Carbonato di calcio<br>▪ ossalati di calcio<br>▪ gesso |
| **2** | Pellicola pittorica/ Pigmenti | Matrice bianca con cristalli neri | Bluastra nella matrice | ▪ Gesso<br>▪ tracce di ossalati di calcio |
| **3** | Pellicola pittorica/ Pigmenti | Blu/nero | Gialla intensa | ▪ Blu di Prussia<br>▪ PVA (polivinil acetato)<br>▪ silicati (filler?)<br>▪ tracce di gesso |

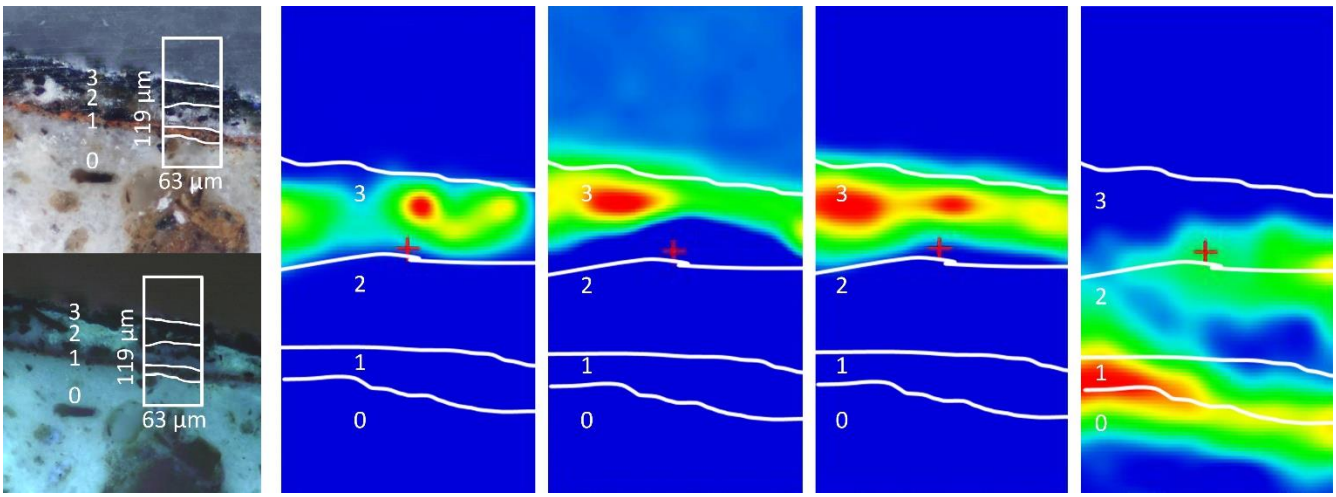



**Fig. 13:** Cross section campione C10 a) immagine al microscopio in luce visibile; b) immagine UV. L'area selezionata in bianco indica l'area analizzata con ATR-FTIR mapping. FTIR falso-colore plots c) Blu di prussia (banda 2090 $cm^{-1}$); d) Silicati (banda 1019 $cm^{-1}$); e) PVA (banda 1240 $cm^{-1}$); f) Ossalati di calcio (banda 1320 $cm^{-1}$); g) Gesso (banda 3536 $cm^{-1}$); h) Carbonato di calcio (banda 875$cm^{-1}$).

Allo scopo di ottenere maggiori informazioni sulla natura chimica dello strato traslucido presente sulle superfici dipinte, un ulteriore campione, C11, è stato prelevato nella medesima area del campione C7 ed analizzato attraverso la spettroscopia $^{13}C$ NMR. Lo spettro al carbono-13 CPMAS NMR nel campione C11 è stato confrontato con un campione standard di cera d'api, per verificarne la caratterizzazione chimica (Fig.14). Nello spettro del campione standard (B), è possibile individuare le bande di risonanza a 30 e 35 ppm, che sono caratteristiche dei $-CH_2$ interni alle catene alifatiche, la banda di risonanza a 15 ppm è dovuta dai carboni del gruppo $-CH_3$ terminale della catena. Le bande di risonanza a 175 ppm sono dovute sia alla presenza dei gruppi carbossilici -COOH che

alla presenza dei carbossilati. In accordo con i risultati ottenuti dall'analisi FTIR, la spettroscopia NMR ha confermato la presenza di cera.

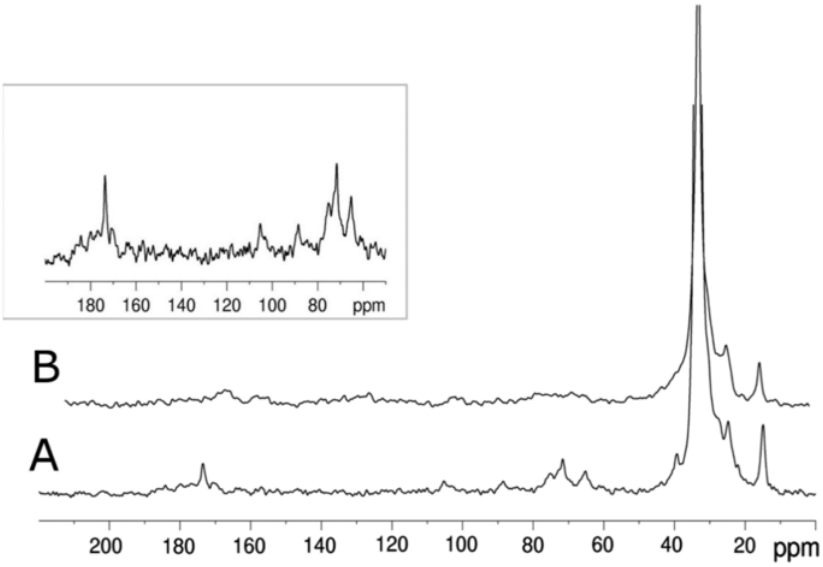



**Fig. 14:** 13C CPMAS NMR spettro del campione C11 (A) spettro di un campione di cera stesa su muratura (B). Nell'inserto, in alto a destra, è visibile l'intervallo delle bande di risonanze 70-180 ppm con una scala di ingrandimento verticale di 4x.

Per la caratterizzazione completa delle sostanze organiche usate dell'artista e nei precedenti restauri, cinque campioni sono stati prelevati ed analizzati con la gascromatografia- spettrometria di massa (GC-MS):
- prelievo dello strato superficiale traslucido (campione C12);
- prelievo della ridipintura del volto della nutrice della Nascita di Maria (campione C13);
- prelievo della traccia di una delle dorature sciolte nelle vele della volta (campione C14).

Questa tecnica seppur distruttiva, ci permette di individuare sostanze organiche naturali anche in piccole quantità e di studiare eventuali effetti di degrado delle stesse. La procedura analitica di pretrattamento è stata eseguita al fine di individuare: materiali proteici come colle animali, latte o caseina, uovo e aglio; glicero-lipidi come olio di lino, di mandorle e olio di semi di papavero; cere naturali come cera d'api e carnauba; resine estratte da piante come mastice, dammar, sandracca, e cera di pino ed infine cere animali come la gommalacca[1]. La frazione proteica è stata purificata seguendo la procedura Omix C4 [2].

L'analisi della frazione lipidica e resinosa ha evidenziato la presenza di cera d'api sia nel campione GC 1 che nel GC 2. In Figura 15a-b, sono riportati i cromatogrammi in Total Ion Current (TIC) che mostrano i composti principali della cera: acido15-idrossiesadecanoico, acidi grassi a catena lunga, come l'acido tetracosanoico, alcoli e idrocarburi. L'acido azelaico è presente in tutti i campioni, come prodotto di ossidazione degli acidi grassi insaturi, indicando la presenza di un materiale lipidico. Visto che in questi campioni è stata trovata la contemporanea presenza di cera e lipidi, è alquanto difficile confermare la presenza di olii siccativi. Nonostante questo, nel campione 51, è chiaramente presente un olio siccativo, come dimostrato dalla alta quantità relativa di acido azelaico rispetto all'acido palmitico. Il campione GC 3 mostra inoltre, la presenza di un lipide non-siccativo, come

[1] A. Andreotti, I. Bonaduce, M. P. Colombini, G.Gautier, F. Modugno, E. Ribechini "A combined GC-MS analytical procedure for the characterisation of drying oils, waxes, natural terpenoid resins, pitch, tars and proteinaceous materialsin the same paint microsample", Analytical Chemistry, 2006, 78, 4490-4500, DOI: 10.1021/ac0519615.

[2] A. Liuveras, I. Bonaduce, A. Andreotti, M. P. Colombini, "A GC/MS analytical procedure for the characterization of glycerolipids, natural waxes, terpenoid resins, proteinaceous and polysaccharide materials in the same paint micro sample avoiding interferences from inorganic media", Analytical Chemistry, 81, 2010, ISSN: 0003-2700, doi: 10.1021/ac902141m, 376-386, DOI: 10.1021/ac902141m.

ad esempio uovo. Per confermare la presenza di uovo è stato necessario caratterizzare la frazione proteica del campione. Purtroppo, non è stato possibile ottenere il contenuto amminoacidico dei campioni a causa delle interferenze delle reazioni di derivatizzazione, nonostante il campione fosse stato purificato con il metodo Omix C4 per rimuovere i sali inorganici. In base alla nostra esperienza, questo avviene sempre in presenza di materiale sintetico, che può essere stato usato in un precedente restauro.

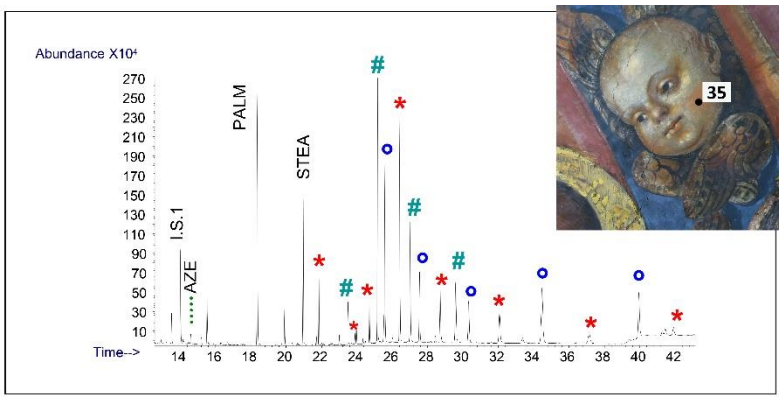



**Fig. 15 a:**. TIC cromatogramma della frazione lipidico-resinosa del campione C12. I.S.1: Internal Standard tridecanoic acid, AZE: azelaic acid, PALM: palmitic acid, STEA: stearic acid, °: alchools, #: hydrocarbons, °: hydroxy acids.

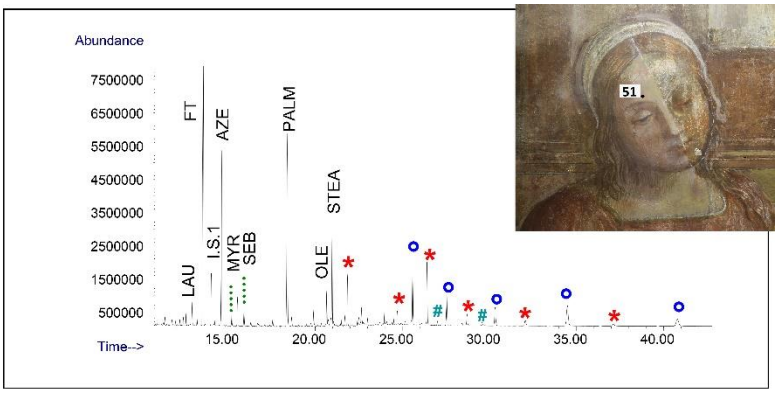



**Fig. 15 b:** TIC cromatogramma della frazione lipidico-resinosa del campione C13. LAU: lauric acid FT:1,2-Benzenedicarboxylic acid, bis(trimethylsilyl) ester; I.S.1: Internal Standard tridecanoic acid, AZE: azelaic acid, MYR: myristic acid, SEB: sebacic acid, PALM:palmitic acid, OLE:oleic acid, STEA: stearic acid, ° : alchools, #: hydrocarbons, °: hydroxy acids.

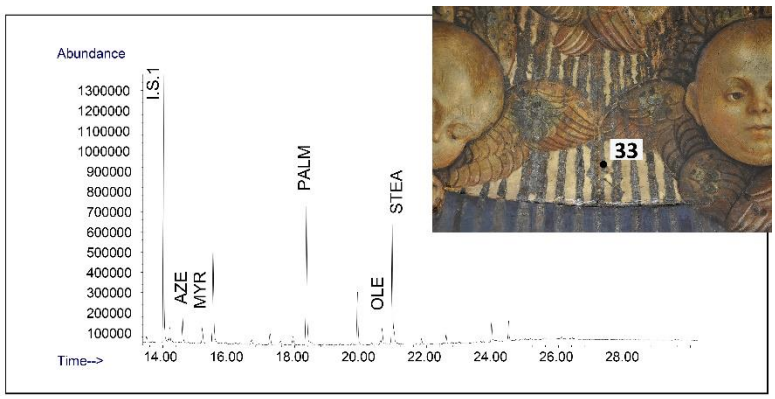



**Fig. 15 c:** TIC cromatogramma della frazione lipidico-resinosa d el campione C14. I.S.1: Internal Standard tridecanoic acid, AZE: azelaic acid, MYR: myristic acid, PALM: palmitic acid, OLE: oleic acid, STEA: stearic acid.

La caratterizzazione chimica e le osservazioni stratigrafiche hanno evidenziato la presenza di una complessa stratigrafia del dipinto dovuta alla tecnica pittorica del Pastura, alle reazioni di degrado e ai successivi interventi di restauro passati messi in atto per risanare l'opera. In particolare, i materiali usati per realizzare l'opera dimostrano la presenza di materiale lipidico, polisaccaridico e probabilmente proteico miscelato con carbonato di calcio, silicati e pigmenti di natura organica. La presenza della complessa alternanza di questi materiali giustifica anche la presenza di composti di degrado come ossalati di calcio, carbossilati di calcio ed ovviamente il gesso. È interessante notare che la più alta concentrazione di ossalati e carbossilati di calcio sia stata osservata

nelle aree vicino agli strati organici. Negli ultimi anni, gli ossalati sono stati trovati in numerose opere d'arte e la loro origine è ancora al centro di un animato dibattito nella comunità scientifica [3,4,5.] L'ipotesi più accreditata, in accordo con *Papliaka et al.,* ci permette di associare la presenza degli ossalati di calcio al degrado di materiale organico[6] e la loro distribuzione negli strati pittorici può indicare la presenza di strati organici usati come leganti, vernici di finitura o di materiali di intervento. La presenza di carbossilati di calcio può derivare dall'interazione tra ioni metallici presenti in pigmenti e sostanze grasse[7]. La presenza del gesso è probabilmente dovuta alla percolazione di acqua piovana causata dalle infiltrazioni presenti sulle coperture della volta. In accordo con il mapping, la quantità di gesso è risultata altamente variabile e dipendente dalla composizione stratigrafica del dipinto murale. In quelle regioni dove è presente materiale organico (es. cera) in superficie, gli strati di gesso risultano accumulati a profondità maggiori, a causa della mancata libertà di migrazione e cristallizzazione dei sali in superficie. La presenza delle ridipinture ad olio e dello spesso strato di cera è stata confermata dalle indagini condotte con mid-FTIR portatile, reflection-FTIR mapping, spettroscopia portatile, spettroscopia NMR al carbomio-13 e cromatografia GC-MS.

[3] M. Garcia-Vallès, M. Vendrell-Saz, J. Molera, F. Blázquez, Interaction of rock and atmosphere: patinas on Mediterranean monuments, Environ. Geol. 36 (1998) 137–149.

[4] F. Cariati, L. Rampazzi, L. Toniolo, A. Pozzi, Calcium oxalate films on stone surfaces: experimental assessment of the chemical formation, Stud. Conserv. 45 (2000) 180–188.

[5] P. Maravelaki-Kalaitzaki, Black crusts and patinas on Pentelic marble from the Parthenon and Erechtheum (Acropolis, Athens): characterization and origin, Anal. Chim. Acta 532 (2005) 187–198.

[6] Z.E. Papliaka, L. Vaccari, F. Zanini, S. Sotiropoulou, Improving FTIR imaging speciation of organic compound residues or their degradation products in wall painting samples, by introducing a new thin section preparation strategy based on cyclododecane pre-treatment, Anal. Bioanal. Chem. 407 (2015) 5393–5403.

[7] S. Sotiropoulou, Z. Papliaka, L. Vaccari, Micro FTIR imaging for the investigation of deteriorated organic binders in wall painting stratigraphies of different techniques and periods, Microchem. J. 124 (2016) 559–567.

**Le indagini scientifiche a supporto del restauro**

Nel restauro dei dipinti murali della Cappella del Vitelleschi la pulitura prevedeva la rimozione di uno spesso strato di cera e la rimozione in alcune zone di materiale annerito dovuti alla presenza di ossalati di calcio. Le indagini scientifiche sono state pianificate con lo scopo di monitorare gli effetti delle diverse procedure di pulitura e supportare, con dati analitici, le scelte dei restauratori.

***Verifica del trattamento di rimozione dello strato ceroso e delle efflorescenze saline con batteri solfato riduttori***

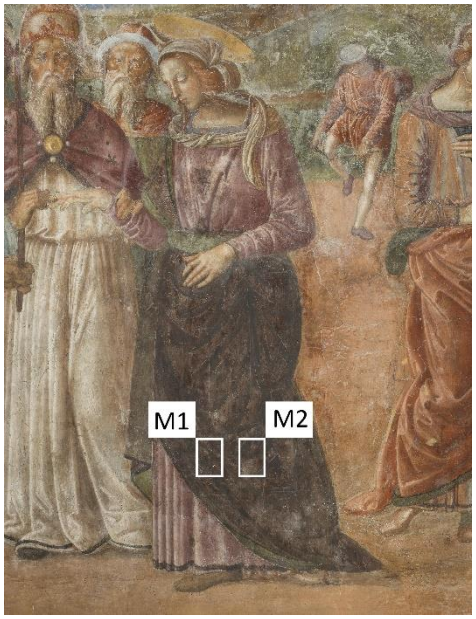



**Fig. 16:** Localizzazione tasselli di pulitura.

Prove di pulitura per la rimozione dello strato ceroso individuato sull'area pittorica sono state realizzate con una microemulsione oil-in-water e con un solvent-gel. Per le indagini scientifiche sui test di pulitura sono stati scelte due aree dello "Sposalizio della Vergine", confrontabili per omogeneità e preparazione (Fig. 16). Le due aree, chiamate M1 ed M2, sono state quindi analizzare prima e dopo la pulitura con NMR portatile e FT-IR portatile per valutare la diversa efficacia dei metodi di pulitura.

Attraverso l'utilizzo dell'NMR portatile, è stato possibile analizzare la stratigrafia dei materiali ricchi d'idrogeno presenti sul dipinto murale, attraverso la scansione dalla superficie fino alla profondità di diversi millimetri all'interno della muratura. Visto che molti materiali contengono diverse quantità di idrogeno (1H NMR), con l'NMR portatile è possibile individuare i diversi strati che costituiscono la muratura ed in particolare differenziare tra gli strati organici come Vernici, ridipinture e gli strati della muratura (intonaco e mattoni) [8,9], calcolando il loro spessore e la loro profondità dalla superficie. In figura 17 a-b, sono riportati i profili stratigrafici misurati, prima e dopo i test di pulitura, sulle aree M1 ed M2 del dipinto. In entrambe le aree analizzate, prima della pulitura sono stati osservati due strati a diverso contenuto di idrogeno, uno superficiale chiamato R1 ed un secondo strato, R2, presente in profondità. Quest'ultimo strato ha mostrato un minor contenuto di idrogeno in quanto costituito da carbonato di calcio, e quindi a minor contenuto di idrogeno. Dalle analisi risultava evidente che lo strato di cera, caratterizzato da un più alto contenuto di idrogeno, fosse presente per circa 400 micrometri di spessore sull'intonaco dipinto. Dopo l'applicazione dei test di pulitura, le due aree analizzate hanno mostrato risultati differenti: l'area M1 ha mostrato una riduzione dello strato di cera di soli 200 micrometri, mentre l'area M2 ha mostrato una netta scomparsa del materiale ceroso, la stratigrafia misurata con NMR dopo la pulitura ha infatti mostrato la sola presenza degli idrogeni contenuti nell'intonaco, R2, vedi fig. 17 a. Il grado di solubilizzazione dei due diversi sistemi pulenti è stato quindi calcolato utilizzando una semplice equazione [10], confrontando i valori si osserva che nel caso della micro-emulsione il grado di solubilizzazione è stato trovato di circa 92% mentre, nel caso del solvent gel è stato trovato essere di circa 17%. Questi risultati mostrano che la micro-emulsione ha rimosso molta più cera rispetto al solvent gel, lasciando sulla superficie del dipinto solo 8% di materiale. I risultati

[8] J. Perlo, F. Casanova, B. Blümich, Profiles with microscopic resolution by single-sided NMR, J. Magn. Reson. 176 (2005) 64–70.
[9] B. Blümich, F. Casanova, J. Perlo, F. Presciutti, C. Anselmi, B. Doherty, Noninvasive testing of art and cultural heritage by mobile NMR, Acc. Chem. Res. 43 (2010) 761–770.
[10] V Di Tullio, G Sciutto, N Proietti, S Prati, R Mazzeo, C Colombo, Microchemical Journal 141, 40-50, 2018.

ottenuti con l'NMR sono stati confrontati con quelli ottenuti con FT-IR portatile, Fig. 17c. Lo spettro IR dell'area non pulita (M1) ha mostrato le caratteristiche bande della cera. Dopo la pulitura con la micro-emulsione, si può osservare nello spettro una maggiore diminuzione delle intensità delle bande relative alla cera rispetto alla pulitura effettuata con il solvent gel dell'area M2. I dati ottenuti confermano quelli ottenuti con l'NMR portatile.

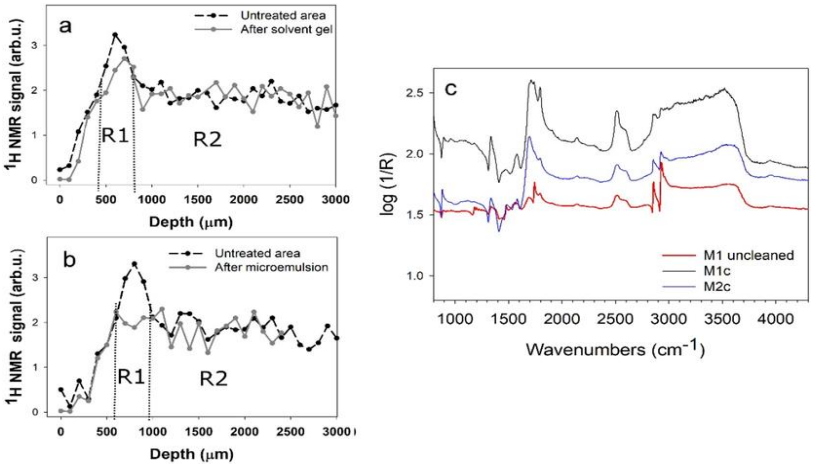



**Fig. 17:** a) 1H NMR profili area M1 non pulita ricoperta di cera (linea nera) e della stessa regione dopo la pulitura con solvent gel (linea grigia). b)1H NMR profili dell'area M2 prima (linea nera) e dopo la pulitura con micro-emulsione (linea grigia). c) Spettri nel vicino FTIR misurati in situ sull'area M2 prima e dopo la pulitura con micro-emulsione(M1c) e solvent gel (M2c).

La valutazione dell'efficacia dei due sistemi pulenti è stata realizzata anche attraverso misure colorimetriche, realizzate con uno spettrofotometro Konica Minolta CM-2600 prima e dopo la pulitura. Le variazioni di colore (ΔE) registrate, riportate nella tabella che segue, mostrano unΔE maggiore per il test di pulitura realizzato con la microemulsione rispetto a quello con il solvent gel (Fig. 18).

Il maggior incremento della luminosità (L*) con l'uso della microemulsioneè indice di una diminuizione della saturazione superficiale dovuta all'eliminazione dello strato di cera. Inoltre, le misure realizzate su di una campitura bianca (Fig. 19), mostrano anche il decremento dell'ingiallimento (diminuzione del valore della coordinata di colore b*).

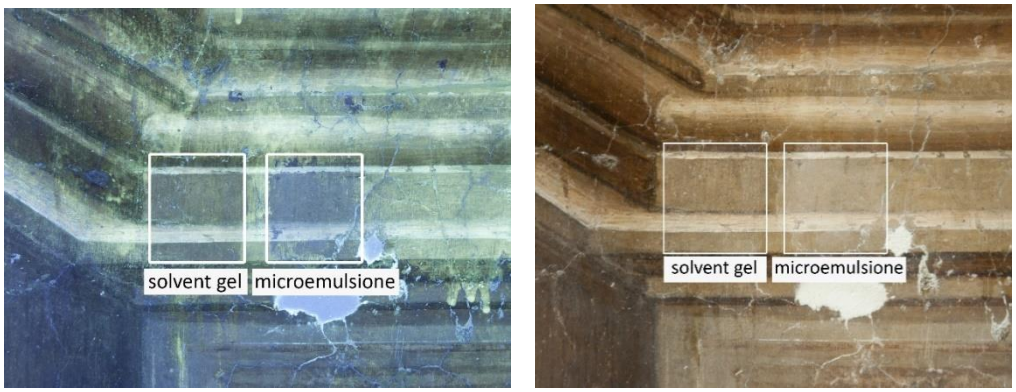



**Fig. 18**: test di pulitura sulla scena della Nascita della Vergine.

| | ΔE | ΔL* | Δa* | Δb* |
|---|---|---|---|---|
| **Microemulsione** | 13,61 | 13,47 | -0,75 | -1,76 |
| **Solvent gel** | 6,24 | 6,22 | -0,11 | 0,17 |

| ΔE | ΔL* | Δa* | Δb* |
|---|---|---|---|
| 12,72 | 9,42 | -4,29 | -7,36 |

**Fig. 19:** Tassello di sporco su cartiglio, vela Profeti e Sibille.

***Verifica del trattamento di ablazione laser***

Alcune aree dello *Sposalizio della vergine* erano alterate da strati di colorazione grigio scura che sono risultati insolubili ai normali test di solubilità. La caratterizzazione di questi strati insolubili è stata effettuata su campioni in polvere, analizzati mediante FTIR (Fig. 22), su stratigrafie, indagate mediante reflection-FTIR mapping e tramite indagini non invasive realizzate con Mid-FTIR portatile. Dai risultati è emersa la presenza di un omogeneo strato di ossalato di calcio nella forma Whewellite $Ca(C_2O_4)\cdot(H_2O)$, di uno spessore di circa 12-13 µm (Fig. 21).

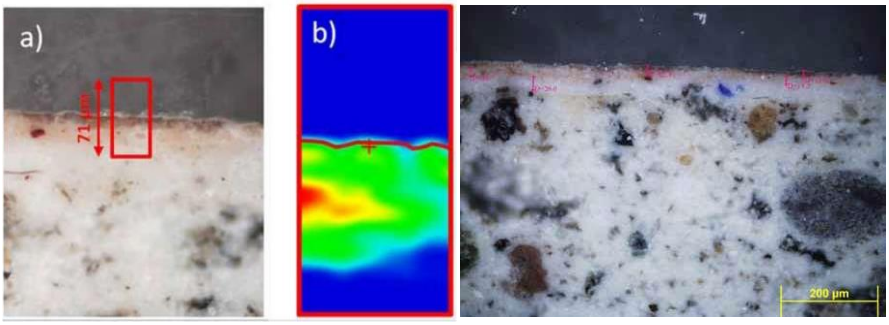



**Fig. 21:** Analisi stratigrafica campione L 1. a) area sottoposta ad analisi µFTIR-ATR mapping; b) distribuzione in falso colore dell'ossalato di calcio (area verde/rossa banda selezionata 1310-1330 $cm^{-1}$); c) Area ingrandita della sezione stratigrafica del campione A3 dalla quale si osserva lo spessore esiguo della pellicola d'ossalati, che si attesta entro i 12- 13 µm.

Per una corretta valutazione del risultato sono pertanto state realizzate delle misurazioni colorimetriche con Spettrofotometro Konica Minolta CM-2600 in aiuto alla valutazione visiva con microscopio digitale a contatto Dino-lite premier. Le misurazioni colorimetriche, realizzate su tutti i tasselli di pulitura (Fig. 23) prima e dopo l'ablazione laser, mostrano delle variazioni cromatiche complessive (ΔE) apprezzabili, mettendo in evidenza l'efficacia del metodo di pulitura (Fig. 24). Le differenze maggiori non si registrano per le variazioni delle variabili cromatiche a* e b*, che si attestano entro la "soglia di percettività"[11] e possono dunque considerarsi trascurabili, ma nei valori che indicano la variazione di luminosità (ΔL*), Fig. 25-26) indicando che le variazioni registrate sono dovute principalmente alla rimozione della patina scura dalle superfici dipinte. Le misure colorimetriche confermano

[11] Le percezioni dei cambiamenti cromatici e della luminanza non sono lineari, la distanza percepita tra i punti di variazione può essere stimate con la just noticeable difference (JND), cioè la soglia di percettività, che stabilizza quando un valore di variazione è percepito dall'occhio umano. Il valore oltre il quale la differenza di colere percepito dell'occhio umano è 3. Cfr. C. Oleari (a cura di) *Standard Colorimetry: Definitions, Algorithms and Software*, Wiley, ISBN 1118894448.

quindi una grande uniformità nei risultati ottenuti sui dodici tasselli, confermando il dato visibile ad occhio e il dato registrato dalla visione con microscopio digitale.

**Fig. 22:** Spettro FT-IR del Campione L 2, L'analisi infrarossa mette in evidenza la presenza di: 1. carbonato di calcio 2. ossalati di calcio 3. componente organica probabilmente di natura grassa (presenza

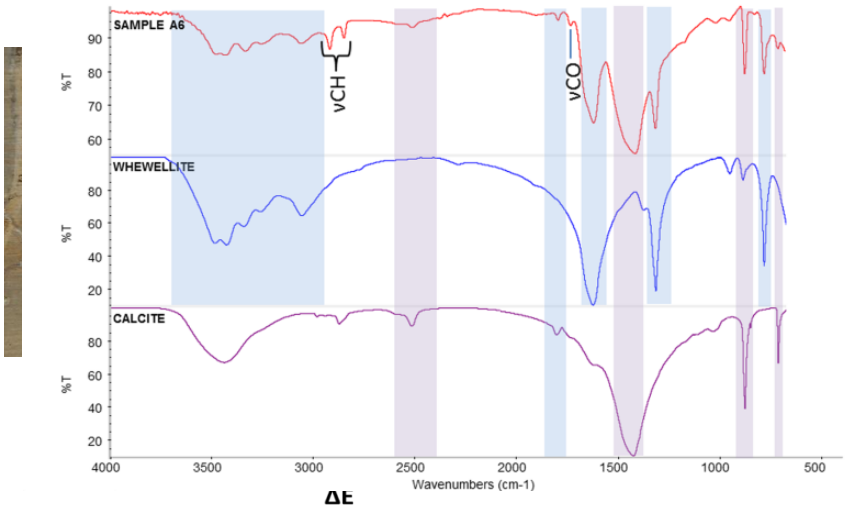



**Fig. 23** A destra, tasselli di pulitura sulla stesura azzurra in lapislazzuli e bianco di calce. A sinistra, tasselli di pulitura sulla stesura arancione in ocra rossa e bianco di calce.

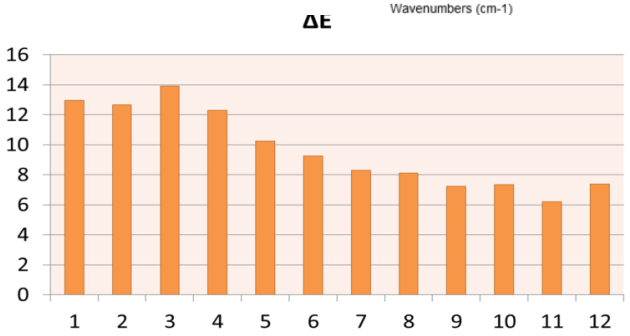



**Fig. 24:** Istogramma delle variazioni colorimetriche ΔE sui 12 tasselli dopo pulitura laser.

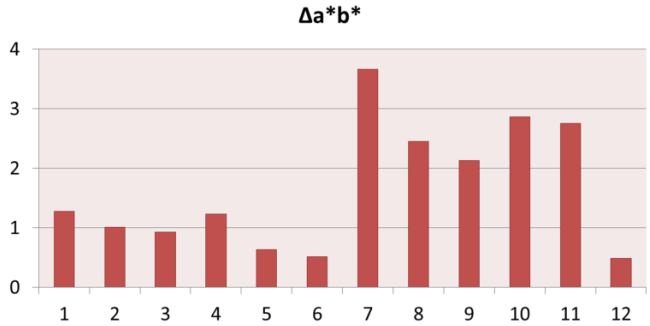



**Fig. 25:** Istogramma delle variazioni cromatiche della coordinata b* sui 12 tasselli dopo pulitura laser .

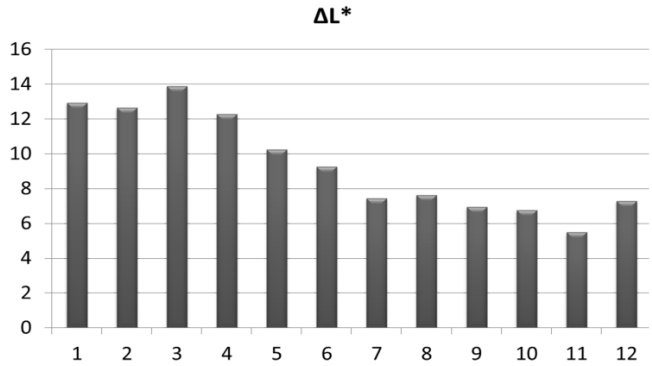



**Fig. 26:** Istogramma delle variazioni di luminosità ΔL* sui 12 tasselli dopo pulitura laser .

A seguito delle prove di ablazione laser, sono stati prelevati dei microcampioni dalle aree di transizione: le stratigrafie hanno evidenziato l'effettiva rimozione della pellicola d'ossalato e l'assenza di danni dovuti all'ablazione laser anche a livello microscopico (Fig. 27).

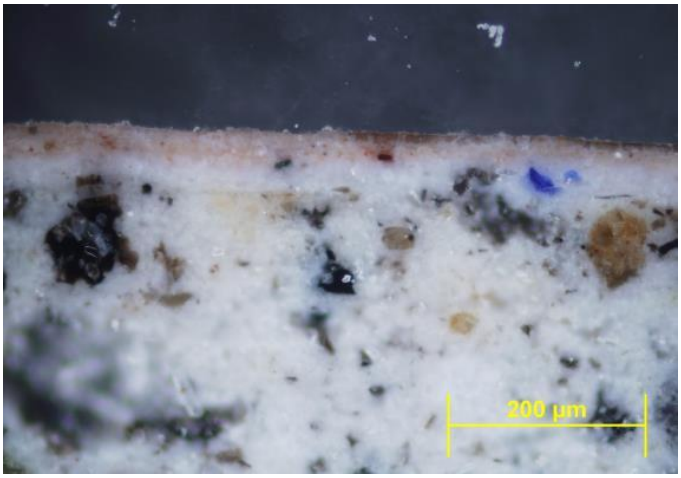



**Fig. 27:** L'osservazione al microscopio ottico dei campioni stratigrafici prelevati dalle zone di transizione tra area pulita e non pulita conferma l'assenza di danni, dovuti all'ablazione laser, anche a livello microscopico.

***Evaluation of hydrogel/bacteria cleaning methods by portable non-invasive unilateral NMR and portable near FTIR spectroscopy (MOLAB).***

To study the properties of two hydrogel/bacteria cleaning systems and to evaluate the water distribution at the surface of the wall painting, unilateral NMR measurements were carried out. In the first step of work, water transport in Carbogel, and Vanzan gel was investigated by measuring the longitudinal relaxation time (T1), the effective transverse relaxation time (T2eff) and the self-diffusion coefficient D. As well known, relaxation times (T1, T2) of polymer-based hydrogels depend on the molecular weight of the polymer, degree of branching, crosslink density, size of the side groups, and temperature. Furthermore, relaxation times depend on both rotational and translational molecular motions, whereas diffusion measurements are related only to the translational molecular displacement. T1 and T2 values found in Carbogel/bacteria, and Vanzan gels/bacteria cleaning systems are reported in Table 1. As reported in the literature, the transverse relaxation time (T2) of a nucleus is sensitive to both slow and fast motions, while the longitudinal relaxation time (T1) is affected by fast motions. The transverse relaxation time T2eff was found to be much shorter than T1 indicating that in both systems the water motion was slowed down by the presence of the polymeric network. The distributions of transverse relaxation times are reported in Fig. 28. In the case of Carbogel two components of the transverse relaxation time T2a and T2b were found, the shortest one of 3.61 ms accounting for 8% and the longest one of 53.4 ms accounting for 92% of the total weight, respectively. Instead in Vanzan three components T2a, T2b, and T2c of the transverse relaxation time were found, the shortest one of 3.2 ms, the intermediate one of 8.8 ms and the longest one of 53.5 ms accounting for 4%, 2%, and 94% of the total weight. It is well known that different states of water in hydrogels are characterized by different correlation times, which, in the absence of fast exchange, cause the onset of different transverse relaxation times. In Carbogel/bacteria system the two T2 components may be explained with the presence of two types of water. The shortest component may be ascribed to water in the first shell of solvation of the polymeric network involved in hydrogen bond and/or exchange with the network. The longest one may be ascribed to water free to move across the network. In the case of Vanzan a third component intermediate between the shortest and the longest ones is observed. This component is likely to be ascribed to water in a second shell of solvation, this water, even if not directly involved in hydrogen bonds with the polymeric network is affected by the presence of the network itself, and it is possibly in a slow exchange with water of the first solvation shell. The presence of different solvation shells in polymeric networks has been previously reported in literature. To study the translational motion of water molecules in gel/bacteria systems,

the self-diffusion coefficient was measured. Using unilateral NMR, the attenuation of the spin echo amplitude generated under a strong, uniform and static magnetic field gradient allows the measurement of the self-diffusion coefficient which gives information on molecular dynamics and sample microstructure. Values of self-diffusion coefficients measured in Carbogel and Vanzan gel/bacteria systems are reported in Table 1.

Table 1.

| | $T_1$ (s) | $T_{2a}$ (ms) | $W_a$ % | $T_{2b}$ (ms) | $W_b$% | $T_{2c}$ (ms) | $W_c$ % | D $*10^{-9}$ $m^2/s$ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Carbogel 2% | 1.7±0.1 | 3.61 | 8 | - | - | 53.4 | 92 | 2.05±0.01 ($R^2$ 0.998) |
| Vanzan gel 3% | 1.6±0.1 | 3.2 | 4 | 8.8 | 2 | 53.5 | 94 | 1.99±0.01 ($R^2$ 0.998) |

These values were found to be smaller than the self-diffusion coefficient of bulk water (2.1 ∗ 10−9 m2/s at room temperature) indicating that the translational motion of water molecules was slightly hindered by the presence of the macromolecules. The beeswax hydrophobicity strongly affects the wettability of the wall painting, therefore the capability of the cleaning system to release water may be affected by the presence of beeswax. 1H NMR depth profiles were collected on the wall painting after the application of hydrogel/bacteria cleaning systems. Profiles collected before and after the beeswax removal are reported in Fig. 28b. After beeswax removal, the depth profile of the wall painting showed a remarkable increase of the absorbed water, a quantitative evaluation was carried out by numerical integration of the profile. Because in the 1H NMR depth profile each point represents the amount of water at that depth, the integral of the depth profile is correlated to the total amount of water absorbed by the porous medium. In order to obtain the percentage of water saturation WS of the wall painting before and after the application of the cleaning treatment the following equation was applied:

$$WS = \frac{I_i - I_{min}}{I_{max} - I_{min}} * 100$$

where Imin is the integral of the profile obtained before the application of hydrogels/bacteria cleaning system, Imax is the integral of the profile at the longest time of application, and Ii is the integral of the profile at ith time of application. According to this equation in the case of the uncleaned area the WS value was found to be 62% with respect to the value calculated in the case of the cleaned area (100%), indicating that the removal of beeswax increased the wettability of about 40%. 1H NMR depth profiles were also collected to evaluate the amount of water released by the gel/bacteria systems in the porous structure of the wall painting after 2- and 4-hours application, see Fig. 28c. The amplitude of depth profiles measured after 2-hours (WS 83%) and 4-hours application (WS 100%) of Carbogel/bacteria system were similar to each other indicating that the water releasing process from the cleaning system into the porous structure of the wall painting was almost complete after 2 h. Instead the amplitude of depth profiles measured after 4-hours application (WS 60%) of Vanzangel/bacteria system was found to be definitely higher than that collected after 2-hours application (WS 25%). These results indicated that the kinetics of water absorption from the cleaning system to the porous structure depended on the type of gel as well as the time of application. Furthermore, according to results obtained by unilateral NMR, the wall painting displayed a better degree of wettability using Carbogel than Vanzan gel, proving Carbogel to be the best supporting material to subsume the bacteria suspension and convey bacteria through the porous

structure. The removal of salt efflorescences was evaluated by portable near FTIR spectra collected in situ before and after 2-hours application of Carbogel/bacteria and Vanzan gel/bacteria systems, see Fig. 28d and e In both cases, after the cleaning treatment the bands at 2240 and 2350 cm−1 due to gypsum were reduced indicating the effectiveness of treatments to remove salt efflorescences. Our results indicated that the presence of beeswax affected the performance of water-based cleaning systems inhibiting their action.

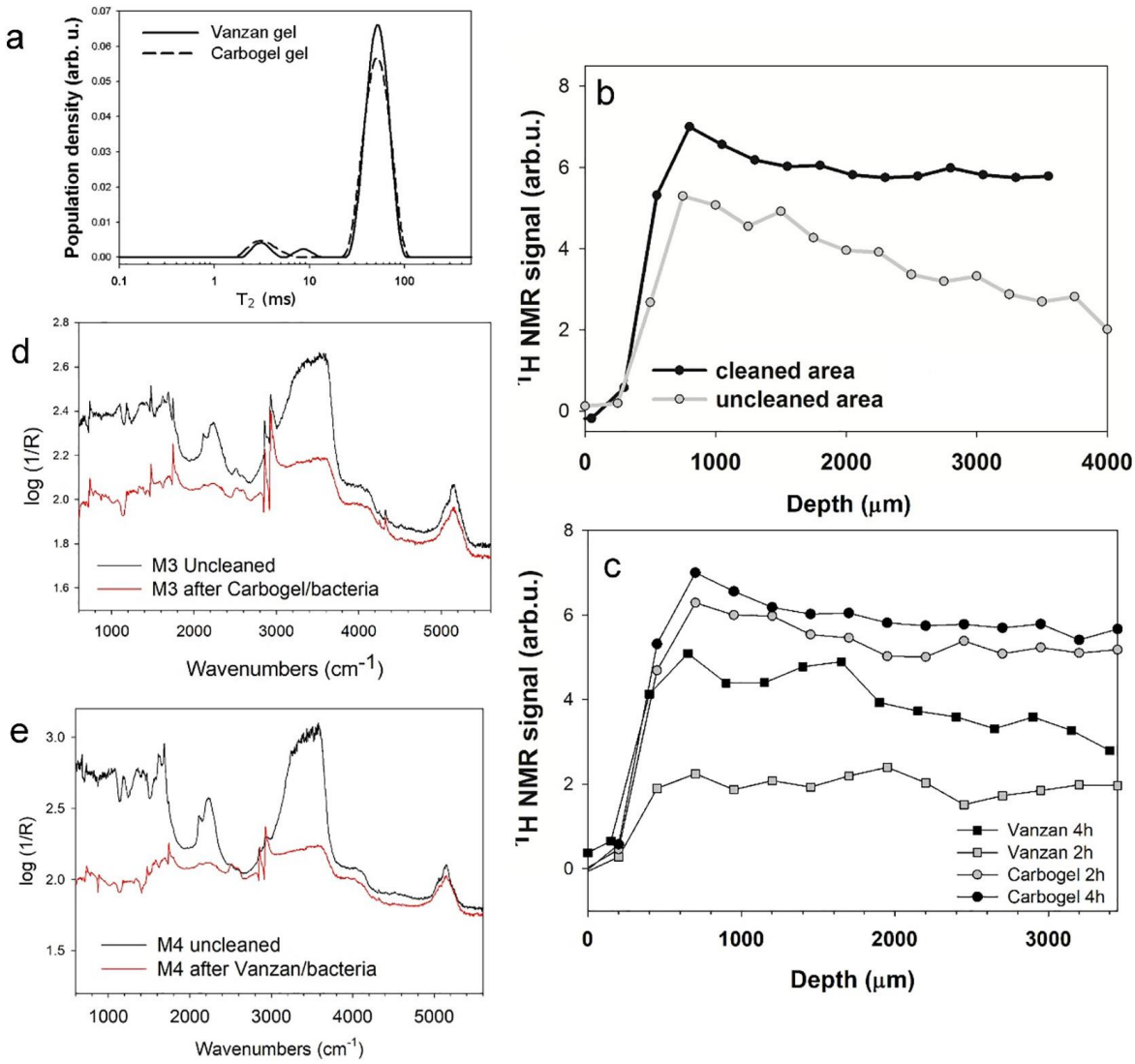



*Figure 28 a) Transverse relaxation time distributions of Vanzan gel/bacteria (solid line) and Carbogel/bacteria (dashed line) systems. b) 1H NMR depth profiles of water absorbed in an uncleaned area of the wall painting (gray line) and a cleaned area where the beeswax layer had been previously removed (black line). c) 1H NMR depth profiles of water released into the porous structure of the wall painting after applying the Carbogel/bacteria system for 2 (gray circles) and 4 h (black circles), and the Vanzan gel/bacteria system for 2 (gray squares) and 4 h (black squares). Near FTIR spectra collected on areas M3 and M4 before and after 2-hours treatment with d) Carbogel/bacteria system and e) Vanzan gel/bacteria system respective.*

Dr. Valeria Di Tullio