

# METODE DE PREZERVARE A OBIECTELOR DE PATRIMONIU CULTURAL DIN BETON DIN ROMÂNIA

**RADU PERICLEANU<sup>1,2</sup>, ANDREEA ȘTEFANIA DUMBRAVĂ<sup>1,3</sup>, VIORICA MARIA CORBU<sup>1,2</sup>, IOANA CRISTINA MARINAȘ<sup>2</sup>, DENISA FICAI<sup>4</sup>, ANTON FICAI<sup>4</sup>, MARIANA CARMEN CHIFIRIUC<sup>1,2,5</sup>, IRINA GHEORGHE-BARBU<sup>1,2</sup>, TATIANA EUGENIA ȘESAN<sup>1,6</sup>**

<sup>1</sup>Facultatea de Biologie, Universitatea din București, <sup>2</sup>Institutul de Cercetare al Universității din București (ICUB), <sup>3</sup>IRASM, Institutul de Fizică și Inginerie Nucleară „Horia Hulubei”, <sup>4</sup>Universitatea Națională de Știință și Tehnologie Politehnica București, <sup>5</sup>Academia Română, <sup>6</sup>Academia de Științe Agricole și Silvice din România.

## INTRODUCERE

- Biodeteriorarea** reprezintă un proces complex și progresiv în care activitatea biologică a microorganismelor cauzează alterări fizice, chimice, mecanice și estetice indezirabile (Allsopp, 2004; Dakal și Cameotra, 2012).
- În prezent, **biodeteriorarea** obiectelor de patrimoniu cultural reprezintă o problemă majoră cu consecințe ireversibile, microorganismele fiind capabile să colonizeze obiecte de patrimoniu confecționate din lemn, piatră, hârtie, materiale textile, reducând valoarea culturală a acestora (Pyzik et al., 2021). Astfel, este necesară dezvoltarea și optimizarea de noi strategii de combatere.
- OBIECTIVUL** studiului este demonstrarea eficienței nanoparticulelor de argint (Ag NPs) în combaterea biodeteriorării obiectelor de patrimoniu cultural din beton, prin evaluarea efectelor: antimicrobian, anti-biofilm, anti-enzimatic și a impactului asupra producerii de oxid nitric (NO) și a conținutului extracelular de Ca<sup>2+</sup>.

## MATERIALE ȘI METODE

- Material model** din beton funcționalizat cu NP Ag (Figura 1)
  - Tulpini bacteriene** - *Bacillus megaterium* și *B. cereus* (codificate NS5-R și C16156B)
  - Tulpini fungice** - *Penicillium chrysogenum* (codificate NS11C și NS4-2B).
- Izolate de pe obiecte de patrimoniu cultural din România și identificate prin metode convenționale de taxonomie și prin spectrometrie de masă MALDI-TOF;
- Cultivate în prezența materialelor model din beton funcționalizate cu NP Ag pentru determinarea:

- Viabilității celulare** – determinată prin raportul dintre numărul de unități formatoare de colonii (UFC/mL) în prezența materialului model tratat și UFC/mL obținut la culturile microbiene netratate.
- Influența capacității de aderență la substrat inert** – prin determinarea procentului de inhibare a capacității de aderență (PICA%), conform relației:  $PICA\% = \frac{As}{Ac} \times 100$ ; unde As= valoarea absorbției reprezentative pentru capacitatea de aderență la materialul model; Ac= valoarea absorbției din cazul tulpinilor netratate.
- Impactul asupra capacității enzimatică** – determinat prin cultivarea pe medii de cultură specifice pentru evaluarea producerii de enzime proteolitice, lipolitice, amilolitice, celulozolitice și secreției de acizi organici și determinarea procentului de inhibiție.
- Evaluarea conținutului de NO extracelular** atât în prezența inoculului microbial cât și în absență, calculându-se consumul de NO extracelular raportat la NO existent în mediul extracelular, conform relației:  $NO\ extracelular\ (\%) = 100 - \frac{Conc.\ NO,\ proba\ inoculată}{Conc.\ NO,\ proba\ neinoculată} \times 100$
- Cuantificarea conținutului de calciu ca produs de degradare al betonului**



Figura 1. Aspectul materialului model din beton.

## REZULTATE

### Evaluarea viabilității microbiene în contact cu materialul model din beton tratat cu Ag NPs

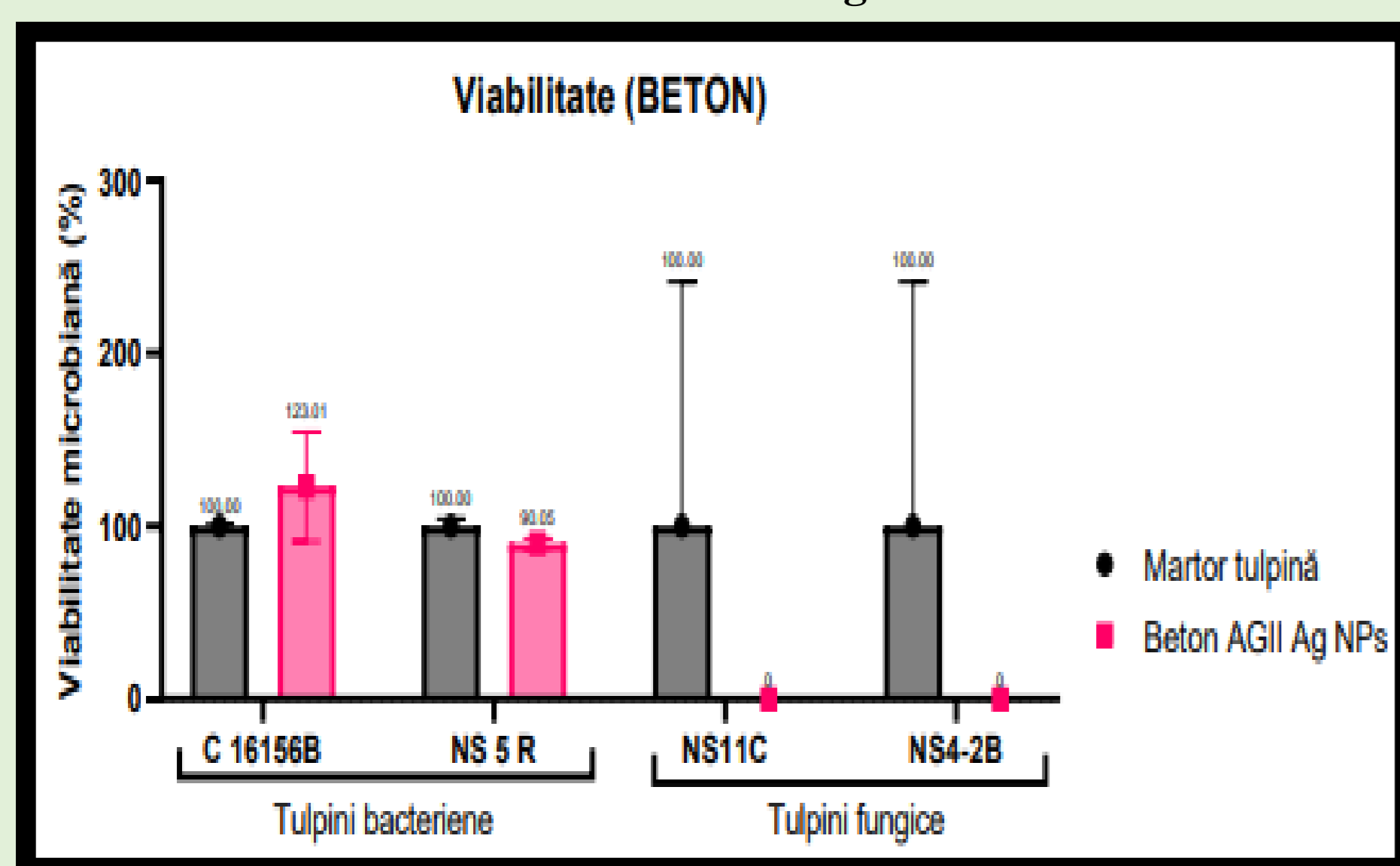


Figura 2. Viabilitatea tulpinilor microbiene în prezența materialului model din beton tratat cu Ag NP.

- În investigarea impactului substratului model din beton asupra viabilității celulare:
- nu a fost observat un efect semnificativ în cazul tulpinilor bacteriene, valorile procentului de viabilitate fiind de 123,01% pentru tulpina C16156B, respectiv 90,05% pentru tulpina NS5R,
- în cazul tulpinilor de microfungi inhibarea viabilității a fost completă, procentele de viabilitate - valoarea de 0% (Figura 2).

### Evaluarea impactului materialului model din beton tratat cu Ag NPs asupra capacității de aderență

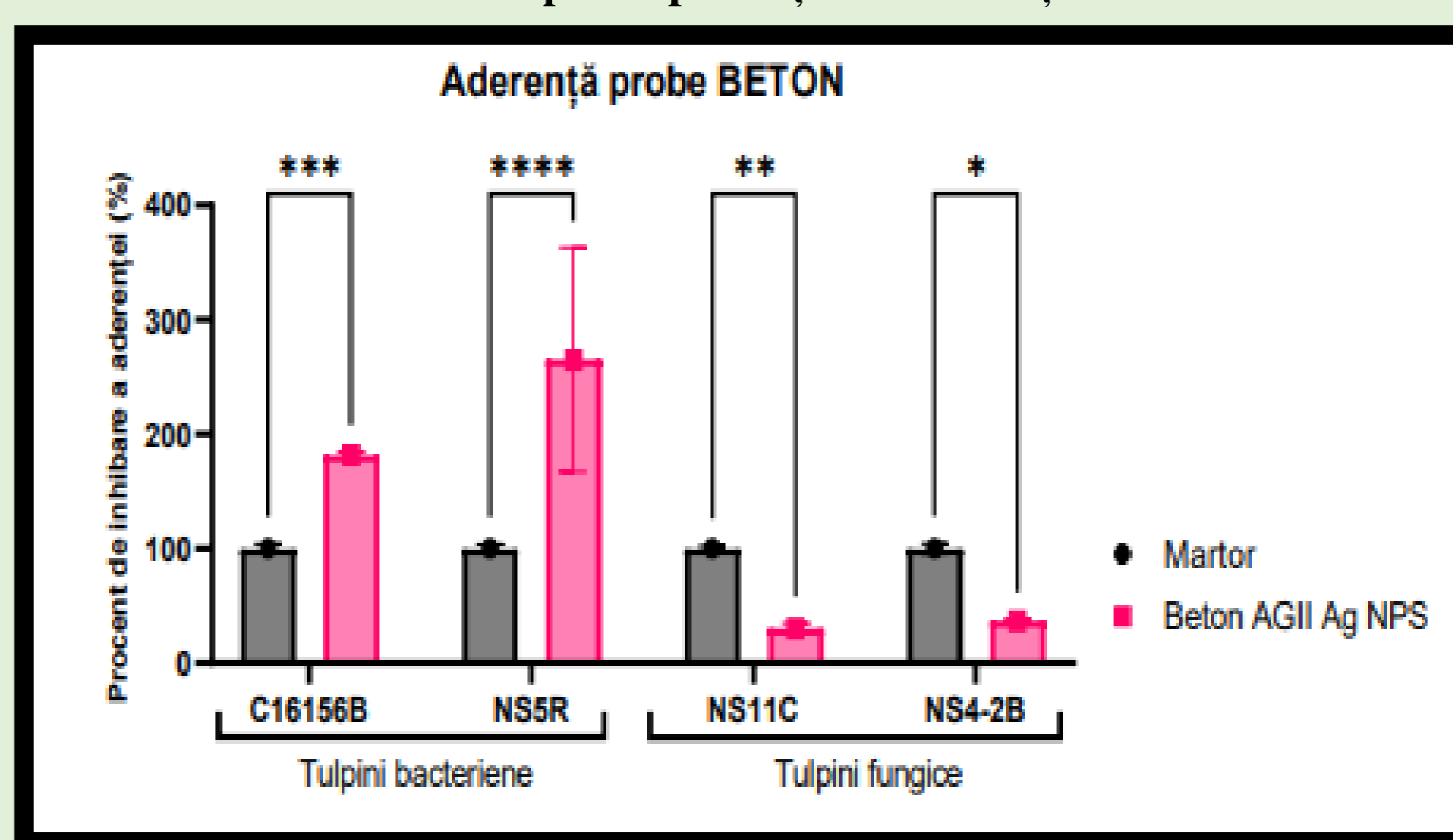


Figura 3. Reprezentarea grafică a efectului inhibitor al materialului model din beton asupra capacității de aderență a tulpinilor bacteriene și de microfungi (\* p < 0.05, \*\* p < 0.01; \*\*\* p < 0.001, \*\*\*\* p < 0.0001).

- Un aspect esențial de avut în vedere atunci când se evaluează eficiența unui material în protejarea obiectelor de patrimoniu este capacitatea acestuia de a inhiba formarea biofilmelor microbiene.
- Evaluarea capacității de aderență a tulpinilor microbiene în prezența materialului model din beton tratat cu Ag NPs a determinat o reducere semnificativă a capacității de aderență în cazul tulpinilor de fungi filamentoși (valori ale PICA% de 26,66% - tulpina NS11C și 33,33%, pentru tulpina NS4-2B), iar în cazul tulpinilor bacteriene nu se observă reduceri ale capacității de aderență (valori ale PICA% de 186% - tulpina C16156B și 264,28% - tulpina NS5R)(Figura 3).

### Evaluarea conținutului de NO extracelular

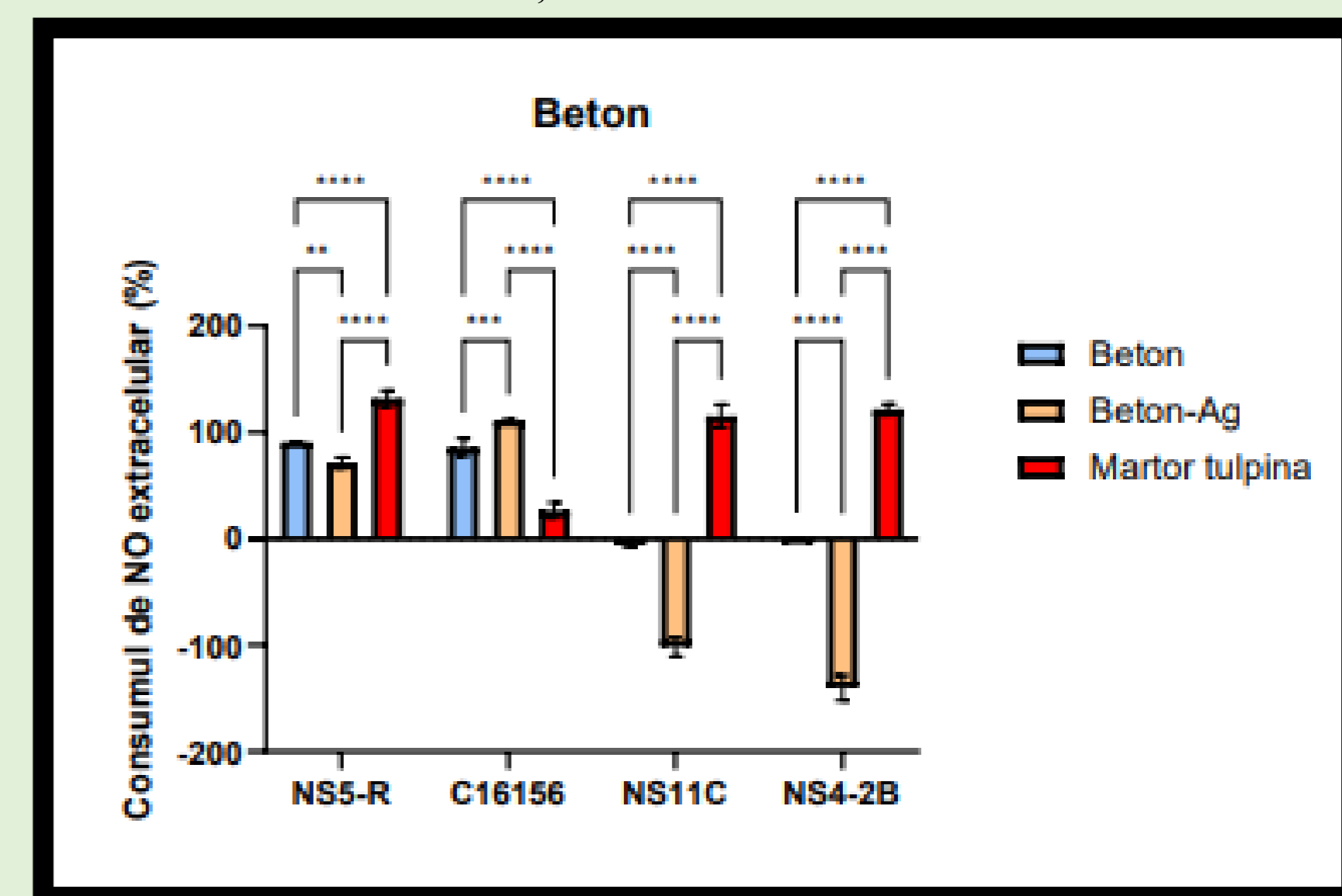


Figura 4. Consumul de NO extracelular generat de microorganismele biodeterioare în prezența tratamentelor cu soluțiile pe bază de Ag (\* p < 0.05, \*\* p < 0.01; \*\*\* p < 0.001, \*\*\*\* p < 0.0001).

- Speciile reactive de azot (RNS) se acumulează intracelular conducând la distrugerea celulelor microbiene prin provocarea stresului oxidativ și nitrosativ (Chautrand și colab., 2022). După moartea microorganismelor, RNS se eliberează în mediul extracelular, continuând să afecteze atât alte microorganisme cât și acidificarea mediului provocând daune substratului. Această dublă funcție subliniază atât importanța biologică a RNS în controlul populațiilor microbiene, cât și implicațiile mai ample asupra mediului generat de producția lor, în special în legătură cu conservarea artefactelor culturale și istorice (Gupta și colab., 2017).
- În cazul materialului model din beton tratat cu NP de Ag, doar în cazul tulpinilor fungice s-au obținut valori negative semnificative față de martorul de tulpină (p<0.0001) (Figura 4).

### Cuantificarea conținutului de Ca - produs de degradare al betonului

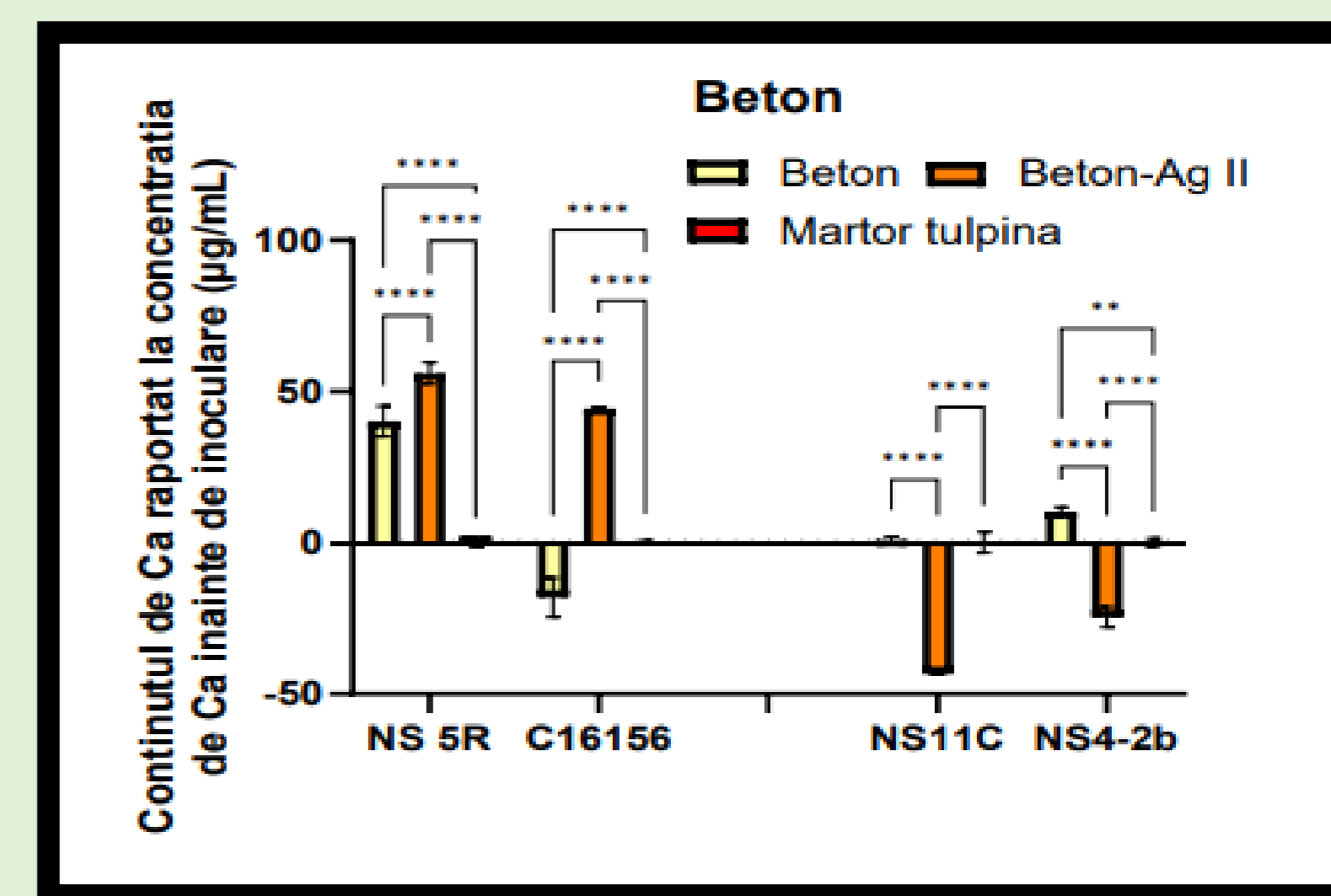


Figura 6. Conținutul de calciu din mediul extracelular ca produs de degradare al betonului tratat cu Ag NPs (\* p < 0.05, \*\* p < 0.01; \*\*\* p < 0.001, \*\*\*\* p < 0.0001).

- Monitorizarea regulată a nivelurilor de calciu, împreună cu alți indicatori precum pH-ul și integritatea structurală, ajută la evaluarea stării obiectelor de patrimoniu și la planificarea măsurilor de conservare adecvate (Cheng și colab., 2013).
- În cazul materialului model din beton tratat cu soluția de Ag (Figura 6), s-a observat o creștere semnificativă a eliberării de Ca<sup>2+</sup> față de betonul netratat (p<0.0001).

### Evaluarea impactului materialului model din beton tratat cu Ag NPs asupra suportului biochimic al tulpinilor microbiene

	Cazeiniză			Esterază			Acizi organici			Amilază		
	Medie	Deviație standard	valoare p	Medie	Deviație standard	valoare p	Medie	Deviație standard	valoare p	Medie	Deviație standard	valoare p
<b>BETON</b>												
<b>Tulpini bacteriene</b>												
<b>C16156B</b>												
Martor tulpină	100	10,65	-	100	41,95	-	-	-	-	100	27,95	-
Beton AGII Ag NPs	95,65	10,65	0,996	93,33	23,09	0,9373	-	-	-	92,31	25,28	0,8155
<b>NS5R</b>												
Martor tulpină	100	19,09	-	100	16,11	-	-	-	-	100	24,19	-
Beton AGII Ag NPs	73,77	12,05	0,224	98,04	16,98	0,9944	-	-	-	113,7931	11,33	0,5284
<b>Tulpini fungice</b>												
<b>NS11C</b>												
Martor tulpină	100	0	-	-	-	-	100	33,47	-	-	-	-
Beton AGII Ag NPs	100	0	>0,9999	-	-	-	40	97,98	0,2616	-	-	-
<b>NS4-2b</b>												
Martor tulpină	100	49,79	-	-	-	-	100	51,64	-	-	-	-
Beton AGII Ag NPs	68,18	32,14	0,3836	-	-	-	183,3333	70,71	0,2732	-	-	-

Tabelul 1. Impactul materialului model din beton tratat cu Ag NP asupra capacității enzimatică și de producere de acizi organici.

- Capacitatea de a secreta caseinaze și esteraze a fost slab inhibată în prezența materialului model din beton AGII Ag NPs pentru toate tulpinile testate.
- În cazul producerii de acizi organici s-a identificat un puternic efect stimulator în cazul tulpinii *P. chrysogenum* NS4-2B (183,33%).

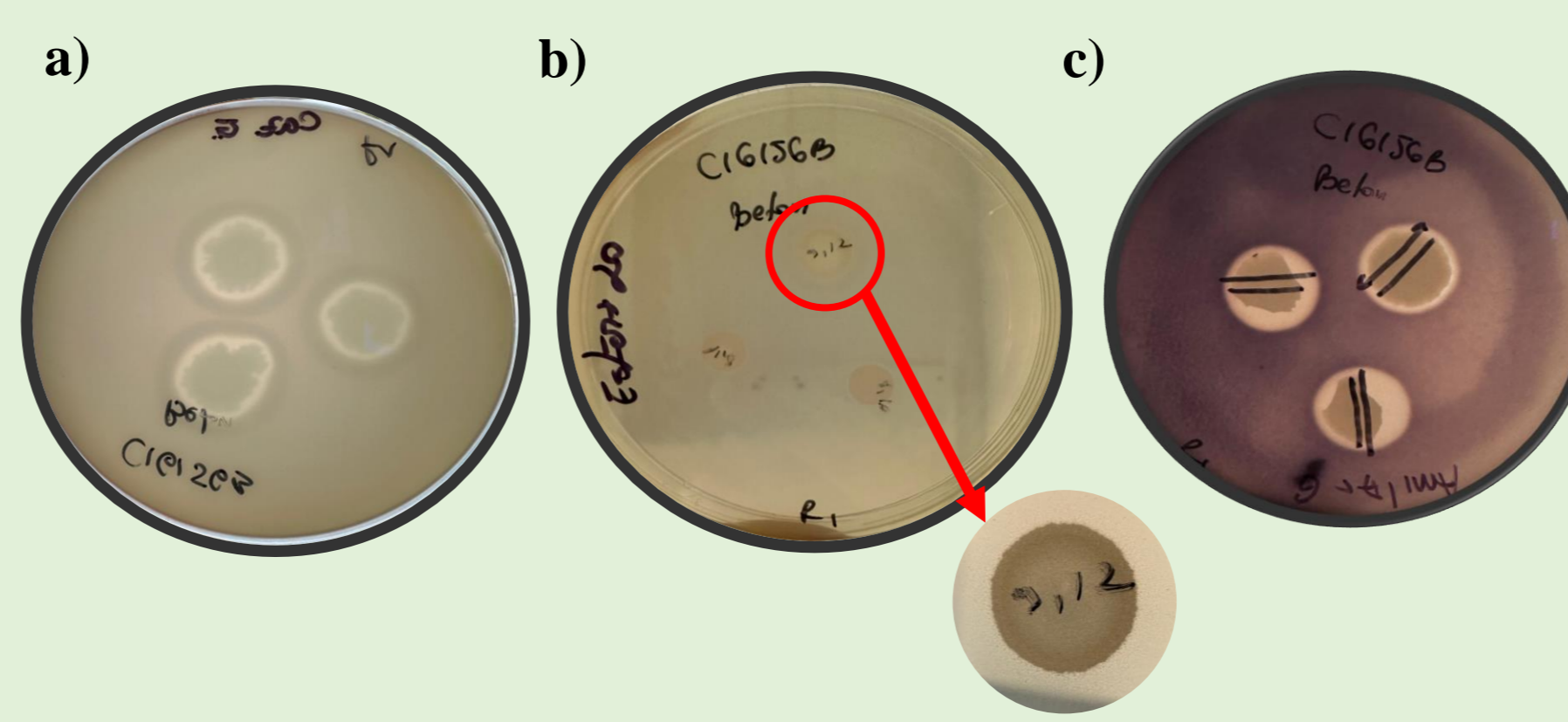


Figura 5. Aspectele reacțiilor pozitive ale tulpinilor deteriorate pentru: a) hidroliza caseinei; b) aspectul precipitatului după producerea de esteraze; c) producerea de amilaze.

## CONCLUZII

- Rezultatele obținute evidențiază aplicabilitatea NP de Ag în cadrul dezvoltării și optimizării de strategii de preservare a obiectelor de patrimoniu cultural tangibil oferind o metodologie sustenabilă și cu impact minim asupra integrității materialelor tratate și a mediului înconjurător.

## BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

- Dakal, T.C., Cameotra, S.S. Microbially induced deterioration of architectural heritages: routes and mechanisms involved. (2012)
- Franco-Castillo E, Hierro L, de la Fuente JM, Simal-Ascaso A, Mitchell S G. Perspectives for antimicrobial nanomaterials in cultural heritage conservation (2021)
- Chautrand T, Souk D, Chevalier S, Declairoux-Poc C. Gram-Negative Bacterial Envelope Homeostasis under Oxidative and Nitrosative Stress. Microorganisms. (2022)
- Gupta, A, Gupta, R, Singh, RL. Microbes and Environment. In: Singh, R. (eds) Principles and Applications of Environmental Biotechnology for a Sustainable Future. Applied Environmental Science and Engineering for a Sustainable Future. Springer, Singapore. (2017)
- Cheng A, Chao SJ, Lin WT. Effects of Leaching Behavior of Calcium Ions on Compression and Durability of Cement-Based Materials with Mineral Admixtures. Materials (Basel). (2013)

## MULȚUMIRI