



Aplicació dels enzims en la conservació i restauració pictòriques

En les intervencions de restauració, qualsevol procés presenta riscos i contraindicacions, però la neteja és una de les fases més arriscades. La neteja implica una acció directa però no del tot controlable sobre la superfície pictòrica mitjançant mitjans mecànics (bisturi), fisicoquímics (dissolvent), químics (àcids, bases, agents quelants) o bioquímics (enzims).

Rosa Prat i Mas. Alumna 3er. Pintura. Curs 2000-2001.

Una pintura, ja sigui sobre taula, tela, mural o qualsevol altre suport, pot considerar-se com una estructura amb estrats físicament diferenciats, però íntimament lligats els uns amb els altres i amb interaccions fisicoquímiques més o menys fortes.

Els dissolvents són líquids volàtils, d'origen orgànic i baix pes molecular. El dissolvent actua intercalant-se en les partícules del sòlid i facilitant la seva eliminació.

L'acció d'un dissolvent sobre un substrat es concreta en tres accions:

- 1.- Penetració: a través dels espais buits o porosos del substrat.
- 2.- Evaporació: regula el temps d'actuació d'un dissolvent sobre un substrat.
- 3.- Dissolució: deguda a una certa similitud entre el conjunt d'enllaços del sòlid del substrat i els enllaços de les molècules del dissolvent.

ENZIMS: DEFINICIÓ I CARACTERÍSTIQUES

Els materials orgànics utilitzats com aglutinants i vernissos protectors en la tradició pictòrica són productes naturals i com a tal presenten degradacions dels seus agents bioquímics. Per la via química, la seva descomposició parcial necessita tractament més aviat energètic, que en els organismes vius és obra parcialment dels enzims, catalitzadors biològics.

Els enzims són proteïnes que existeixen en els éssers vius en petites quantitats. Tenen la funció de catalitzadors específics de reaccions del metabolisme animal, vegetal i microbià i augmenten considerablement la velocitat de les reaccions en les que intervenen.

Característiques:

- Especificitat: és la propietat d'actuar sobre una única substància o sobre un grup de substàncies. Això els distingeix de la major part dels catalitzadors.
- Gran eficiència catalítica: presenten la capacitat de simplificar un elevat número de molècules del substrat.

La perspectiva d'utilitzar-los en les intervencions de restauració neix de la necessitat de trobar una solució alternativa als mitjans fisicoquímics tradicionals, que presenten nombrosos inconvenients, entre ells l'agressivitat i la no especificitat.

La utilització dels enzims permetria de seleccionar el tipus de compostos ben definits, operar en condicions menys dures per l'obra d'art que en una neteja química i sobretot sense interferir en els materials orgànics de diferent composició i que es volen mantenir intactes. Per exemple: una estratificació de materials proteics sota un oli, un enzim que catalitzi la hidròlisi dels enllaços peptídics de les proteïnes, no actua amb les molècules del triglicèrid de l'oli.

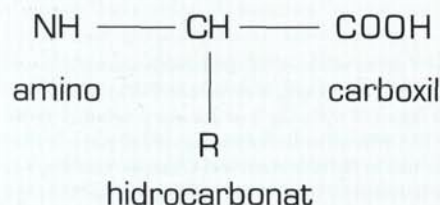
Naturalment, la selecció de l'enzim idoni per un cas específic comporta una anàlisi química prèvia del material que es vol estovar i eliminar i del material que s'ha de protegir. A més a més, cal considerar els paràmetres fisicoquímics en què es basa la influència de l'activitat enzimàtica:

- 1.-Temperatura òptima: cada enzim té una temperatura òptima en la qual catalitza amb la màxima velocitat.
- 2.-Interval de pH: cada enzim té un interval de pH en el qual la seva activitat és màxima. En un pH inferior o superior, la velocitat de reacció disminueix.
- 3.-Presència d'activadors i inhibidors: entre els inhibidors de l'activitat dels enzims es troben els cations dels metalls pesats (plom, ferro i coure), que formen part de molts pigments inorgànics. La seva presència és suficient per bloquejar l'activitat d'aquest.

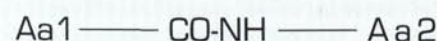
Estructura:

Des del punt de vista estructural, els enzims són proteïnes, simples o conjugades, llargues cadenes polipeptídics, formades per aminoàcids lligats entre ells, mitjançant enllaç peptídic.

Els aminoàcids són molècules formades per un radical hidrocarbonat, un grup carboxil i un grup amino:



L'enllaç peptídic el constitueixen el grup carboxil de l'aminoàcid 1 i el grup amino de l'aminoàcid 2:





Els enzims extracel·lulars tenen un paper important en la degradació de les obres d'art. La seva funció principal és provocar canvis químics en els nutrients presents en el medi per transformar-los en aliments per la cèl·lula. Aquests enzims, degraden complexos molècules com ara proteïnes, cel·lulosa, lignina, en estructures més simples que són solubles en aigua.

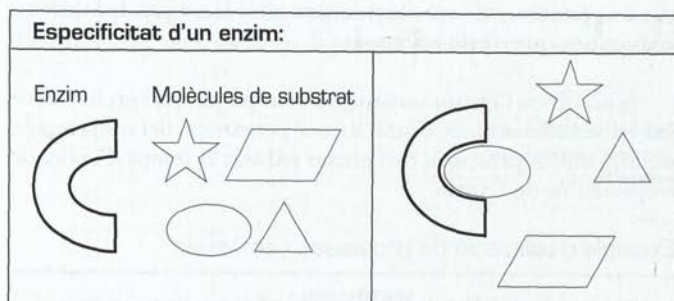
Els enllaços entre les cadenes d'aminoàcids es poden veure alterats per diferents factors:

- La temperatura
- El pH del medi
- La presència de substàncies iòniques.

L'estructura d'una proteïna en determina la seva funció biològica: les proteïnes fibroses tenen funcions de tipus estructural, mentre que les proteïnes considerades globulars tenen funcions de transport o enzimàtiques. Si la forma es veu alterada, també canviarà la seva activitat.

ESPECIFICITAT DELS ENZIMS

Cada enzim té una part anomenada part activa o centre actiu, i la seva composició permet la reacció amb un substrat d'estructura espacial molt determinada. Entre les nombroses molècules que es troben al voltant, l'enzim té la capacitat de reconèixer la que té l'estructura justa i que encaixarà perfectament amb la seva, iniciant així el procés que constitueix el cicle catalític de l'enzim. Les altres molècules del substrat, que no tenen l'estructura específica per reaccionar amb l'enzim, no es veuran afectades per l'acció d'aquest. Aquesta especificitat s'anomena principi de "key-lock" o clau-pany.



EL CICLE CATALÍTIC DELS ENZIMS:

Si simbolitzem els enzims per E i el substrat sobre el qual actua per S, el cicle catalític dels enzims es pot representar senzillament de la manera següent:

1. $E + S \longrightarrow ES$ Associació
2. $ES \longrightarrow ES(1)$ Transformació
3. $ES(1) \longrightarrow E + S(1)$ Dissociació

El substrat i l'enzim s'apropen. Es forma un complex enzim-substrat. En aquest punt es produeixen canvis en l'estructura de l'enzim que permeten la formació de nous enllaços com forces d'atracció de tipus polar, apolar i enllaços d'hidrogen i la dissociació dels enllaços preexistents transformant el complex en ES(1). En el cas d'una reacció d'hidròlisi, es trenca la molècula del substrat. Amb la transformació que ha esdevingut, la nova estructura del substrat ja no reaccionarà més amb l'enzim i el

complex ES(1) es dissociarà altra vegada alliberant el substrat transformat S(1) i l'enzim inalterat E, donant per acabat el cicle catalític.

Algunes molècules orgàniques tenen una gran afinitat amb certs enzims, és a dir, tenen la capacitat d'enllaçar amb el centre actiu amb un enllaç tant fort que el complex s'estabilitza indefinidament, i n'impedeix la dissociació. Aleshores la funció de l'enzim es veu inhibida. Altres factors, com la variació del pH, la temperatura, la presència de certs ions, modifiquen l'estructura de l'enzim i n'alteren l'activitat.

ACCIÓ DELS ENZIMS EN RESTAURACIÓ

A partir dels anys 70 els enzims varen poder ser aïllats de forma estable i purificats i a partir d'aleshores es va experimentar el seu us en el camp de la restauració, per intervencions de consolidació i de neteja d'obres d'art.

Els enzims utilitzats en el camp de la restauració són les hidrolases, els enzims capaços de catalitzar el trencament de les macromolècules. Més concretament, són enzims proteolítics (catalitzen proteïnes), enzims lipolítics (catalitzen lípids) i enzims glucosidases (catalitzen polisacàrids). La utilització d'enzims pot representar una alternativa a l'ús dels àcids i de les bases per estovar i eliminar les substàncies polimeritzades i envellides.

PROTEASES:

Els enzims proteolítics poden ser, segons el seu origen:

- Animal: derivats del teixit orgànic: pepsina, tripsina, pancreatina, i proteïnes gàstriques.
- Vegetal: obtingudes del fruit ananàs (bromelaïna), papaia (papaïna) i figues (ficina).
- Microbià: després d'aïllar algun tipus de bacteris (Bacillus) i fongs (Aspergillus).

Les proteases poden requerir un medi bàsic (proteases d'origen microbià), neutre (papaïna) o àcid (pepsina i tripsina). Per la seva capacitat de degradar pèptids, són adequats per l'estovament de materials com coles i gelatina d'animals, albúmines, caseïna i ou.

LIPASES:

Les lipases necessiten d'un medi de pH neutre-bàsic. Gràcies a la seva acció hidrolítica davant dels triglicèrids, les lipases poden ser utilitzades en intervencions de neteja que necessiten estovar olis assecants (vernissos oleo-resinosos i repintats). Algunes lipases, constituïdes per èsters, podran ser utilitzades per l'estovament de ceres i resines sintètiques com èsters acrílics i vinílics. En repints amb oli, alguns metalls pesants (ferro, plom, mercuri i coure) actuen com inhibidors de l'enzim. Aquests metalls, a la vegada, són constituents de nombrosos pigments, sobretot antics, com mini, cinabri, ocre i terres, atzurita i malaquita, d'ús molt comú. Aleshores, és possible que un repint a l'oli sigui resistent a l'acció dels enzims.

AMILASES:

Les amilases necessiten per actuar un medi de pH neutre. Poden ser utilitzades per l'eliminació de diverses substàncies utilitzades en restauració. Per exemple, pasta de midó, goma aràbiga i gomes vegetals i no és necessari un procés d'hidròlisi per estovar-les. Les amilases no degraden la cel·lulosa i per tant no interaccionen amb el paper, la tela o la fusta. Així la seva aplicació sobre una pintura, per estovar residus d'un adhesiu d'entelat es presenta com segura.



S'ha de tenir en compte que l'adhesiu d'una pintura a l'aquarella, aiguada i algun tipus de tempera, està constituït per gomes polisacaridases (goma aràbiga), que es degraden amb les amilases. També és un aglutinant molt susceptible a l'aigua.

PARÀMETRES PER ESCOLLIR UN ENZIM

Com ja s'ha comentat, una de les principals característiques dels enzims és la seva especificitat. La naturalesa del material a remoure en determinarà el tipus a utilitzar: proteases, lipases o amilases. Però també caldrà tenir en compte la naturalesa dels altres materials originals que han de ser conservats. Un cop s'ha escollit el tipus d'hidrolasa, l'enzim vindrà escollit en funció de les condicions òptimes que aquell requereix: ha de ser compatible amb el tipus de pintura a tractar.

1.-L'activitat específica, característica de cada preparació enzimàtica comercial, i que s'expressa en unitats de substrat transformat / milígram de preparació enzimàtica. Si el valor és més alt, significa que és més alta la capacitat catalítica d'una certa quantitat d'enzim.

Per exemple: algunes lipases i la pepsina tenen una activitat específica entre 1500-2000 unitats per milígram, mentre que les proteases microbianes, tenen un valor de 0.1-1 unitats per milígram. Quan es tracta d'utilitzar enzims de baixa activitat específica, s'hauran d'ajustar més acuradament altres paràmetres que també influeixen en la seva activitat i que són la temperatura i el pH.

2.-pH òptim per cada tipus d'enzim. Si el mitjà aquós en què es troba l'enzim, el pH s'allunya del seu valor òptim, la seva funció disminueix.

3.-El cost. Aquest variarà molt segons el tipus i la seva puresa. A més puresa, significa més especificitat i activitat enzimàtica però també un alt cost econòmic.

CONDICIONS EXPERIMENTALS EN L'US D'ENZIMS:

- Utilització de l'enzim en medi aquós, doncs l'activitat òptima està associada a les particulars característiques d'aquest en medis aquosos. Solen ser en forma de gel i si cal afegint-hi espessant a base de derivats de la cel.lulosa que asseguruen una òptima transparència i bona conservació.

- pH del medi aquós: el més estable possible, dins d'uns certs límits mitjançant solucions tampó que tenen la capacitat de mantenir la invariabilitat del pH. En el cas de l'enzim, és necessari utilitzar solucions tampó d'origen biològic, que siguin compatibles amb les proteïnes i que no desnaturalitzin els enzims. La proporció d'aquestes solucions sol ser uns 100-200 mg d'enzim d'alta activitat específica fins 1 mg dels de baixa activitat específica per 100 ml. d'aigua.

- Temperatura òptima: es trobaria entorn dels 35-40°C. Si les condicions ambientals superen aquesta temperatura, es produeix un estovament i escalfament de la superfície a tractar i de la solució enzimàtica. Mai s'haurien de superar els 45-50°C perquè molts enzims esdevenen irremissiblement inactius quan superen aquestes temperatures.

APLICACIONS:

La solució conté l'enzim a la temperatura adequada i s'aplica taponant sobre una petita superfície. El temps d'aplicació vindrà determinat cada vegada i generalment estarà comprès entre 1

i 10 minuts. És indispensable, en temps prolongats d'aplicació, evitar que el gel enzimàtic s'assequi sobre la superfície. Abans de la seva aplicació serà necessari netejar amb aigua la superfície on s'aplicarà el gel enzimàtic. I en acabar el temps d'aplicació, caldrà netejar taponant amb aigua i després una última neteja amb un dissolvent volàtil (hidrocarburi, essència de petroli, white spirit...) Si fos necessari repetir l'aplicació caldria seguir altra vegada tots els passos.

També és possible l'aplicació de diferents tipus d'enzims de forma successiva, deixant l'enzim proteolític a l'últim, perquè la seva acció hidrolítica sobre les proteïnes podria alentir l'acció dels enzims aplicats abans.

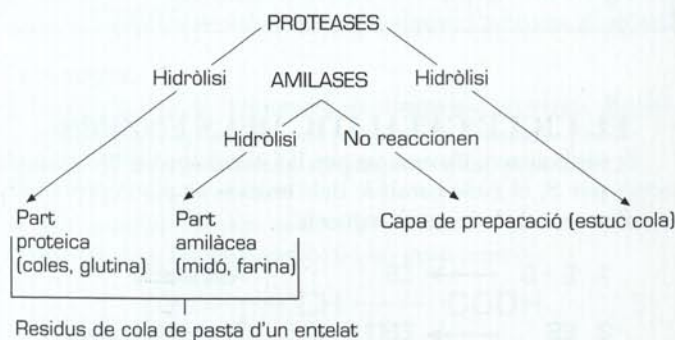
Els enzims han de conservar-se refrigerats, però tenint en compte que en forma de solució s'alteren ràpidament. Poden ser utilitzats durant aproximadament dues setmanes, però amb una progressiva disminució de l'activitat enzimàtica fins a ser inservibles.

La capacitat dels enzims de disgregar macromolècules orgàniques fa pensar en altres utilitzacions apart de la neteja de superfícies policromades. Per exemple, es poden utilitzar per eliminar els residus d'una cola orgànica utilitzada per fer un entelat, en el revers d'una tela.

Històricament, s'ha utilitzat per operacions de neteja, la pancreatina, però amb mals resultats. És una substància que conté totes les activitats enzimàtiques principals: proteolítiques, lipídiques i amilàsiques. Paradoxalment, no compleix la principal característica dels enzims, que és l'especificitat i per tant no s'hauria d'utilitzar en suports materialment complexes, com són una pintura, on és molt important tenir la certesa de l'activitat enzimàtica que s'està utilitzant.

Si s'utilitza l'enzim mitjançant una preparació en forma de gel, existeix l'avantatge d'una menor penetració del mitjà aquós, mentre que la presència de l'enzim redueix el temps d'aplicació respecte l'ús de l'aigua.

Exemple d'utilització de proteases i amilases:



En àdhuc a l'aplicació dels enzims en altres intervencions de restauració el primer camp d'aplicació va ser en el de document. Se sol operar per bany o per immersió.

GELS ENZIMÀTICS ESPECÍFICS:

L'any 1988, Richard Wolbers, restaurador de The Getty Conservation Institute, va exposar els resultats dels seus experiments amb gels enzimàtics aplicats a la neteja de superfícies pictòriques durant unes jornades que van tenir lloc a Los Angeles



i en les quals van participar conservadors de diferents països. Els resultats, publicats sota el nom de "New Methods in the Cleaning of Paintings" s'han convertit en punt de referència en la investigació per l'aplicació d'enzims en neteja de superfícies pictòriques.

El gel enzimàtic formulat per Wolbers permetia eliminar repintats a l'oli que estessin situats sobre una capa de vernís intacte i aquesta era la seva constitució:

Aigua + solució tampó Tris-HCl* + Tritón X-100 (humectant) + Lipasa tipus VII (Sigma) (enzim) + hidroxipropilmetilcel·lulosa (espessant) (10ml: 66.6mg:0.01ml:100mg:150mg). *Tris-HCl és (2-amino-2(hidroximetil)1,3-propanediol)

Preparació: es prepara el tampó en aigua de Tris-HCl i es porta fins a pH 8.5. S'afegeix el tensoactiu i a continuació l'enzim que hidrolitza els olis assecant i l'activitat del qual és de 400-900 unitats/mg. i s'incorpora l'espessant sacsejant. Demana una acurada identificació del substrat i un elevat temps d'actuació. Wolbers el va deixar actuar entre 5 i 20 minuts. És aconsellable el seu ús només en casos extrems.

Els mètodes de neteja mitjançant gels enzimàtics de R. Wolbers han estat experimentats durant la dècada dels 90 als laboratoris dels principals museus del món.

L'any 1993 va tenir lloc a València una conferència de Mr. Raimond White, conservador de la National Gallery, sobre els gels humectants aplicats a la neteja de pintures. Un article sobre aquesta conferència es va publicar al butlletí del Grup Tècnic de Conservació-Restauració el mateix any.

En aquest article, els autors exposen els perills d'utilitzar Tritón X-100, un tensoactiu dispersant, utilitzat com a humectant

Exemple de neteja mitjançant l'aplicació d'enzims.

BIBLIOGRAFIA:

- ACCARDO, G. I VIGLIANO, G.: *Strumenti e materiale del restauro*. Edizioni Kappa. Roma, 1989.
- CALVO, A.: *Conservación y restauración: materiales, técnicas y procedimientos de la A a la Z*. Ediciones del Serbal. Barcelona, 1997.
- CAMERA, G. NUGARI, M.P. I SALVADORI, O.: *Biology in the conservation of works of art*. ICCROM. Roma, 1991.
- CREMONESI, P.: *Materiali e metodi per la pulitura di opere policrome*. Phase: prodotti per il restauro. Firenze, 1997.
- GÓMEZ, M.L.: *La restauración: análisis científico aplicado a la conservación de obras de arte*. Cuadernos de Arte Cátedra. Madrid, 1998.
- Journées sur la conservation restauration des bien culturels. Traitement des supports. Travaux interdisciplinaires: Richard Wolbers'New cleaning methods in practice at the Tate Gallery, London*. Paris, 1989.
- NICOLAUS, K.: *Manual de restauración de cuadros*. Ed. Könemann. Barcelona, 1998.
- PATIÑO, M i GARCÍA, J.: *Neteja de pintures amb gels enzimàtics*. Butlletí del Grup Tècnic de Conservació-Restauració (nº9). Barcelona, 1993.
- The conservation unit of the museums and galleries commission: science for conservation*. Volum 2. Cleaning. London and new york, 1987.

secundari, per tal de mantenir el vernís a eliminar en suspensió. És de difícil evaporació i deixa residus sobre la pintura que pot causar certs problemes. Sembla que els residus de Tritón X-100 afavoreixen reaccions d'oxidació en un temps breu i que podrien portar a confusió a l'hora de datar la pintura, doncs provoquen un envelliment prematur.

Passaria el mateix amb substituïts del Triton X-100 com Ethomeen C-25 (amina alifàtica terciària humectant). Creuen que es tractaria de trobar humectants que actuessin en un pH inferior a 8.5 i que fossin d'estructura plana per tal que no interaccionessin amb l'àcid abiòtic i l'àcid deoxocòdic que actuen com humectants principals.

Com que l'estudi es trobava en fase experimental, aconsellaven la utilització d'humectants amb precaució i eliminant bé els residus. També caldria trobar un substituït del Tritón X-100 que fos fluorescent i es pogués detectar amb llum ultraviolada. Amb tot el que s'ha exposat fins aquí només queda dir que la utilització d'enzims en la neteja de pintures es troba encara en fase experimental, degut a la seva especificitat, que demana una analítica prèvia del material del substrat a eliminar, per tal de formular exactament l'enzim necessari. Aquesta analítica prèvia només es pot dur a terme en laboratoris dels grans museus i centres de conservació i implica un elevat cost econòmic i uns mitjans científics que no es troben a l'abast de totes les galeries.

Lavantatge que tindria la utilització d'enzims respecte els dissolvents tradicionals, és la baixa toxicitat dels primers, ja que són d'origen bioquímic i són classificats com no tòxics.

