

Художественное наследие. Исследования. Реставрация. Хранение.

Art Heritage. Research. Storage. Conservation.

№4 2022

МИНИСТЕРСТВО КУЛЬТУРЫ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«ГОСУДАРСТВЕННЫЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ИНСТИТУТ РЕСТАВРАЦИИ» (ФГБНИУ «ГОСНИИР»)

Художественное наследие.
Исследования. Реставрация. Хранение.

Art Heritage. Research. Storage. Conservation.

Международное сетевое рецензируемое научное издание

№4 2022

МОСКВА 2022

THE MINISTRY OF CULTURE OF THE RUSSIAN FEDERATION

THE STATE RESEARCH INSTITUTE FOR RESTORATION

Художественное наследие.
Исследования. Реставрация. Хранение.
Art Heritage. Research. Storage. Conservation.

An international peer-reviewed online scientific journal

No 4 2022

MOSCOW 2022

ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР:

Д.Б. Антонов

ЗАМЕСТИТЕЛЬ ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА:

А.С. Макарова

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

**А.Н. Балаш, В.В. Баранов, С.И. Баранова, Г.И. Вздорнов, В.Г. Гагарин,
М.Ф. Дубровин, В.В. Игошев, С.С. Ипполитов, С.А. Кочкин, А.В. Кыласов,
Л.И. Лифшиц, Т.К. Мкртычев, А.В. Окорочков, С.А. Писарева, И.Н. Проворова,
И.Г. Равич, Н.Л. Ребрикова, Н.В. Синявина, С.В. Филатов, Н.Е. Шафажинская,
О.В. Яхонт.**

ОТВЕТСТВЕННЫЙ СЕКРЕТАРЬ РЕДАКЦИИ:

О.Г. Кирьянова

РЕДАКТОР:

Г.И. Герасимова

Выходит 4 раза в год

Адрес редакции:

107014, г. Москва, ул. Гастелло, д. 44 стр. 1

e-mail: journal@gosniir.ru

Сайт: <http://www.journal-gosniir.ru/>

Свидетельство о регистрации СМИ ЭЛ. № ФС77-82901 ОТ 14.03.2022

ISSN 2782-5027

EDITOR-IN-CHIEF:

Dmitriy B. Antonov

DEPUTY EDITOR-IN-CHIEF:

Anastasia S. Makarova

EDITORIAL BOARD:

**A.N. Balash, V.V. Baranov, S.I. Baranova, G.I. Vzdornov, V.G. Gagarin, M.F. Dubrovin,
V.V. Igoshev, S.S. Ippolitov, S.A. Kochkin, A.V. Kylasov, L.I. Lifshic, T.K. Mkrtychev,
A.V. Okorokov, S.A. Pisareva, I.N. Provorova, I.G. Ravich, N.L. Rebrikova, N.V. Sinyavina,
S.V. Filatov, N.E. Shafazhinskaya, O.V. Yahont.**

EXECUTIVE SECRETARY:

O.G. Kiryanova

EDITOR:

G.I. Gerasimova

Quarterly journal

Address:

44-1, Gastello St., Moscow, Russia, 107014

e-mail: journal@gosniir.ru

Web-site: <http://www.journal-gosniir.ru/>

Mass media registration certificate EL. N° FS77-82901 from 14.03.2022

ISSN 2782-5027

СОДЕРЖАНИЕ

Иванова Ю. В.

Ферменты глазами реставраторов, или остроумный
и изобретательный идадьго Дон-Кихот Ламанчский 7

Погорелова (Фрид) Н. В.

Практическое применение энзимов в реставрации бумаги:
материалы и оборудование 21

Ермакова Н. В.

Энзимы в реставрации музейного текстиля:
обобщение опыта зарубежных специалистов 27

Малачевская Е. Л., Хребтова Ю. В.

Результаты научно-исследовательской работы
«Использование энзимов для удаления крахмальных клеев
при реставрации музейных тканей» 36

Хребтова Ю. В.

Опыт практического применения фермента
альфа-амилазы в реставрации текстиля 44

CONTENTS

Ivanova Y.

Enzymes seen by restorers eyes or the ingenious gentleman Don Quixote of La Mancha 7

Pogorelova (Freed) N.

Practical application of enzymes in paper conservation: materials and equipment 21

Ermakova N.

Enzymes in the restoration of museum textiles: generalization of the experience of foreign specialists 27

Malachevskaya E., Khrebtova Y.

Results of scientific research work "Applying of enzymes for removing starch adhesives in museum textile restoration" 36

Khrebtova Y.

Practical application of the enzyme alpha-amylase in textile restoration 44

Ю.В. Иванова

ФЕРМЕНТЫ ГЛАЗАМИ РЕСТАВРАТОРОВ, ИЛИ ОСТРОУМНЫЙ И ИЗОБРЕТАТЕЛЬНЫЙ ИДАЛЬГО ДОН-КИХОТ ЛАМАНЧСКИЙ

Статья освещает потенциал ферментов в освобождении поверхности живописи от нежелательных веществ, вызывающих материальное разрушение произведения и искажающих его эстетические характеристики. Рассматриваются критерии выбора фермента для «расчистки», специфика создания реставрационной методики, предполагающей соблюдение точнейшего баланса между условиями, необходимыми для действия фермента, и требованиями безопасности произведения. Присущие ферментам свойства рассматриваются с точки зрения их привлекательности или нежелательности для реставрации. Преимуществами ферментов перед традиционными методиками «расчисток» (с помощью кислот, щелочей, органических растворителей) являются эффективность, мягкость и специфичность действия, нетоксичность, возможность быстро получить желаемый результат при минимальном расходе действующего вещества, что соответствует одному из основополагающих принципов современной научной реставрации – принципу минимального вмешательства в произведение. Однако некоторые свойства ферментов ограничивают их применение в реставрации. Таковы их лабильность; необходимость высокой степени очистки; обязательность строгого соблюдения определенных показателей (рН, температуры и др.) для их успешного действия, что сопряжено с необходимостью нанесения на произведение дополнительных веществ, с этапом завершающей промывки живописи растворами ПАВ, легкими органическими растворителями.

Ключевые слова: реставрация, ферменты, свойства ферментов, критерии выбора, методики.

Y. Ivanova

ENZYMES SEEN BY RESTORERS EYES OR THE INGENIOUS GENTLEMAN DON QUIXOTE OF LA MANCHA

This paper deals with potential utilization of enzymes for removing of undesirable compounds evoking material destruction and distortion of esthetic characteristics of painting. Criteria of enzyme selectivity for clearing, specificity of restoration methods that should comply exact balance of conditions required for enzymes activity and security of painting are discussed. The enzymes properties are analyzed from the viewpoint of their attractiveness and undesirability in restoration. The enzymes effectivity, specificity, nontoxicity and rapid results obtaining make enzymatic clearing very attractive. This approach is more magnetic than traditional methods of clearing with utilization of acids, alkaline or organic solvents and therefore corresponds to the modern trend of minimal meddling in the work of art. However, some enzymes properties restrict their utilization. For instance, all enzymes are very labile and require high degree of purification. All enzymes can be utilized only under strict conditions such as temperature and pH. Finally, after enzymatic clearing additional steps of washing with surfactants and light organic solvents are required.

Keywords: restoration, enzymes, properties of enzymes, selection criteria, methods.

Удаление с поверхности живописи чужеродных веществ («расчистка») является необратимым вмешательством. Оно наиболее рискованно из-за близости к красочному слою и наиболее заметно зрителю.

С химической точки зрения «расчистка» – это растворение некоего материала без воздействия на нижележащие авторские слои. Традиционные «расчистки» предполагают физическое, физико-химическое или химическое воздействие на удаляемый субстрат и все они имеют недостатки. Кислоты и щелочи действуют на все материалы, с которыми контактируют. Многие пигменты и красители при контакте с щелочами и/или кислотами необратимо изменяют цвет, а некоторые основы живописи (например, известьсодержащие штукатурки, гипс) крайне чувствительны к растворам с кислыми значениями pH. Что касается органических растворителей, то хотя для ряда реставрационных операций полный отказ от них невозможен, они небезопасны для произведения и окружающей среды.

С конца XX века особое внимание привлекла экологическая безопасность любых форм деятельности. Насущной стала и экономия природных ресурсов. Это привело к поиску альтернативных, т. н. «зеленых» технологий, исключающих необратимые изменения окружающей среды и эффективных при минимальном потреблении ресурсов. В реставрации одной из таких технологий являются «расчистки» с помощью ферментов.

Исследования, начавшиеся в 20-х годах XX в., позволили определить структуру многих ферментов и установить механизм их действия. Позднее удалось разработать методы очистки ферментов и получения их в высоко активной форме, внедрить ферменты в промышленность¹, а затем и в реставрацию².

Ферменты катализируют (ускоряют) протекание химических реакций, при которых одни вещества (субстраты) превращаются в другие (продукты). Некоторые реакции протекают самопроизвольно и достаточно быстро. Например, если смешать кислоту и щелочь, то без всяких дополнительных катализаторов произойдет реакция нейтрализации и образуется раствор соли. Однако разрушение и растворение в воде полимера (например, состарившейся белковой пленки) происходит крайне медленно, если происходит вообще. Возникает необходимость добавить вещество-катализатор, которое ускорило бы разрушение именно этой пленки. Ферменты обеспечивают протекание реакций, которые без них протекали бы очень медленно или не протекали бы вовсе. Они ускоряют протекание реакции в 10^8 – 10^{12} раз и способны осуществлять несколько сотен тысяч каталитических актов за минуту³.

Сам фермент во время реакции не претерпевает изменений, следовательно, сохраняет способность участвовать в последующих реакциях (или циклах). Когда первая молекула субстрата будет преобразована, катализатор запустит второй цикл, затем третий и т. д. Как правило, катализатор инактивируется лишь после множества циклов. Именно поэтому минимальные количества фермента способны преобразовывать большие количества субстрата, что существенно снижает стоимость работ ими. Кроме того, при обращении к ферментам соблюдается основополагающий для реставрации принцип минимального вмешательства (применяется минимальное количество реагента).

Эффективность фермента определяется количеством субстрата, которое миллиграмм фермента может преобразовать за единицу времени, или его удель-

ной активностью. Одни ферменты (некоторые липазы, пепсин) имеют высокую удельную активность (ок. 1500–2000 ед/мг), а другие (некоторые протеазы микробного происхождения) обладают существенно меньшей удельной активностью (0,1–1 ед/мг). Для «расчисток» рекомендуются ферменты с активностью около 1000 ед/мг⁴. При обращении к низко активным ферментам приходится существенно увеличивать количество фермента, максимально приближаться к оптимальным условиям его действия (об этом см. ниже), существенно удлинять время контакта фермента с произведением. Хотя при этом получить желаемый результат удастся, это опасно для объекта реставрации. Активность фермента на субстратах, с которыми работают реставраторы, требуется измерять специально, поскольку, например, триглицериды (жиры), которые приходится удалять с живописи, отличаются от триглицеридов, содержащихся в промышленных маслах.

Ферменты, как правило, являются белками (ферментативной активностью могут обладать и рибонуклеиновые кислоты, но это скорее исключение). Белки представляют собой линейный полимер, состоящий из следующих друг за другом в определенной последовательности аминокислот (аминокислотных остатков). Длина белковой (полипептидной) цепи варьирует от 100–200 до десятков тысяч аминокислотных остатков. Цепочка аминокислот сворачивается в пространстве, зачастую образуя очень красивые причудливые трехмерные конструкции.

Биологическая активность фермента, как и любого белка, обусловлена наличием в его структуре активного центра, в котором расположены аминокислоты (аминокислотные остатки), обеспечивающие связывание субстрата, а также аминокислоты, осуществляющие его химическое превращение с последующим высвобождением продуктов реакции. Именно характерный набор аминокислот и их расположение в активном центре обеспечивает способность ферментов преобразовывать лишь определенный субстрат или их высокую *специфичность*, отличающую ферменты от обычных химических катализаторов, например, платины, никеля⁵. Некоторые ферменты обладают *абсолютной специфичностью*, т. е. воздействуют лишь на один субстрат, но большинство действует на группу структурно похожих субстратов.

В реставрации применяют лишь немногие из ныне известных ферментов, расщепляющих некоторые высокомолекулярные вещества. Преимущественно это ферменты класса гидролаз, хотя описано применение представителя класса оксидаз – лакказы, производимой грибами рода *Trametes*, с помощью которой с камня удалили красные пятна продигиозина (комплекс пигментов, образующийся в результате жизнедеятельности бактерий *Serratia marcescens*)⁶.

Для удаления материалов, содержащих углеводы (крахмал, гуммиарабик и другие камеди), применяют различные гликозид гидролазы. Они расщепляют молекулы полисахаридов до моносахаридов, дисахаридов или олигосахаридов, которые более растворимы в водных средах. Ферменты подкласса гликогидролаз могут быть животного (птиалин слюны или панкреатическая амилаза поджелудочной железы), растительного (ферменты из клубней картофеля, сои, гороха, фасоли, хрена, редьки, горчицы, сахарного тростника, винограда, семян злаков), бактериального (*Bacillus*) или грибкового (*Aspergillus*) происхождения. Эти ферменты преимущественно интересны реставраторам бумаги, книг.

Для удаления трудно растворимых состарившихся олиф, масел, масляно-смоляных лаков, восков применяют липазы. Они, разрушая сложноэфирные связи,

расщепляют молекулы нейтральных жиров на жирные кислоты и глицерин, которые могут быть удалены водными растворами. Некоторые липазы (или, более обобщенно, эстеразы) способны гидролизовать сложные эфиры, т. е. помогают в удалении восков и состарившихся акриловых и виниловых смол. Липазы извлекают из тканей животных (например, из поджелудочной железы), из растительного сырья (пшеницы, овса), их вырабатывают бактерии (*Bacillus*) и грибы (*Aspergillus* и *Penicillium*).

Для воздействия на состарившиеся белковые пленки применяют протеазы, расщепляющие длинные полипептидные цепи белков на короткие фрагменты (пептиды), которые обычно лучше растворимы в воде, поэтому легче удаляются. Кроме того, часть протеаз способна с невысокой скоростью гидролизовать сложные эфиры, т. е. обладает эстеразной активностью. Протеазы могут иметь животное происхождение. Их извлекают из желудочного сока и поджелудочной железы (пепсин, трипсин; смеси ферментов – панкреатин, желудочные протеазы), из личинок жуков-кожееядов (*Dermestes frischii*, *Dermestes maculatus*), из гепатопанкреаса промысловых видов крабов. Второй источник протеаз – растения (ананас, папайя, инжир). Наконец, некоторые протеолитические ферменты вырабатываются бактериями (*Bacillus* и *Clostridium histolyticum*) и грибами (*Aspergillus*). В реставрации могут быть применены ферменты из групп эндопептидаз (например, трипсин или химотрипсин) и экзопептидаз (аминопептидазы, карбоксипептидаз, дипептидгидролазы).

Способность протеаз разрушать белки может быть использована для удаления с живописи животного клея и желатина (в основном состоящих из коллагена), казеина. Эти клеи в прошлом широко применяли для укрепления живописи, для «оживления» цвета, для создания искусственной патины. С помощью протеаз удастся эффективно гидролизовать и белки растительного происхождения. Еще одна сфера применения протеаз – раздублирование живописных тканевых основ.

Большую часть ферментов, ныне опробованных в реставрации, производят американские компании *Sigma-Aldrich* и *Fluka*, хотя список производителей очень велик.

С точки зрения реставраторов привлекательными качествами ферментов являются:

1. ИЗБИРАТЕЛЬНОСТЬ действия, позволяющая удалять лишь определенные вещества;
2. ЭФФЕКТИВНОСТЬ (удельная активность) фермента, позволяющая работать достаточно быстро с использованием минимальных количеств фермента;
3. МЯГКОЕ, ЩАДЯЩЕЕ действие ферментов в сравнении с тем, которое оказывает большинство традиционных химических веществ;
4. НЕТОКСИЧНОСТЬ.

Однако ферменты имеют ряд особенностей, которые в глазах реставраторов являются их НЕДОСТАТКАМИ. Рассмотрим этот вопрос подробнее.

Методика работы ферментными растворами состоит из этапов:

- 1) приготовления раствора фермента,
- 2) нанесения его на поверхность,

3) экспозиции,

4) удаления сухим тампоном раствора и размягченных загрязнений,

5) промывки обработанного участка водным раствором ПАВ (поверхностно-активного вещества), затем чистой водой и, наконец, легкими углеводородами (например, очищенным бензином или уайт-спиритом).

Очищенные ферменты выпускают в виде сухих (лиофилизированных) порошков, которые перед использованием должны быть растворены. Ферменты капризны. Они будут действовать только при определенном СОСТАВЕ РАСТВОРА, который, однако, не должен разрушать произведение. Какие же вещества входят в такой раствор?

В большинстве случаев ферменты используют в виде *водных* растворов, а вода может навредить поверхности или «телу» реставрируемого объекта. Бесспорно, эта опасность присутствует и при работе любыми водосодержащими составами. Реставраторы знают, что клее-меловые грунты гигроскопичны и от воды могут набухать; холст, особенно не очень старый, при намокании и последующем высыхании сильно и нерегулярно изменяет линейные размеры; деревянные основы живописи и полихромной деревянной скульптуры при увлажнении могут коробиться. Известно, что красочные слои «тощей» темперы или красок, связующим которых служат животные и растительные клеи, могут быть растворены водой (по крайней мере, частично). Наконец, особого рода чувствительность к водному раствору могут иметь и поверхностные слои произведения, состоящие из сильно состарившегося масла и некоторых смолистых материалов. В таких материалах при старении (окислении) происходит образование гидроксильных и карбоксильных групп, что повышает их гидрофильность. Сам по себе контакт с водой для разрушения этих материалов недостаточен, так как, несмотря на присутствие полярных групп, основой вещества остаются водонерастворимые липофильные соединения (растворению состарившихся олиф препятствует их полимеризация и образование «сшивок» между соседними молекулами). Однако молекулы воды могут прочно связываться с такими веществами, не растворяя их. В результате этого связывания слой липофильного материала белеет, мутнеет, утрачивает прозрачность. Причем такие изменения мало обратимы, поскольку речь идет не о впитавшейся воде, которая рано или поздно испарится с восстановлением прозрачности, а о воде, химически связанной с материалом.

Опасность повреждения водой удастся снизить, применяя *загущенный* раствор фермента – ферментный гель. Гель удерживает воду и растворенные в ней вещества на поверхности произведения, не позволяя им диффундировать в его «тело»⁷. Гель, содержащий раствор фермента, значительно быстрее приводит к набуханию или разложению пленки нежелательного вещества. В большинстве случаев гель наносят на поверхность через японскую бумагу. При длительной экспозиции гель предохраняют от высыхания, накрыв тонкой пленкой типа пищевой. Экспозицию определяют для каждого конкретного произведения (обычно от 1 до 10 мин.).

Отдельные ферменты требуют добавления в раствор дополнительных веществ. Например, некоторые липазы быстро теряют активность в водной среде, но сравнительно долго активны в присутствии *стабилизаторов* (например, глицерина или лактозы).

Для действия части липаз требуется присутствие *ко-фактора* – ионов кальция. Эти ионы в изобилии имеются, например, в известковой штукатурке или в казеинате кальция, но если такие вещества отсутствуют, кальций приходится добавлять в раствор в виде какой-либо водорастворимой соли.

Недостаток ферментов – их ЛАБИЛЬНОСТЬ (нестойкость). Условия внутри живой клетки, где ферменты вырабатываются и функционируют, способствуют их сохранению, но, будучи извлеченными из клетки, ферменты под действием света, повышенной температуры или в результате окисления кислородом воздуха денатурируют (денатурация может быть как обратимой, так и необратимой) и постепенно утрачивают присущие им свойства. В сухом виде (в порошке) при правильном хранении ферменты могут сохранять активность 9–12 месяцев и даже более, а их растворы могут храниться в холодильнике 2–3 недели с постепенным снижением активности вплоть до ее исчезновения. Именно поэтому нет смысла готовить растворы ферментов впрок. В реставрации невозможно точно предвидеть, какое количество субстрата придется обработать ферментом, следовательно, невозможно и точно рассчитать, сколько именно фермента потребуется для «расчистки» той или иной поверхности. При использовании фермента в гелевой форме можно ориентироваться на площадь поверхности, которую нужно покрыть гелем. Обычно исходят из того, что 100 мл геля покрывают 1 м² поверхности.

Ферменты легко инактивируются под действием некоторых химических веществ (т.н. *ингибиторов*). Ингибиторы могут загрязнять обрабатываемые поверхности или быть составной частью произведения. Например, нередко в красочном слое присутствуют *ионы тяжелых металлов* – серебра, ртути, свинца, хрома, кадмия (в свинцовых белилах, миниуме, джаллорино, киноvari, красных и желтых кадмиях, хромовых зеленых). Эти ионы в ферменте связываются с определенными аминокислотами, что приводит к утрате каталитической активности. Следовательно, присутствие ингибиторов в растворе и/или в субстрате делает ферментативную обработку затруднительной или невозможной. Так, запись маслом может оказаться устойчивой к действию липаз, если действие фермента подавляется солями тяжелых металлов, которые имеются в ее пигментах. Косвенно это подтверждает практика: неплохо поддаются воздействию липаз тонкие записи типа лессировочных, содержащие мало пигмента и много масла, или толстослойные записи, содержащие железо (с охрами, умбрами, сиенами и др. земляными пигментами). Менее исследовано, какое действие оказывают на липазы ионы меди (азурит, малахит, ярь-медянка).

У некоторых ферментов в активных центрах или в участках связывания субстратов располагаются катионы металлов. Контакт такого фермента с *хелаторами* (веществами, которые обладают высоким сродством к катионам металлов и способны «вырывать» эти катионы из молекулы фермента), также приведет к инактивации. Например, в присутствии хелатора может быть ингибирована одна из карбоксипептидаз, поскольку хелатор извлечет катионы металла из ее активного центра. Следовательно, работа таким ферментом требует, чтобы и в растворе, и в субстрате не было хелаторов или их количество было минимально.

Известны и ингибиторы другого типа. Некоторых органические соединения (*растворители, моющие средства*) способны изменять пространственную структуру белка. Изменение «упаковки» (сворачивания) белковой цепи может вести к денатурации и потере ферментативной активности.

Подавление активности фермента всегда напрямую зависит от количества ингибитора.

«Недостатком» ферментов является и то, что они АКТИВНЫ ПРИ достаточно ОГРАНИЧЕННЫХ УСЛОВИЯХ.

Во-первых, почти все биологические процессы зависят от pH среды, в которой они протекают, и даже небольшие изменения pH существенно влияют на скорость процесса. Для активности каждого фермента требуются определенные оптимальные значения pH среды. Как правило, диапазон значений pH (т.н. pH оптимум), при котором ферменты максимально активны, сравнительно узок. Даже незначительные сдвиги pH приводят к изменению пространственной укладки белковой молекулы (т.н. нативной структуры) и снижению ферментативной активности. Зависимость активности фермента от pH среды можно узнать из графиков, которые обычно предоставляют производители, или из специальной литературы. Например, амилазы действуют при нейтральных значениях pH; липазы, продуцируемые плесневыми грибами, наиболее активны в слабокислой среде; липаза, выделенная из желудочного сока, имеет pH оптимум около 5; панкреатическая липаза обладает максимальной активностью при pH 8–9. pH оптимум протеазы пепсина находится при кислых или очень кислых значениях pH (в желудке, где функционирует пепсин, pH близок к единице). Очевидно, что показатели pH, при которых конкретный фермент будет активен, не должны разрушать реставрируемый объект. Поэтому в реставрации чаще всего используют ферменты, активные или хотя бы частично сохраняющие активность при pH от 5,8 до 8⁸. Например, пепсин, функционирующий в желудке при pH около 1, в реставрации обычно применяют при не оптимальном pH около 5,5.

Как правило, ферменты растворяют в т. н. буферных растворах. В широком смысле буферными (от англ. *buff* – смягчать удар) называют системы, которые поддерживают неизменным значение какого-либо параметра (например, pH) даже при изменении их состава. Буферный раствор (буфер) – это сопряженная кислотно-основная пара. Пару могут составлять слабая кислота (донор протонов) и сопряженное с ней основание (акцептор протонов), либо слабое основание и сопряженная с ним кислота⁹. Для реставрации подходят кислотно-основные буферы – растворы, способные противодействовать изменению pH при их разведении или при добавлении к ним небольших количеств кислоты (H⁺) или основания (OH⁻). Буфер на протяжении обработки обеспечивает неизменность pH раствора, несмотря на то, что раствор будет контактировать с кислым или щелочным удаляемым веществом¹⁰. Для каждого интервала pH имеется довольно широкий выбор буферных растворов.

Здесь стоит напомнить, что удаление лежащего на живописи состарившегося чужеродного слоя, который имеет кислую реакцию, с помощью ферментного раствора с щелочным pH будет сопровождаться нейтрализацией с неизбежным образованием солей.

Во-вторых, ферментативные реакции могут активно протекать лишь при определенной температуре. Большинство ферментов, имеющих в продаже, активны при 37–40°C, т. е. при температуре тела теплокровных животных или несколько выше. Поэтому приходится подогревать и раствор, и поверхность произведения (проще всего это делать с помощью лампы накаливания мощностью ок. 50W, помещенной на удобном для работы расстоянии). При этом превышать

45–50°C нельзя и потому, что ферменты при высокой температуре необратимо инактивируют, и потому, что такое нагревание вредно для произведения. «Расчистку» желательно вести при комнатной температуре 20–25°C. К сожалению, в таких условиях активность ферментов невысока, следовательно, для получения результата приходится удлинять время контакта фермента с субстратом, что опасно для реставрируемого объекта. Это подтолкнуло к поиску ферментов, активных при более низких температурах.

В последние годы внимание привлекли протеолитические ферменты, синтезируемые морскими организмами. Эти ферменты действуют в экстремальных условиях – при высокой концентрации солей и при низкой температуре (от 4°C и немного выше)¹¹.

Опубликовано успешное удаление при температуре 19–25,5°C пленок казеина и желатина с расписанного дерева XVII и XVIII веков с помощью протеаз, извлеченных из морских организмов¹².

С помощью экстракта из морских беспозвоночных типа стрекающих (Cnidaria), обладающего протеазной активностью, удалось гидролизовать при 25°C белковые слои на расписанном дереве; снять при 24°C старую профзаклейку, поставленную на животный клей, с картины маслом на холсте; гидролизовать при 19°C слой животного клея на расписанной скульптуре из воска. Во всех этих случаях по окончании ферментативной обработки поверхность промывали тампонами с дистиллированной водой¹³.

При лабораторных испытаниях за 10 минут при 4–30°C экстракт коралловых полипов (*Anthozoa*), обладающий протеазной активностью (предположительно, содержащий металлопротеазы), успешно гидролизовал казеин. Исследователи сравнили результаты обработки экстрактом коралловых полипов (*Anthozoa*) или коммерческой протеазой из *Aspergillus sojae* (тип XIX) (ее наносили в том же буфере с аналогичным pH). Оказалось, что экстракт удовлетворительно удалял казеиновый слой в концентрации 1 мг/мл, а коммерческая протеаза давала ту же степень «расчистки» в концентрации 10 мг/мл. Кроме того, экстракт «работал» при комнатной температуре (19–26°C), а для коммерческой протеазы требовалось нагревание до 37°C¹⁴.

Лабораторно доказана возможность удаления пчелиного и карнаубского восков, широко применявшихся реставраторами в прошлом, с помощью экстракта из морских организмов (губок, медуз, морских анемонов, ракообразных, рыб), обладающих эстеразной активностью¹⁵.

Однако, несмотря на потенциал таких смесей ферментов, они недостаточно очищены, а высокая степень очистки крайне важна в реставрации, поскольку обуславливает и большую активность, и большую избирательность действия.

В прошлом для удаления с холстов старого, плохо растворимого дублировочного клея, состоящего из смеси животного клея и крахмала, пробовали применить панкреатин, выделяемый из поджелудочной железы. Панкреатин содержит ферменты со всеми тремя типами активности: протеолитической, липолитической и амилолитической. Такая смесь не обладала одним из ценнейших свойств высокоочищенных ферментов – избирательности к субстрату. На органических основах (холсте, дереве, бумаге) и, особенно, на полихромных произведениях применение панкреатина оказывалось разрушительным¹⁶. Единственный оправданный случай обращения к нему – тотальное удаление органической патины с камня.

Хотя идея однократного воздействия смесью ферментов на состоящий из разных материалов субстрат (например, на загрязнения) привлекательна, предпочтительнее *наносить ферменты отдельно в определенной последовательности*, а не в смеси. Ведь только при работе очищенными изолированными ферментами можно предвидеть показатели их ферментативной активности (амилолитической, протеолитической или липолитической), максимально использовать избирательность, гарантировать большую степень контроля над процессом, сведя вмешательство в производство к минимуму и избежав нежелательного побочного действия. Разные типы ферментов можно применить поочередно, с условием, что *последними будут нанесены протеолитические ферменты* (в противном случае их гидролитическая активность может подавить действие тех ферментов, которые будут нанесены после них).

Смесь ферментов и низкомолекулярных соединений, содержащаяся в грубых экстрактах, может бесконтрольно влиять на «расчистку». Эта опасность не исключается и при работе с недостаточно очищенными ферментами, выпускаемыми промышленностью, поскольку в упаковках с маркировкой определенного фермента нередко выпускается смесь ферментов, которая потенциально может запустить каскадный, трудно контролируемый процесс.

Для решения этой проблемы изыскивают способы получения высокоочищенных ферментов. Одно из предложений – обратиться к генной инженерии. Некоторые микроорганизмы после изменения генома начинают синтезировать желаемые ферменты в больших количествах. После очистки этих ферментов получают их гомогенные препараты, которые можно применять в желаемых сочетаниях и в нужных концентрациях.

Применение высокоочищенного фермента с известным механизмом действия позволяет контролировать его «работу», в нужный момент останавливая ее с помощью ингибиторов. Такая методика может стать уникальным био-инструментом реставрации.

В-третьих, высокая *стоимость* некоторых ферментов делает их малодоступными для реставрации. Стоимость зависит как от типа фермента, так и от степени его очистки. Типичный пример – коллагеназы, которые могли бы стать оптимальным решением для удаления состарившегося животного клея, но их высокая цена препятствует их широкому применению в реставрации.

Методика ферментативных обработок включает этап *завершающей промывки* живописи после удаления с нее сухим тампоном нежелательных веществ и ферментного геля. Раствор фермента содержит твердые нелетучие водорастворимые соединения (буфер, хелатор, ко-фактор, загуститель и т.п.). Лишь промывка водой гарантирует полное удаление этих остатков. Эмпирически установлено, что лучший результат достигается, если при первой промывке к воде добавляют ПАВ (бычью желчь, обычно 0,2% (вес/объем)); Tween 20 (обычно 1–2% (объем/объем)); т.н. искусственную слюну)¹⁷. Несколько слов об искусственной слюне.

Слюна, вырабатываемая слюнными железами, на 98% состоит из воды и на 2% из смеси белков (глобулина, альбумина, муцина) и ферментов в крайне низкой концентрации (амилаз, птиалина (фермент, расщепляющий крахмал и некоторые полисахариды), липаз и протеаз), а также минимальных количеств кислот (аскорбиновой, лимонной, молочной), органических и неорганических веществ (солей

натрия, калия, магния, кальция, хлора, фосфатов). Эффективное очищающее действие слюны известно давно, но невозможность ее получения в достаточных количествах и присутствие в ней бактерий, которыми можно «заразить» живопись, препятствовали ее внедрению. В 1976 году, после исследования состава и механизма действия естественной слюны, была выдвинута идея создания слюны искусственной, содержащей лишь часть компонентов, имеющих в натуральной, но всё же действующей как эмульгатор и, одновременно, лишенной недостатков натуральной слюны. Высокая эмульгирующая способность муцина, содержащегося в искусственной слюне, обеспечивает полное удаление нежелательного субстрата, уже частично гидролизованного ферментом. Крайне низкие концентрации (ок. 0,55%) сухих веществ, растворенных в синтетической слюне, освобождают от опасений по поводу того, что на произведении сохранятся ее остатки.

Промывка водным раствором ПАВ поверхности, обработанной ферментами, очень важна¹⁸. Время действия фермента ограничено, поэтому фрагменты макромолекул нежелательного субстрата, образовавшиеся на поверхности, всё же достаточно велики и часто липофильны. Их нелегко растворить и удалить водой, часть их остается на поверхности. Действие ПАВ, способного растворить гидрофобные материалы, гарантирует полное удаление таких остатков, т. е. завершает «расчистку». Эффективность ПАВ доказать просто: на сухом тампоне, которым удаляют гель, остатков субстрата не видно – тампон остается бесцветным, но при последующей промывке раствором ПАВ он обретает очень интенсивный цвет. Такую обработку полезно повторить 2–3 раза.

Далее следует промывка дистиллированной водой, затем поверхность просушивают 4–5 часов, а потом промывают легкими углеводородами, которые являются ингибиторами фермента (эта промывка также помогает проявить цвет).

Очевидно, что все вещества, применяемые для промывки после обработки ферментами, не должны наносить произведению вреда.

Работа с ферментами требует осторожности. Прежде чем обратиться к ним, нужно получить ответы на несколько вопросов.

Во-первых, раз действие ферментов избирательно по отношению к удаляемому веществу (они «узнают» лишь определенные вещества, не влияя на все остальные), нужно знать, какова природа материала, который требуется удалить – полисахарид, белок или липид. От ответа на этот вопрос зависит выбор фермента – амилазы, протеазы, липазы.

Во-вторых, нужно знать, каковы материалы, составляющие произведение. Ведь будут пригодны лишь те ферменты, которые, расщепив субстрат, не затронут памятника¹⁹.

В-третьих, важно оценить сохранность расчищаемой поверхности. Потертости, приподнятости и утраты красочного слоя и грунта, кракелюр – зоны риска. Именно там нижележащие слои произведения обнажены или, как минимум, легкодоступны. В некоторой степени от проникновения фермента к нижележащим слоям может предохранить краткость воздействия, напрямую связанная с удельной активностью фермента, и его нанесение в геле.

Наконец, нужно взвесить, не повредят ли условия и сопутствующие материалы, необходимые для действия фермента (рН среды, время экспозиции,

температура, влажность, способ нанесения, состав раствора фермента, вещества, необходимые для его удаления и инактивации после обработки), реставрируемому объекту?

В совокупности ответы на эти – многочисленные и, нередко, взаимосвязанные – вопросы и определяют выбор фермента. Приведем два примера.

Не раз было отмечено, что протеазы, гидролизующие белки, оказывались неспособны помочь в удалении с настенной живописи пленки казеина. Это объясняется тем, что на стенописи казеин может присутствовать не в чистом виде, а в виде казеината кальция (смеси казеина и известкового теста), который устойчив к воздействию ферментов. Иногда проблему разрешают, добавив в раствор фермента хелаторы, например, ЭДТА (этилен-диамин-тетрауксусную кислоту). ЭДТА способна образовывать комплексы с ионами двух- и трехвалентных металлов (следовательно, и с ионами кальция), которые будут «вырваны» из казеината кальция, что позволит с большей легкостью удалить казиновый слой. Однако при необходимости удалить казеинат кальция добавление ЭДТА к протеазам нельзя рассматривать как универсальный способ работы с этими ферментами. Во-первых, достичь эффективного связывания катионов металла с ЭДТА удастся лишь при условии, что все используемые растворы имеют нейтральные или щелочные значения pH, а щелочная среда пригодна не для всех протеаз. Во-вторых, активность некоторых протеаз, действующих в нейтральной среде, зависит от наличия в ней цинка или других катионов. Таковы, например, протеазы, вырабатываемые микроорганизмами *Bacillus*, *Aspergillus*, *Streptomyces* и *Pseudomonas*. Добавление ЭДТА к раствору таких протеаз приведет к связыванию этих ионов и удалению их из активного центра ферментов, что обернется инактивацией протеаз. Так сужается перечень протеаз, пригодных для работы.

Другой пример – использование липаз для удаления, например, масляной записи с живописи маслом. К липазам будет чувствительно и красочное связующее. Поэтому если запись лежит непосредственно на красочном слое, применение ферментов допустимо лишь при существенной разнице в возрасте между слоями, поскольку старый слой (оригинал) сильно полимеризован и прочен, а более новый (запись) – нет. Но в таких случаях записи нетрудно удалять и традиционными способами, а наиболее избирательным методом окажется механическое удаление скальпелем, особенно, ведущееся под увеличением. Но если масляная запись сделана поверх лака, ферментная «расчистка» окажется безопаснее, чем традиционная полярными органическими растворителями (кетонами, спиртами, диметилсульфоксидом, диметилформамидом) или щелочными реагентами. Области растворимости масла (в записи) и натуральной сильно полимеризованной смолы (лака между оригиналом и записью) в большей части перекрываются. Следовательно, растворители будут воздействовать и на запись, и на лежащий под ней лак, подвергая оригинал риску. Щелочные реагенты будут воздействовать на запись, поскольку ее маслянистые вещества, окислившись со временем, могут растворяться в щелочных растворах. Но и лежащий под записью старый лак также может быть окислен и в какой-то степени поврежден щелочью. Липолитический же фермент будет воздействовать лишь на слой масляной записи, поскольку водная среда, в которой он растворен, не может проникнуть в нижележащий слой лака. Именно поэтому удаление записи с помощью ферментов, гарантирующих сохранность красочного слоя, в этом случае будет успешной альтернативой и органическим растворителям,

и щелочам. Беспокойство же о том, что часть липаз активны в растворе с pH 8–9 (т.е. на произведение всё же будет нанесена щелочная среда), представляется преувеличенным. Неспецифическое растворение лака происходит при pH выше 9 и даже выше 10, поэтому слабощелочные растворы липаз не разрушат лак.

Приведенные примеры показывают, что для успешной «расчистки» с помощью ферментов и реставратору, и сотрудничающему с ним биохимику необходимы высокая квалификация и «остроумие и изобретательность», достойные прославленного героя Сервантеса.

Ферментативная реставрация имеет неоспоримые достоинства. Она способна предложить альтернативные методы и дополнить традиционные, помочь в разрешении ранее неразрешимых задач. Кроме того, эта био-технология позволяет снизить стоимость реставрации и за счет расходных материалов, и собственно работы, становящейся проще в исполнении²⁰.

В заключение сделаем еще одно замечание. Иногда звучат сомнения в возможности применения ферментов в реставрации: в их остатках, сохранившихся после всех промывок, видят опасность для памятника. Рассмотрим две стороны вопроса.

Во-первых, о каких остаточных количествах фермента может идти речь? В 1992 году были опубликованы результаты удаления с бумаги крахмала методом погружения листа в раствор амилазы. По окончании обработки лист промыли в буферных растворах, а затем в воде. Исследование показало, что фермент удален более чем на 99%²¹.

Второе опасение касается потенциальной возможности начала неконтролируемой «работы» остатков фермента после завершения «расчистки». Остатки фермента минимальны. Но даже если они окажутся более существенными (например, при небрежной промывке), невозможно предположить, что при определенной температуре и наличии воды они могут «активироваться». Ни один биохимик не разделит бы это беспокойство и, вероятно, удивился возможности «пробуждения» фермента. В 1988 году Р. Уолберс продемонстрировал возможность удаления с масляной живописи состарившегося масляно-смоляного лака с помощью липаз грибкового происхождения. После обработки ферментом, удаления продуктов реакции и геля сухим ватным тампоном, последующей промывки поверхности раствором искусственной слюны, а затем углеводородами, проконтролировали активность фермента, оставшегося на поверхности. Она сократилась до 0,03% от исходной²².

Активировать фермент очень непросто. Эти капризные соединения не будут действовать без соблюдения конкретных показателей pH и температуры, без наличия определенного субстрата и ко-факторов, в присутствии ингибиторов. Кроме того, чтобы остатки фермента начали неконтролируемо «работать», нужно, чтобы они сохранились на произведении в активной форме, что невозможно без соблюдения условий хранения, т. е. без определенного состояния произведения и окружающей среды. Следовые количества фермента, быстро утратив активность, превращаются в минимальные остатки инертного белкового вещества. Если вспомнить, что живописные произведения сами по себе содержат много белковых субстанций, то говорить об опасности остатков фермента – значит сильно преувеличивать риск.

Примечания

1. Enzymes in industry – production and application. Weinheim: VCH Publishers, 1990. – 321 p.
2. *Hatton M.* Enzymes in a viscous medium // The paper conservator: journal of the Institute of Paper Conservation, 2, 1977. P. 9; *Wendelbo Ø.* The enzymatic freeing of papyri from cartonnage // Restaurator: international journal for the preservation of library and archival material, 2, 1975. P. 41–52; *Wolbers R. C.* Notes for Workshop on New Methods in the Cleaning of Paintings. Marina del Rey: Getty conservation institute, 1990. – 158 p.
3. *Dixon M., Webb E. C.* Enzymes. N.Y.: Academic Press, 1964. – 971 p.
4. *Cremonesi P.* L'uso degli enzimi nella pulitura di opere policrome. Padova: Il Prato, 1999. P. 92.
5. *Ребрикова Н. Л.* Биология в реставрации. М.: РИО ГосНИИР, 1999. С. 171–172 (*Rebrikova N. L.* Biologiya v restavracii. M.: RIO GosNIIR, 1999. S. 171–172).
6. *Konkol N. et al.* Enzymatic decolorization of bacterial pigments from culturally significant marble / N. Konkol, Ch. McNamara, J. Sembrat, M. Rabinowitz, R. Mitchell // Journal of Cultural Heritage, 10 (3), 2009. P. 362–366 [doi.org/10.1016/j.culher.2008.10.006].
7. *Talarico F. et al.* Applicazioni dei gel come supportanti nel restauro / F. Talarico, C. Caldi, M. Valenzuela, C. Zaccheo, A. Zampa, M. P. Nugari // Bollettino ICR: Istituto Superiore per la Conservazione ed il Restauro, 3, 2001. P. 101–118.
8. *Добрусуна С. А., Чернина Е. С.* Научные основы консервации. СПб.: РНБ, 1993. С. 51 (*Dobrusina S. A., Chernina E. S.* Nauchny`e osnovy` konservacii. SPb.: RNB, 1993. S. 51).
9. *Медведева М. В.* Растворы: Учебно-метод. пособие. М.: Цифровичок, 2012. С. 50–51 (*Medvedeva M. V.* Rastvory: Uchebno-metod. posobie. M.: Cifrovichok, 2012. S. 50–51).
10. *Cremonesi P.* Materiali e metodi per la pulitura di opere policrome. Firenze: Phase-Prodotti per il Restauro, 1997. – 142 p.
11. *Palla F. et al.* Application of new proteases in removal protein layers from artistic works surfaces / F. Palla, G. Ferrara, A. Richiusa, R. M. C. Teri, M. Sebastianelli // 7th European symposium on religious art, restoration & conservation: proceedings book. Firenze: Nardini, 2015. P. 66–69.
12. *Palla F. et al.* Bio-pulitura: proteasi da organismi marini / F. Palla, M. Cammarata, M. Salamone, M. Sebastianelli, A. Cuttitta, L. Tutino, M. G. Parisi, N. Billeci, G. Gherzi // Atti del 7 Congresso nazionale di archeometria: 22–24 febbraio 2012, Modena / a cura di G. Vezzalini e P. Zannini. Bologna: Pàtron, 2012. P. 312–320. – URL: <https://docplayer.it/35671346-Bio-pulitura-proteasi-da-organismi-marini.html> (дата обращения: 05.10.2022).
13. *Palla F. et al.* Cold-active molecules for a sustainable Preservation and restoration of Historic-artistic manufacts / F. Palla, G. Barresi, A. Giordano, S. Schiavone, M. R. Trapani, V. Rotolo, M. G. Parisi, M. Cammarata // International journal of conservation science, 7 (1), 2016. P. 239–246. – URL: https://www.researchgate.net/publication/303787406_Cold-active_molecules_for_a_sustainable_preservation_and_restoration_of_historic-artistic_manufacts (дата обращения: 05.10.2022).

14. *Barresi G. et al.* Marine organisms as source of bioactive molecules applied in restoration projects / G. Barresi, E. Di Carlo, M. R. Trapani, M. G. Parisi, C. Chillè, M. F. Mulè, M. Cammarata, F. Palla // *Heritage Science*, 3, 2015. P. 3–17 [doi 10.1186/s40494-015-0046-1].
15. *Palla F.* Blue-Biotechnology and Biocleaning of Historic-Artistic Artifacts // *Conservation Science in Cultural Heritage*, 16 (1), 2016. P. 185–196 [doi.org/10.6092/issn.1973-9494/7169].
16. *Cremonesi P.* Materiali e metodi per la pulitura di opere policrome. P. 105.
17. *Cremonesi P.* L'uso degli enzimi nella pulitura di opere policrome. P. 49.
18. *Cremonesi P.* Materiali e metodi per la pulitura di opere policrome; *Lang S.* A review of literature published in response to Wolbers' resin soaps, bile soaps and gels. Royal College of Art, Victoria & Albert Museum Joint Course, Conservation "Final year research project, April 1998". L.: Victoria & Albert Museum, 1998. – 192 p; *Wolbers R. C.* Cleaning Painted Surfaces: Aqueous Methods. L.: Archetype Publications, 2000. – 198 p.
19. *Sorlini C., Cappitelli F., Villa F.* Batteri ed enzimi per la conservazione dei beni culturali // *Sistemi biologici e beni culturali: area tematica Biologia e biotecnologie per i beni culturali / Atti del Convegno Nazionale AIAR, Palermo, 6–7 ottobre 2009.* Palermo: Priulla s.r.l, 2012. P. 253–264.
20. *Ranalli G. et al.* Biotechnology applied to cultural heritage: bio restoration of frescoes using viable bacterial cells and enzymes / G. Ranalli, G. Alfano, C. Belli, G. Lustrato, M. P. Colombini, I. Bonaduce, E. Zanardini, P. Abbruscato, F. Cappitelli, C. Sorlini // *Journal of Applied Microbiology*, 98 (1), 2005. P. 7–83.
21. *Meyer A. T., Andrew W. W., Baker C.* An investigation into the removal of enzymes from paper following conservation treatment // *Journal of the American Institute for Conservation*, 31, 1992. P. 313–323.
22. *Wolbers R. C.* Aspects of the Examination and Cleaning of two Portraits by Richard and William Jennys // *Preprints of papers presented at the sixteenth annual meeting of the American Institute for Conservation. New Orleans, Louisiana, June 1–5, 1988.* Wash.: American Institute for Conservation of Historic and Artistic Works, 1988. P. 245–260.

Сведения об авторах

Иванова Юлия Владимировна – кандидат искусствоведения,
ФГБНИУ «ГОСНИИР», ведущий научный сотрудник.
107014, Москва, ул. Гастелло, 44, стр. 1.
E-mail: vostrapeppa@gmail.com

Ivanova Yulia – Ph.D., The State Research Institute for Restoration, Leading
Researcher.
44-1, Gastello St., Moscow, Russia, 107014.
E-mail: vostrapeppa@gmail.com

Н.В. Погорелова (Фрид)

ПРАКТИЧЕСКОЕ ПРИМЕНЕНИЕ ЭНЗИМОВ В РЕСТАВРАЦИИ БУМАГИ: МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ

В предлагаемой статье дается подробный обзор реагентов, материалов и оборудования, необходимых при работе с энзимами (амилазой, протеазой и липазой) в реставрации бумаги. Автор опирается на опыт реставрационных мастерских Северной Америки (США и Канады), в подавляющей своей части применимый для российских специалистов. Работа фокусируется на практической стороне, без углубления в теорию, однако предлагает небольшой список англоязычной литературы, в которой подробно рассматриваются те или иные реагенты и связанные с ними процессы, обсуждаются их физические и химические свойства, их применение в реставрационном деле. Автор предлагает информацию о производителях и поставщиках некоторых материалов и реагентов; даются советы по их выбору, приобретению и хранению. Обращается внимание на те пункты, которые необходимо учесть при подготовке протокола реставрационного процесса. В частности, надо иметь в виду, что обработка энзимами может повлиять на оригинальную пропитку бумаги; надо учесть, что кислотность буферного раствора изменится под влиянием кислотности реставрируемого экспоната. Статья упоминает различные методы обработки экспонатов энзимами: такие как ванны, гелиевые компрессы, нанесение на поверхность кистью или тампоном. Также дается краткая справка об изготавливаемом немецкой лабораторией Klug Conservation энзиматическом компрессе Альбертина (Albertina-Kompresse) и предлагается литература с подробным его описанием. В заключение автор дает ссылку на американский справочник по всем реставрационным специальностям, являющийся ценным ресурсом для реставраторов.

Ключевые слова: реставрация, бумага, энзимы, амилаза, протеаза, липаза, трипсин, реагенты, оборудование, материалы.

Nina V. Pogorelova (Freed)

PRACTICAL APPLICATION OF ENZYMES IN PAPER CONSERVATION: MATERIALS AND EQUIPMENT

The article provides an overview of the reagents, materials and equipment for enzymatic treatment in paper conservation. Amylase, protease, and lipase are discussed. Although the author reviews North American (USA and Canada) experience, almost all of it is well suitable for Russian conservation labs. The focus is on the practical and not the theoretical part, but the article offers a list of English-language literature where the reader can find detailed discussion on some reagents and processes, their physical and chemical properties and application in the conservation field. The author provides information on popular in United States manufacturers and suppliers of some materials and reagents, gives advice on their choice, acquisition, and storage. The article mentions some important points for drawing up a conservation treatment plan: it should be taken in consideration that an enzyme treatment might alter the artifact's original binding, and that the buffer solution's pH will be influenced by the native pH of the artifact. The article lists various methods of enzyme treatment: bath, gel poultice, application with a brush or a cotton swab. Also, the author provides a brief information about a pre-packaged α -Amylase poultice system Albertina-Kompresse manufactured by the German laboratory Klug Conservation and offers some literature that gives its detailed description. In conclusion, a valuable online resource "AIC Wiki Conservation Catalogs" is introduced.

Keywords: conservation, paper, enzymes, enzyme treatment, amylase, protease, lipase, trypsin, reagents, equipment, materials.

Энзимы служат незаменимым инструментом при реставрации хрупких и тонких бумаг, раздублировке, удалении пятен, удалении старых лапок и разного рода наклеек, удалении остатков клея, вызывающих деформацию листа, и т. д. Бывало, что при приготовлении мучного клея в него добавляли квасцы. Такой клей в воде набухает, но не растворяется, и без энзимов полностью его убрать практически невозможно. Также применение энзимов позволяет значительно укоротить время нахождения экспоната в мокром или влажном состоянии. Это важно для акварелей, пастелей и других чувствительных к воде красочных слоев.

Реставраторы пользуются различными методами работы с энзимами: ванны, гели, компрессы, нанесение на поверхность кистью или тампоном.

При подготовке к работе с энзимами надо иметь в виду, что удаление крахмальных или белковых клеев приведет к удалению оригинальной бумажной проклейки той же природы¹. Поэтому нужно заранее тщательно продумать реставрационный протокол в этой части. Подбор энзимов должен строго соответствовать задаче реставрации, чтобы избежать излишнего удаления оригинальной проклейки.

Как локальное тестирование, так и сам реставрационный процесс могут не показать желаемого результата, если энзимам не созданы хорошие рабочие условия. Помешать эффективной работе энзимов могут большое количество клея, неправильно сбалансированная кислотность раствора, слишком низкая или слишком высокая температура, недостаток влаги.

Правильные уровень кислотности, температура и количество энзимов на единицу раствора выбираются по рекомендациям производителя, они не одинаковы для разных энзимов и не описывают четких рамок рабочих условий для них, но лишь дают информацию об оптимальных условиях тестирования. Эти рекомендации должны служить приблизительным ориентиром, не стоит стремиться обеспечить точное соответствие данным производителем показателей. К тому же кислотность приготовленного раствора подвергается влиянию кислотности реставрируемой бумаги. Это особенно важно при работе с относительно небольшим количеством энзиматического раствора, например, при локальной обработке. В таком случае полезно держать под рукой дополнительный буферный раствор, либо оставшийся от приготовления энзимов, либо разведенный отдельно, более щелочной, и периодически добавлять его кисточкой или тампоном к обрабатываемым участкам. При этом вы будете поддерживать как необходимый уровень влажности, так и нужную для работы энзимов кислотность.

Реагенты

Хорошими консультантами в подборе нужных реагентов могут послужить технологи пищевой промышленности или специалисты химико-биологических лабораторий учебных заведений. То, что используют американские реставраторы, в этой части может быть не самым удачным вариантом для других стран и по цене, и по доступности, поэтому для российских реставраторов лучше попробовать найти отечественных производителей.

Энзимы

Все известные мне американские реставраторы заказывают энзимы у компании *Sigma-Aldrich* (www.sigmaaldrich.com). Ниже приведены их полные названия и артикулы:

Амилаза: α -Amylase from *Bacillus* sp. (A6380);

Протеаза: Trypsin from bovine pancreas (T9201);

Липаза: Lipase from *Candida rugosa* (L1754).

Недавно, по подсказке моей австралийской коллеги, я опробовала и с успехом применила на практике энзимы, купленные в компании, поставляющей реагенты и оборудование учебным заведениям. Название компании: *Carolina Biological* (www.carolina.com). Качество их энзимов ничем не уступает аналогам из *Sigma-Aldrich*, а по цене они намного выгоднее.

Названия и артикулы опробованных мной энзимов:

Амилаза: α -Amylase, fungal, food grade. (202350);

Протеаза: Trypsin, hydrolyzes protein, laboratory grade (897000).

Важно: обязательно обратите внимание на условия хранения. Рекомендуемая температура не одинакова для разных энзимов, но все они должны храниться в холоде. Поэтому если вы заказываете энзимы почтой, то лучше планировать их приобретение на холодное время года чтобы они не испортились при доставке. При правильном хранении энзимы не портятся долго, их можно покупать впрок, раз в один-два года, а то и реже.

Буферные растворы

В качестве буферных растворов чаще всего используются:

- фильтрованный водный раствор гидроксида кальция (известковая вода) $\text{H}_2\text{O} + \text{Ca}(\text{OH})_2$;
- гидроксид аммония (нашатырный спирт) NH_5O .

pH индикаторы

ColorpHast pH индикаторы 0-14 и 5-10, производитель *EMD Chemicals Inc.*

Гели

Последнее время стали популярны энзимы в гелях, чаще всего на основе агарозы или геллановой камеди. Продаются агароза и геллановая камедь в порошке, хорошо хранятся, не сложны в приготовлении. Геллановая камедь намного дешевле агарозы, она используется в фармацевтической и пищевой промышленности как загуститель или желеобразующий агент, и ее легко купить в магазинах для кулинаров. Для гелей рекомендуется более высокая концентрация энзимов, в десять раз больше, чем для водных растворов.

Стоит также упомянуть **Компресс Альбертина (Albertina-Kompresse)**, производимый немецкой лабораторией *Klug Conservation* и представляющий собою нетканую синтетическую основу с нанесенным на нее гелеобразующим агентом с энзимами². Хранится Компресс Альбертина в сухом виде (рекомендуют в холодильнике). Для активации нужно минимальное количество воды. Компресс вырезается по размеру обрабатываемого участка, смачивается и накладывается на экспонат через прилегающую прокладочную бумагу, которая не дает гелю пройти к поверхности экспоната, но при этом не препятствует проникновению энзимов и эффективно разделяет склеенные слои при минимальном присутствии влаги. Компресс Альбертина очень удобен для подготовки большого количества экспонатов к выставке, так как промывка бумаги после его использования необязательна, поскольку энзимов на поверхности обрабатываемого участка остается ничтожно мало.

Инструменты и оборудование

Энзимы просты в применении и не требуют дорогого оборудования. Ниже приводится перечень предметов, которые понадобятся для работы с энзимами. Важно, чтобы все металлические инструменты были только из нержавеющей стали.

- **Кюветы** для обработки энзимами погружением и для промывки экспоната могут быть с подогревом и без подогрева. Используют кюветы из нержавеющей стали, стекловолокна, пластика, временно конструируют из полиэфировых пленок (например, Майлар (*Mylar*) или Мелинекс (*Melinex*)) на опоре из досок (такие кюветы часто используются для большемерных экспонатов). Майлар (*Mylar*) и Мелинекс (*Melinex*) являются торговыми марками, принадлежащими совместному предприятию корпораций Дюпон и Тейджин *Dupont Teijin Films*. Это пленки, сделанные из 100% полиэстера, выпускаемые различной толщины в рулонах или листах, обладающие хорошей химической стойкостью к кислотам и растворителям. Они широко используются в реставрации и музейном хранении. Не обязательно искать на рынке пленки под этими торговыми названиями, можно пользоваться их изначальным общим названием «полиэфировые пленки» или «полиэфировый лист». У американских реставраторов популярны плоскодонные кюветы для фотопечати *CescoLite* из полиэтилена высокой плотности – *High-Density Polyethylene (HDPE)*. Они прочные, легкие и, как все полиэтиленовые изделия, могут использоваться не только с водными растворами, но и со многими растворителями.
- Для локального нанесения раствора удобно вместо кюветы использовать **плексиглас** или **стекло**;
- **Подогрев** можно обеспечить аптечным электрическим нагревателем или электрическим одеялом. Для локального подогрева хорошо подойдут различные теплые грузики (мешочки с песком, кусочки толстого стекла и т.п.);
- **Для поддержки бумаги** при промывке идеально подходят синтетические нетканые материалы – такие как Холлитекс (*Hollytex*) и Римэй (*Reemay*). Холлитекс имеет более гладкую поверхность, чем Римэй. Оба материала хорошо пропускают воду, имеют высокую прочность на растяжение и разрыв во всех направлениях. Оба выпускаются нескольких сортов компани-

ей *Ahlstrom-Munksjö* из стопроцентного полиэстера. Сейчас производится огромное количество синтетических нетканых материалов для разных областей применения. В принципе, можно подобрать хорошую поддержку для экспонатов не в специализированном реставрационном магазине, а, например, в магазинах для шитья или садоводства, но при этом обязательно предварительно уточните у производителя состав и убедитесь, что материал не содержит нежелательных примесей и пропитки.

- Лабораторные стаканы, мензурки, стеклянная посуда.
- Кисточки (лучше синтетические).
- Скальпели, шпатели, пинцеты.
- Полиэтиленовая плёнка для предотвращения высыхания нанесенного на экспонат раствора.
- Термометр.
- Не обязательно, но желательно на первый раз иметь миллиграммовые весы для энзимов в порошке или, если у вас энзимы в растворе, то микропипетку, чтобы определиться с примерным количеством реагента.

Хочется обратить внимание моих коллег на замечательный англоязычный справочник для реставраторов «Реставрационные каталоги» Американского института реставрации (*AIC Conservation Catalogs*), в частности реставрационный каталог группы книги и бумаги (*AIC Book and Paper Group Catalog*). Серия начала выходить в 1985 г. и была задумана как постоянно пополняющийся и развивающийся вместе с профессией ресурс. Теперь эти справочники существуют и в формате вики (wiki). Ниже даны ссылки на главную страницу и на каталог группы книги и бумаги:

<https://www.conservation-wiki.com/>

<https://www.conservation-wiki.com/wiki/BPG>

В заключение я предлагаю небольшой список англоязычной литературы, которая будет хорошим подспорьем для понимания теории и практики применения энзимов в реставрации:

1. *DeSantis P.C.* Some observations on the use of enzymes in paper conservation // *Journal of the American Institute for Conservation*. Vol. 23. No. 1. 1983. P. 7–27.

2. *Fletcher Sh., Walsh J.* The Treatment of Three Prints by Whistler on Fine Japanese Tissue // *Journal of the American Institute for Conservation*. Vol. 18, No. 2 (Spring, 1979). 1979. P. 118–126.

3. *Stulik D. Florsheim H.* Binding Media Identification in Painted Ethnographic Objects // *Journal of the American Institute for Conservation*. Vol. 31. No. 3. 1992. P. 275–288.

4. *Andrews Th.M., Andrews W.W., Baker C.* An Investigation into the Removal of Enzymes from Paper Following Conservation Treatment // *Journal of the American Institute for Conservation*. Vol. 31. No. 3, 1992. P. 313–323.

5. *Schwarz I.* A Pre-packaged α -Amylase Poulticing System: Albertina-Kompresse // *The American Institute for Conservation. The Book and Paper Group Annual*. Vol.19. 2000. P. 97–104.

6. *Erickson H.M.* Usage Recommendations for α -Amylases: Maximizing Enzyme Activity while Minimizing Enzyme-Artifact Binding Residues // The American Institute for Conservation. The Book and Paper Group Annual. Vol.11. 1992. P. 24–33.

7. *Hughes A., Sullivan M.* Targeted cleaning of works on paper: rigid polysaccharide gels and conductivity in aqueous solutions // The American Institute for Conservation. The Book and Paper Group Annual. Vol. 35. 2016. P. 30–41.

8. *Mayheux A.* Cross-disciplinary uses for gellan gum in conservation // The American Institute for Conservation. The Book and Paper Group Annual. Vol. 34. 2015. P. 69–79.

Примечания

1. *DeSantis P.C.* Some observations on the use of enzymes in paper conservation // Journal of the American Institute for Conservation. Vol. 23. No. 1. 1983. P. 7–27.

2. *Schwarzl.* A Pre-packaged α -Amylase Poulticing System: Albertina-Kompresse // The American Institute for Conservation. The Book and Paper Group Annual. Vol. 19. 2000. P. 97–104.

Сведения об авторах

Погорелова (Фрид) Нина Викторовна – Мастерская «Реставрация бумаги и пергамента», художник-реставратор.

21 Cedar Street, Alexandria, VA 22301 USA.

E- mail: nina.freed@paperandparchmentconservation.com

Pogorelova (Freed), Nina V. – Paper & Parchment Conservation, LLC, Conservator.

21 Cedar Street, Alexandria, VA 22301 USA.

E-mail: nina.freed@paperandparchmentconservation.com

ЭНЗИМЫ В РЕСТАВРАЦИИ МУЗЕЙНОГО ТЕКСТИЛЯ: ОБОБЩЕНИЕ ОПЫТА ЗАРУБЕЖНЫХ СПЕЦИАЛИСТОВ

В статье анализируются публикации зарубежных реставраторов по проблемам удаления различного рода загрязнений и старых реставрационных клеев с музейных тканей с помощью энзимов. Ферментативная очистка позволяет смягчить обработку ветхого текстиля по температуре и pH. Основное внимание уделяется влиянию ряда энзимов (α -амилазы, липазы, пектиназы, панкреатина, трансклутаминазы, супероксиддисмутазы) на морфологию поверхности, механические свойства и цветовые характеристики тканей, изготовленных из натуральных волокон. Тестирование на модельных образцах позволило установить номенклатуру ферментных препаратов, которые можно рекомендовать к применению в музейной консервации. Включение ферментативной очистки в программу реставрации ограничивается условиями, влияющими на ферментативную активность: энзимы несовместимы со многими химическими реагентами, имеют ограниченные сроки хранения и строгие условия эксплуатации. Эффективная ферментативная очистка возможна только при невысокой стабильной температуре. В настоящее время разработано новое оборудование, поддерживающее стабильную температуру в мягком диапазоне с равномерным распределением тепла по поверхности. Энзимы используют не только для очистки. Метод, основанный на применении трансклутаминазы (энзима, способствующего образованию связей между различными белковыми молекулами), позволяет укрепить ветхий шелк. Новой областью применения энзимов является их использование в археологии для определения возраста целлюлозного текстиля.

Ключевые слова: энзимы, музейные ткани, удаление загрязнений, реставрационный клей.

N. Ermakova

ENZYMES IN THE RESTORATION OF MUSEUM TEXTILES: GENERALIZATION OF THE EXPERIENCE OF FOREIGN SPECIALISTS

The article analyzes publications by foreign conservators on problems of removing impurities of various kinds and old restoration adhesives from museum fabrics by means of enzymes. Enzymatic purification makes it possible to soften the treatment of dilapidated textiles by temperature and pH. The focus is on the impact of a range of enzymes (α -amylase, lipase, pectinases, pancreatin, transglutaminase, superoxide dismutase) on the surface morphology, mechanical properties and color characteristics of fabrics made of natural fibers. Tests on model samples allowed to establish the nomenclature of enzyme preparations that can be recommended for use in museum conservation. The inclusion of enzymatic purification in the restoration program is limited by conditions affecting enzymatic activity: enzymes are incompatible with many chemical reagents, have limited shelf life and strict operating conditions. Effective enzymatic purification is possible only at a not high stable temperature. Currently, new equipment has been developed that maintains a stable temperature in a soft range with uniform heat distribution over the surface. Enzymes are used not only for clearing. The method based on the use of transglutaminase (the enzyme that promotes the formation of bonds between various protein molecules) makes it possible to strengthen the old silk. A new field of application of enzymes is their use in archaeology to determine the age of cellulose textiles.

Keywords: enzymes, museum tissues, removing dirt, restoration glue.

В 2020 и 2021 годах специалисты ГОСНИИР изучали возможность применения энзимов для удаления из музейных тканей загрязнений различной природы и старых реставрационных клеев. Анализ публикаций зарубежных консерваторов позволил определить степень изученности научной темы, рассмотреть методики, разработанные ими в сотрудничестве с биотехнологами, биохимиками и микробиологами, обратить внимание на выявленное в процессе тестирования методик влияние энзимов на морфологию поверхности, механические свойства и цветовые характеристики тканей, установить номенклатуру ферментных препаратов, которые могут быть рекомендованы к применению.

Известно, что первый патент на протеазу для стирки датирован 1913 годом, а с середины 1960-х годов начался массовый выпуск стиральных порошков, в состав которых входили энзимы¹. С этого времени стали предприниматься попытки применения ферментных препаратов в текстильной реставрации. Одними из первых использовали энзимы для удаления загрязнений с музейных тканей нидерландские специалисты: в 1968 г. Джудит Хофенк де Граф в журнале "*Studies in conservation*" сообщила о результатах их применения². В материалах конференций ИКОМ исследователь опубликовала рецептуру растворов, позволивших эффективно удалить загрязнения из музейных тканей³. В консервационной практике широкое применение нашли ферменты типа гидролаз, которые способствуют разрушению клеев предыдущих реставраций и облегчают удаление некоторых пятен.

Эффективное и безопасное раздублирование экспонатов, укрепленных с помощью крахмальных клеев, позволяет выполнить α -амилаза. Примером ее применения является очистка брюссельского гобелена из собрания Лувра (XVI в.; шерсть, шелк, металлические нити). Перед укреплением в игольной технике его хрупких участков требовалось удалить с оборотной стороны экспоната толстый слой крахмального клея. Клей просочился сквозь волокна на лицевую сторону, отчего ковер пожелтел и потускнел. Очистку в щадящем режиме выполнили погружением гобелена в раствор, содержащий α -амилазу (тип II A – код 6380, из *Bacillus sp.* около 1 300 единиц, производитель *Sigma-Aldrich*). Обработка придала цветам гобелена яркость⁴.

Раздублирование с помощью раствора α -амилазы (тип X-A, код A6211, из *Aspergillus Oryzae*, производитель *Sigma-Aldrich*) успешно применили на фрагменте ковра, экспонировавшегося в музее факультета прикладных искусств *Helwan University* (Египет). Узор ворсового ковра был выполнен пряжей с множеством оттенков. Крахмальный адгезив, использованный при дублировании, проник на лицевую сторону, склеив некоторые из ковровых узлов. Пряжа утратила первоначальный цвет и приобрела желтизну. Для удаления жесткого клея потребовалось полчаса обработки раствором амилазы при концентрации 25 Ед/мл и температуре 40°C. Постоянная температура поддерживалась помещением емкости с раствором в водяную баню. После отделения фрагмента от дублирующей ткани его извлекли из раствора и выполнили трехкратную промывку. Обработка повысила эластичность текстиля⁵.

Специалисты Музея Виктории и Альберта осуществили демонтаж фрагментов коптской ткани (инв. №№ 267–1889, 268–1889), дублированной на картон. Перед удалением крахмального клея шпателем нужно было его размягчить. Образец клея поместили в каплю воды. Оказалось, что для размягчения требовалось более суток. Использовать этот метод для пересушенного текстиля было

нежелательно. Значительно сократить время влажной обработки позволил компресс «Альбертина», основой которого является иммобилизованная в метилцеллюлозный гель α -амилаза из *Bacillus subtilis*. Продолжительность последующей промывки, удалившей остатки клея и энзима, составила 45 минут. Выполненная очистка смягчила волокна, устранила деформацию и сделала более яркими цвета⁶.

Итальянские специалисты разработали методику удаления крахмального клея с коптской шерстяной туники V–VI вв., находящейся в критическом состоянии. Они иммобилизовали α -амилазу (тип II A, из *Bacillus sp.*, производитель *Sigma-Aldrich*) в геллан с помощью нанесения ее кистью на гелевые поверхности толщиной в один сантиметр. Температура на поверхности составляла 40°C. После адсорбции фермента, компрессы накладывали с оборотной стороны туники примерно на 15 минут. Набухший клей удаляли шпателем и смоченными водой ватными тампонами. Очистка поверхности площадью около 4 кв. м была завершена за 160 часов. Туника приобрела гибкость и эластичность⁷.

Американским специалистам при подготовке к выставке «Царствующие мужчины: мода в мужской одежде, 1715–2015 гг.» потребовалось удалить пятна с модного в 1830-х годах мужского нижнего белья – льняных штанов с корсетным поясом из китового уса (коллекция Института костюма музея Метрополитен). Пятна, искажавшие внешний вид экспоната, в литературе описывают термином «лисьи пятна». Они часто бывают вызваны биологической активностью, связанной с пигментами клеточных стенок грибов и/или воздействием металла. Как правило, лисьи пятна не растворимы в воде, поэтому применять для их удаления поверхностно-активные вещества неэффективно. Консерваторы использовали методику ослабления лисьих пятен на бумаге. Обработку выполнили в несколько этапов, включивших воздействие сильным хелатором для железа (*HBED*, производитель *Santa Cruz Biotechnology*) в сочетании с лизирующим ферментом (*Glucanex sodium citrate*, производитель *Sigma-Aldrich*), содержащим β -глюканазу, целлюлазу, протеазу и хитиназу. Глюканазы и хитиназы разрушили клеточные стенки грибов, сделав лисьи пятна растворимыми в воде. Затем была выполнена влажная очистка, которая ослабила интенсивность пятен и дала возможность экспонировать предмет на центральной платформе, позволявшей осматривать его со всех сторон⁸.

В публикациях описано применение энзимов для удаления жировых загрязнений. Например, при очистке туники коптского периода (Музей исламского искусства, Египет) использовали липазу из *Candida cylindracea* (62316, производитель *Fluka*). Предварительное исследование на модельных льняных образцах, загрязненных оливковым маслом, а затем состаренных, определило оптимальные параметры ферментативной обработки: концентрация липазы 90 Ед/мл, температура 37°C, время погружения в ферментативный раствор 25 минут. Каждый участок туники с жировыми загрязнениями обрабатывали свежим раствором липазы. Удаление энзима из ткани выполнили с помощью трех водяных ванн⁹.

Для удаления жирного пятна (15×15 см) с шелкового покрывала (1780 г., Музей Виктории и Альберта) применили гель, содержащий липазу. Для его приготовления в 100 мл деионизированной воды добавили 0,5 г ТРИС (гидроксиметил) аминометана (широко используется в биохимии и молекулярной биологии в качестве буферного раствора с pH 7.0–9.0) и лимонную кислоту, получив раствор с pH 8.5. Раствор желировали 2 г метилцеллюлозы. 0,5 г липазы (тип VII) с активностью 700 Ед/мг растворили в нескольких каплях воды и смешали с гелем, следя за тем,

чтобы не образовывались пузырьки воздуха, которые могли денатурировать фермент. Апробацию липазного геля осуществили на небольшом участке пятна. 15-минутное воздействие оказалось эффективным для его ослабления. Обработанная область по цвету стала близка остальной части покрывала. Гель оказался простым в нанесении и контроле. При разработке методики консервации учли возможность появления разводов во время удаления остатков геля и продуктов разложения способом влажной очистки на вакуумном столе. Для защиты шелка, не подвергавшегося влажной очистке, использовали циклододекан ($C_{12}H_{24}$), похожий на воск и плавящийся при $61^{\circ}C$. Он нерастворим в воде и сублимируется из твердого вещества в газ при комнатной температуре, что делает его очень полезным самоудаляющимся уплотнителем и водным барьером. В расплавленном виде его можно наносить на поверхность с помощью кисти. Циклододекан, полностью сублимируясь, не изменяет внешний вид текстиля и не имеет серьезных последствий для здоровья и безопасности консерваторов. Его нанесли на лицевую и оборотную стороны покрывала по периметру пятна. Циклододекан проник через волокна, а затем затвердел. В результате влажной очистки на вакуумном столе продукты загрязнения и разложения были успешно удалены без разводов. Состояние хрупких шелковых волокон было улучшено, а их эластичность увеличена. Метод с использованием ферментного геля и циклододекана позволил успешно удалить маслянистые загрязнения, не вызвав нарушения конструкции объекта и его повреждения¹⁰.

Китайские специалисты для очистки шелковых тканей, обнаруженных при раскопках погребальных комплексов эпохи династии Тан (618–907 гг.), использовали настой чайного гриба, содержащего органические кислоты и ферменты: протеазу, амилазу, липазу, сахаразу, каталазу. Очистка дала хорошие результаты, не вызвав повреждений шелка¹¹.

Энзимы применяют в консервации не только для очистки. Например, китайские специалисты разработали метод восстановления шелка с помощью транsgлутаминазы – фермента, способствующего образованию связей между различными белковыми молекулами, богатыми глутамином и лизином. Так были укреплены образцы археологических тканей из погребений Байлучжоу (475–221 гг. до н.э.) и Чжан Аньши (202–9 гг. до н.э.). Исторический шелк находился в руинированном состоянии, распадаясь от прикосновения. Для оценки эффекта восстановления текстильных волокон операции выполнили на небольших образцах, не влияющих на целостность исторических тканей. Казеинат натрия и транsgлутаминазу (производитель *Beijing Biotopped Science & Technology Co. Ltd*) растворили в 0,1 М буферного раствора Трис-HCl (pH 7,0; концентрация казеината натрия 2%; соотношение транsgлутаминазы и казеината натрия 30 Ед/г). Полученную смесь распылили на образцы (отношение площади образца к объему смеси составляло 1 000 кв. мм : 1 мл). После восстановления не наблюдалось явного изменения внешнего вида образцов. Выполненное «сшивание» привело к улучшению механических свойств образцов. Шелк перестал распадаться при прикосновении, поскольку трещины в волокнах заполнились биополимерами¹².

Еще одной областью применения в реставрации энзимов является датирование археологических тканей. Итальянские специалисты разработали два метода определения возраста целлюлозного текстиля. Методы основаны на том, что целлюлоза со временем подвергается деградации, приводящей к образованию

в качестве конечных продуктов соединений, имеющих карбоксильные и метильные группы. Определив количество этих групп и сравнив полученные результаты с количеством карбоксильных и метильных групп у точно датированных образцов, можно определить возраст целлюлозного текстиля. Первый метод основан на иммобилизации глюкозооксидазы в археологический материал. Между ферментом и карбоксильными группами формируется связь. Затем образец помещают в раствор с избытком глюкозы. В результате реакции поглощается свободный кислород с образованием глюконовой кислоты и пероксида водорода. В раствор погружают электрод Кларка – датчик, позволяющий определить скорость потребления кислорода в реакции. Эта скорость пропорциональна активности иммобилизованной глюкозооксидазы, активность которой, в свою очередь, коррелируется с количеством карбоксильных групп в целлюлозном материале, а следовательно, и с возрастом текстиля. Используя образцы с известными датировками, можно построить график зависимости скорости потребления кислорода от возраста образца, создав калибровочную кривую для датировки целлюлозного текстиля. Вторым методом основан на применении фермента S-аденозилметионин-трансметиلاзы. Промытый и высушенный на воздухе образец помещается в ферментативный раствор, катализирующий реакцию деметилирования в присутствии S-аденозилметионина и тетрагидрофоловой кислоты. В продуктах реакции присутствует аденозин. Его количество можно фиксировать тонкослойной хроматографией или другими методами. Полученный результат является показателем возраста целлюлозных тканей. Используя датированные образцы, можно построить археометрическую кривую, показывающую корреляцию количества высвобождаемого аденозина к возрасту образца¹³.

К настоящему времени выполнены исследования по воздействию на механические и оптические свойства тканей α -амилазы, липазы, целлюлазы, трансклутаминазы, супероксиддисмутаза.

Оказалось, что α -амилаза (тип X-A, код A6211, из *Aspergillus Oryzae*, производитель *Sigma-Aldrich*) вызывает улучшение механических параметров (предела прочности при растяжении, относительного удлинения, индекса кристалличности) для хлопчатобумажных и шелковых тканей, и некоторое их снижение для льняных тканей. При этом она незначительно изменяет оптические параметры у хлопка, окрашенного мареной или куркумой с протравами (сульфат меди, цитрат железа)¹⁴.

Очистка с использованием липазы из бактерии *Bacillus sonorensis* показала хорошие результаты по сохранению цвета хлопка и полиэстера, но значительную утрату цвета у шелка и шерсти. Исследование влияния липазы из *Candida Cylindracea* на льняные образцы установило улучшение относительного удлинения, небольшое снижение прочности на растяжение и незначительное изменение оптических параметров. Применение для очистки хлопчатобумажных и льняных тканей смеси липазы и пектиназы дало лучшие результаты, чем использование каждого средства в отдельности¹⁵.

Предварительная обработка трансклутаминазой из *Streptomyces sp.* шерстяных тканей перед влажной очисткой моющими средствами увеличивает прочность ткани и повышает стойкость цвета¹⁶.

Обработка супероксиддисмутазой (BR, активность 1750 Ед/мг, производитель *Worthington Biochemical Corp.*) волокон карбонизированного археологического шелка повысила его прочность¹⁷.

Исследование влияния на красители льняных, хлопковых, шерстяных и шелковых тканей фермента панкреатина (*E.C. 232-468-9*, производитель *Sigma-Aldrich*), содержащего трипсин, амилазы, липазы, рибонуклеазы и протеазы, показало, что он относительно безопасен для использования в текстильной консервации¹⁸.

К сожалению, применение энзимов ограничено рядом условий, влияющих на ферментативную активность. Энзимы «эффективны в узких температурных пределах, несовместимы со многими химическими реагентами, имеют ограниченные сроки хранения и строгие условия эксплуатации»¹⁹.

Одной из проблем ферментативной очистки музейных тканей является необходимость поддержания невысокой стабильной температуры. С 1980-х годов в консервационной практике используют вакуумные столы с подогревом и увлажнением, однако до последнего времени даже приборы с термостатическим управлением обычно регулируют температуру, превышающую 40°C, а управление мягкими диапазонами температур недоступно, при этом наблюдается неравномерное распределение тепла. В 2011–2014 годах в Германии, Италии, Нидерландах и Литве осуществлялся проект *IMAT*, который координировался флорентийским университетом²⁰. Усилия специалистов были направлены на разработку устройств, обеспечивающих высокоточный мягкий нагрев при консервации произведений искусства (живописи, бумаги, текстиля). Тестирование новой предложенной методики проводилось в процессе очистки модельных образцов и музейных предметов с применением энзимов. Метод основан на использовании углеродных нанотрубок (*carbon nanotubes*) и других проводящих наноматериалов (например, серебряной нанопроволоки *AgNW*), для создания новых высокоточных мобильных устройств в виде гибких ковриков с низковольтным нагревом (*"imats"*) и проницаемостью для воздушных потоков и водяных паров.

В окончательном варианте нагреватель *IMAT* приобрел структуру типа «сэндвич», центральным слоем которой является пленка из углеродных нанотрубок с электродами для генерации тепла и датчиками температуры. Центральный слой *IMAT* защищен снаружи ламинатом с мягкой, нелипкой, идеально гладкой поверхностью. Коврики *"imats"* позволяют регулировать температуру с точностью 0,1°. Система тонкопрофильных прозрачных дышащих нагревательных ковриков и связанного с ними основного блока управления с сенсорным пультом и беспроводным датчиком температуры позволяет визуально контролировать распределение температуры на подключенном к системе мониторе. Коврики *"imats"* в процессе ферментативной очистки музейных тканей поддерживают невысокую стабильную температуру, равномерно распределенную по всей обрабатываемой поверхности.

Таким образом, за последние двадцать лет практика реставрации музейного текстиля пополнилась новыми методиками, позволяющими эффективно удалять загрязнения различной природы и старые реставрационные клеи с помощью энзимов. Ферментативная обработка сокращает время очистки и смягчает ее условия по pH и температуре. Зарубежные консерваторы установили оптимальные условия использования ряда ферментов и способы защиты ветхого текстиля от переувлажнения, разработали аппаратные средства для поддержания стабильной температуры при выполнении операций.

Примечания

1. *Kumar D. et al.* Microbial Proteases and Application as Laundry Detergent Additive / D. Kumar, Savitri, N. Thakur, R. Verma, T. C. Bhalla // Research Journal of Microbiology. No 3. 2008. P. 661–672; *Rähse W.* Enzyme für Waschmittel // Chemie Ingenieur Technik. T. 84. No. 12. 2012. P. 2152–2163; *Temam Abrar Hamza.* Bacterial Protease Enzyme: Safe and Good Alternative for Industrial and Commercial Use // International Journal of Chemical and Biomolecular Science. Vol. 3. No. 1. 2017. P. 1–10.
2. *Hofenk de Graaff J. H.* The constitution of detergents in connection with the cleaning of ancient textiles // Studies in conservation. Vol. 13. No 3. 1968. P. 122–141.
3. *Хофенк де Граф.* Моющие средства и их функции в стирке старого текстиля // Международный совет музеев. Комитет по консервации. Рефераты докладов, прочитанных на конференциях Комитета по консервации Международного совета музеев в 1967 (Брюссель) и в 1969 (Амстердам) гг. / под общ. ред. И. П. Горина, Ю. И. Гренберга. М.: Искусство, 1972. С. 36–38 (*Khofenk de Graf.* Moyushchiye sredstva i ikh funktsii v stirke starogo tekstilya // Mezhdunarodnyy sovet muzeyev. Komitet po konservatsii. Referaty dokladov, pročitannykh na konferentsiyakh Komiteta po konservatsii Mezhdunarodnogo soveta muzeyev v 1967 (Bryussel') i v 1969 (Amsterdam) gg. / pod obshch. red. I. P. Gorina, YU. I. Grenberga. M.: Iskusstvo, 1972. S. 36–38).
4. *Forestier S., Bos A.* La restauration d'une tapisserie bruxelloise de la Renaissance par traitement enzymatique // Technè: la science au service de l'histoire de l'art et des civilisations. No. 41. 2015. P. 101–107.
5. *Ahmed H. E., Kolisis F. N.* An investigation into the removal of starch paste adhesives from historical textiles by using the enzyme α -amylase // Journal of cultural heritage. Vol. 12. No. 2. 2011. P. 169–179.
6. *Whaap F.* The treatment of two Coptic tapestry fragments // V & A conservation journal. No. 55. 2007. P. 11–13.
7. *Ferrari M. et al.* Enzymatic laundry for old clothes: immobilized alpha-amylase from *Bacillus* sp. for the biocleaning of an ancient Coptic tunic / M. Ferrari, R. Mazzoli, S. Morales, M. Fedi, L. Liccioli, A. Piccirillo, T. Cavaleri, C. Oliva, P. Gallo, M. Borla, M. Cardinali, E. Pessione // Applied Microbiology and Biotechnology. No. 101. 2017. P. 7041–7052.
8. *Mina L.* Foxy underpants: or the use of chelators and enzymes to reduce foxing stains on early Nineteenth century men's linen underpants // Journal of the American Institute for Conservation. Vol. 59. No. 1. 2020. P. 3–17.
9. *Ahmed H.E., Gremos S.S., Kolisis F.N.* Enzymatic removal of the oily dirt from a Coptic tunic using the enzyme lipase // Journal of textile and apparel, technology and management. Vol. 6. No. 3. 2010. P. 1–17.
10. *Glenn S. et al.* Borrowing from the neighbours: using the technology of other disciplines to treat difficult textile conservation problems / S. Glenn, J. Hackett, E.-A. Haladane, S. Im // Learning Curve: Education, Experience, Reflection. Forum of the ICON Textile Group. 13 April 2015. Birbeck College, London. L., 2015. P. 33–42.
11. *Даниелян Л. Т.* Чайный гриб (Kombucha) и его биологические особенности. М.: Медицина, 2005. С. 13, 74 (*Daniyelyan L. T.* Chaynyy grib (Kombucha) i yego biologicheskiye osobennosti. M.: Meditsina, 2005. S. 13, 74); *Yan Li et al.* (Application

of kombucha fermentation in washing crystal fouling on silk cultural heritage). – Wen wu bao hu yu kao gu ke xue / Yan Li, Fu Meng, Zhao Rui-ting, Zhang Rui, Wu Wang-ting. Feb. 2011. P. 7–12.

12. *Zhu Z., Liu L., Gong D.* Transglutaminase – mediated restoration of historic silk and its ageing resistance // *Heritage Science*. 2013. Article No. 13.

13. *Campanella L.* Two archaeometric methods for cellulosic textile finds using enzymatic test // *The first international conference on archaeology and conservation*, 12–17 August 2002, Jordan. 2002. P. 117–123.

14. *Ahmed H. E., Kolisis F. N.* An investigation into the removal of starch paste adhesives from historical textiles by using the enzyme α -amylase // *Journal of cultural heritage*. Vol. 12. No. 2. 2011. P. 169–179; *Ahmed H. E.* An extensive study of the effect of the enzyme α -amylase used in textile conservation on Silk Fibers Dyed with Safflower and Madder Dye // *e-conservation magazine*. Vol. 17. 2010. P. 41– 51.

15. *Nerurkar M. et al.* Application of lipase from marine bacteria *Bacillus sonorensis* as an additive in detergent formulation / M. Nerurkar, M. Joshi, S. Pariti, R. Adivarekar // *Journal of Surfactants and Detergents*. No. 16. 2013. P. 435–443.

16. *Tesfaw A., Assefa F.* Applications of transglutaminase in textile, wool, and leather processing // *International Journal of Textile Science*. No. 3 (4). 2014. P. 64–69.

17. *Bai X. et al.* A potential scavenger of carbon radicals for ancient carbonized silk fabrics: Superoxide Dismutase (SOD) / X. Bai, Y. Gong, H. Yang, D. Gong // *Heritage Science*. Vol. 2. 2014. Article No. 27.

18. *Mohamed Z. M. Salem et al.* Assessment of the use of natural extracted dyes and pancreatin enzyme for dyeing of four natural textiles: HPLC analysis of phytochemicals / Mohamed Z.M. Salem, Ibrahim H.M. Ibrahim, Hayssam M. Ali, Hany M. Helmy // *Processes*. Vol. 8. No. 1. 2020. Article No. 59.

19. *Ясинская Н. Н., Скобова Н. В., Сергеев В. Ю.* Возможности ферментных технологий для модификации внешнего вида швейных изделий из хлопчатобумажных тканей // *Вестник Витебского государственного технологического университета*. №1 (36). 2019. С. 168–175 (*Yasinskaya N. N., Skobova N. V., Sergeyev V. YU.* Vozmozhnosti fermentnykh tekhnologiy dlya modifikatsii vneshnego vida shveynykh izdeliy iz khlopchatobumazhnykh tkaney // *Vestnik Vitebskogo gosudarstvennogo tekhnologicheskogo universiteta*. №1 (36). 2019. S. 168–175).

20. *Markevicius T. et al.* IMAT Project: From Innovative Nanotechnology to Best Practices in Art Conservation / T. Markevicius, N. Olsson, M. Carfagni, R. Furferi, L. Governi, L. Puggelli // *EuroMed*. 2012. LNCS 7616. P. 784–792; *Markevičius T. et al.* Cold, warm, warmer: use of precision heat transfer in the optimization of hydrolytic enzyme and hydrogel cleaning systems / T. Markevičius, T. Syversen, E. Chan, N. Olsson, C. Skov Hilby, R. Šimaitė // *Gels in the conservation of art* / Angelova L.V., Ormsby B., Townsend J.H., Wolbers R. (Editors). L., 2017. P. 67–72; *Meyer H. et al.* Carbon nanotubes in art conservation / H. Meyer, K. Saborowski, T. Markevicius, N. Olsson, R. Furferi, M. Carfagni // *International journal of conservation science*. Vol. 4. Special Issue. 2013. P. 633–646; *Markevicius T. et al.* Towards the Development of a Novel CNTs-Based Flexible Mild Heater for Art Conservation / T. Markevicius, R. Furferi, N. Olsson, H. Meyer, L. Governi, M. Carfagni, Y. Volpe, R. Hedelbach // *Nanomaterials and Nanotechnology*. Vol. 4. 2014. Article No. 8.

Сведения об авторах

Ермакова Нина Владимировна – кандидат исторических наук,
ФГБНИУ «ГОСНИИР», ведущий специалист.
107014, Москва, ул. Гастелло, д. 44, стр. 1.
E-mail: nvl-ermakova@mail.ru

Ermakova Nina – Candidate of Historical Sciences,
The State Research Institute for Restoration, leading specialist.
44-1, Gastello St., Moscow, Russia, 107014.
E-mail: nvl-ermakova@mail.ru

РЕЗУЛЬТАТЫ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОЙ РАБОТЫ «ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ЭНЗИМОВ ДЛЯ УДАЛЕНИЯ КРАХМАЛЬНЫХ КЛЕЁВ ПРИ РЕСТАВРАЦИИ МУЗЕЙНЫХ ТКАНЕЙ»

Крахмальные клеи широко использовались и используются по сей день как при изготовлении предметов ДПИ, так и при их реставрации. Они глубоко проникают в волокна ткани, которые из-за этого со временем теряют эластичность, становятся хрупкими и разрушаются. Поэтому в процессе реставрации часто возникает необходимость удаления такого клея. Механическая и водная очистка не могут полностью решить эту задачу, к тому же не ко всем экспонатам их можно применить в полной мере. Правильно подобранные энзимы могут помочь решить эту проблему. Ферменты как катализаторы могут ускорить химическую реакцию разложения молекул клея, полностью исключив или минимизировав механическое воздействие на экспонат, удалить клей из структуры ткани и даже частично вернуть эластичность волокон. В статье описаны результаты исследований воздействия энзима альфа-амилазы на состаренные проклеенные крахмальным клеем ткани из льна, хлопка, шерсти и шелка. Для каждого вида ткани была определена сохранность прочности и эластичности, что необходимо для сохранности музейного текстиля. Кроме того, проведены исследования на предмет возможных изменений в структуре тканей. Подобраны параметры технологического процесса удаления состаренного крахмального клея. Прежде всего, это конкретные препараты альфа-амилазы, а также концентрация рабочего раствора, время экспозиции и температура обработки. По результатам исследований разработана методика повторной реставрации музейных тканей с целью удаления старого клея.

Ключевые слова: энзимы, ферменты, удаление старого клея, повторная реставрация, исторический текстиль, крахмальный клей, альфа-амилаза, α -амилаза.

E. Malachevskaya, Y. Khrebtova

RESULTS OF SCIENTIFIC RESEARCH WORK “APPLYING OF ENZYMES FOR REMOVING STARCH ADHESIVES IN MUSEUM TEXTILE RESTORATION”

Starch adhesives have been widely used and are still used today both in the manufacture of arts and crafts and in their restoration. They penetrate deep into the fibers of the fabric, which, because of this, eventually lose their elasticity, become brittle and collapse. Therefore, during the restoration process, it often becomes necessary to remove such glue. Mechanical and water cleaning cannot completely solve this problem, besides, they cannot be applied to all exhibits to the full extent. Properly selected enzymes can help solve this problem. Enzymes as catalysts can accelerate the chemical reaction of the decomposition of glue molecules, completely eliminating or minimizing the mechanical impact on the exhibit, remove glue from the fabric structure and even partially restore the elasticity of the fibers. The article describes the results of studies on the effect of the α -amylase enzyme on aged fabrics made of linen, cotton, wool and silk glued with starch glue. For each type of fabric, the preservation of strength and elasticity was determined which is necessary for the preservation of museum textiles. In addition, studies were carried out for possible changes in fabrics structure. The parameters of the technological process for removing aged starch glue are selected. First of all, these are specific preparations of alpha-amylase, as well as the concentration of the working solution, exposure time and processing temperature. Based on the results of the research, a technique of removal the aged starch glue in the re-restoration of museum fabrics has been developed.

Keywords: enzymes, removal of aged glue, re-restoration, historical textiles, starch glue, α -amylase.

Крахмальные клеи широко использовались и используются по сей день как при изготовлении предметов ДПИ, так и при их реставрации. Они глубоко проникают в волокна ткани, которые из-за этого со временем теряют эластичность, становятся хрупкими и разрушаются¹. Механическая и водная очистка не могут полностью решить задачу удаления такого клея, к тому же не ко всем экспонатам их можно применить в полной мере. С целью исследования возможности удаления таких клеев щадящими методами был проанализирован метод воздействия энзимами на состаренный крахмальный клей.

Известно, что для разрушения крахмала пригодна α -амилаза, и есть положительный опыт применения ее в музейной реставрации. Наша задача состояла в том, чтобы подобрать оптимальные энзимные препараты для каждого из вида тканей: шелк, шерсть, лен и хлопок, а также отработать технологический процесс удаления клея. Кроме того, представлялось важным проверить, как меняются после такой обработки прочность и эластичность тканей.

Энзимные препараты, отобранные для эксперимента, должны, во-первых, быть доступными на российском рынке и, во-вторых, работать при низких температурах, а также при значениях водородного показателя (pH), близких к нейтральному. Выбор препаратов был осуществлен при участии сотрудников Всероссийского научно-исследовательского института пищевой биотехнологии – филиала Федерального исследовательского центра питания, биотехнологии и безопасности пищи (ВНИИПБТ – филиал ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии»).

В эксперимент были взяты 2 препарата, содержащие бактериальную α -амилазу (АЛЬФАЛАД БН производства Торговый дом «Биопрепарат» и BAN 480 LS производства *Novozymes*, Дания), а также 2 препарата, содержащие грибную α -амилазу (Амилоризин производства Торговый дом «Биопрепарат» и Фунгамил производства *Novozymes*, Дания).

Кроме того, было проверено воздействие на клеевую композицию указанных препаратов при добавлении к ним моющего средства «Ландыш», производства АО «Объединение Бытовой Химии» г. Новомосковск Тульской обл., изготовленного с указанными нами изменениями (без добавления в рецептуру отдушки и отбеливателя). Водородный показатель (pH) водопроводной воды, используемой в эксперименте, составлял 6–6,5, добавление «Ландыша» повышало его до 7.

Модельные образцы готовились из новых тканей: шелка, шерсти, хлопка и льна. На них был нанесен слой крахмального клея (густой клейстер №3), приготовленного по методике Н. Н. Семеновича². Данная методика была выбрана как наиболее популярная среди отечественных реставраторов второй половины XX века. Большинство экспонатов, нуждающихся сегодня в повторной реставрации, ранее были отреставрированы именно по ней. Далее, проклеенные тканевые образцы подверглись процедуре старения в климатической камере. Время экспозиции в камере составляло 500 часов, температура: $60 \pm 5^\circ\text{C}$, относительная влажность: $98 \pm 2\%$. Состаренная ткань была нарезана на кусочки 5×5 см., а затем образцы были обработаны вышеперечисленными энзимными препаратами. Препараты применялись в концентрациях 0,05% и 0,1%, с моющим средством «Ландыш» (в специальном приготовлении) и без него, время экспозиции препарата на образце составляло 30 или 60 минут. Готовилось по 2 параллельных образца на каждый из перечисленных вариантов. Обработка проводилась при постоянной температуре $40 \pm 2^\circ\text{C}$

в термостате. Таким образом, в эксперименте были обработаны 256 образцов. Затем проводилась трехкратная промывка образцов дистиллированной водой и просушка в слоях фильтровальной бумаги при комнатной температуре. По литературным данным³ такая обработка достаточна для удаления следов используемых ферментов, что подтверждают и специалисты из ВНИИПБТ, специализирующиеся на работе с энзимными препаратами. Далее, таким же образом были изготовлены модельные образцы для испытания тканей на определение изменения прочности и эластичности в результате обработки энзимами, если таковое происходит. Размер этих образцов составлял 12×5 см. Обработка также проводилась четырьмя энзимными препаратами без добавления моющего средства, концентрация их составляла 1%, а время экспозиции – 60 минут (при постоянной температуре 40±2°C). Для этого этапа эксперимента было изготовлено 8 образцов.

Прежде всего, следовало убедиться, что данная обработка не нарушает целостности нитей и их элементного состава, а также не ухудшает прочность и эластичность тканей. Для этого с помощью электронного микроскопа были проведены визуальные исследования нитей образцов шелка и сделаны замеры толщины их пучков у новой ткани (после старения) и у той же ткани после обработки энзимными препаратами. Определено, что этот параметр остается неизменным в результате указанной обработки. Результаты замеров таковы (в мкм):

- состаренный шелк – 123, 132, 137, 140;
- обработка BAN 480 LS – 93, 99, 115;
- обработка Альфаладом – 93, 96, 113, 118;
- обработка Амилоризином – 108, 125, 140, 99;
- обработка Фунгамиллом – 105, 111, 125, 126.

Как видно из приведенных данных, с учетом неравномерности волокон шелка можно сделать вывод, что толщина их не меняется в результате указанной процедуры.

Замер изменений элементного состава показал, что количество углерода и кислорода, основных элементов, входящих в состав шелковых нитей, до и после очистки остался неизменным (табл. 1).

Таблица 1. Замер элементного состава образцов шелка

Образец	С	О
Исходный	55,08 54,09	43,95 44,84
BAN 480 LS	61,5 60,22	35,9 36,23
Альфалад	64,68 65,01	34,27 33,82
Амилоризин	58,16 57,87	40,88 40,94
Фунгамил	62,9 63,49	35,53 35,68

Затем модельные образцы шерсти, шелка, льна и хлопка, прошедшие ферментное удаление клеевого слоя, были исследованы на изменение прочности и эластичности в результате данной процедуры. Испытания образцов проводились на разрывной машине FP 10/1 (Германия). В качестве примера приведены результаты испытаний образцов шелка (табл. 2).

Таблица 2. Результаты испытаний образцов шелка на прочность и относительное удлинение

		Прочность на разрыв, Н	Относительное удлинение, %
Новая ткань	Образец 1	55	31,5
	Образец 2	42,5	31,5
	Среднее	48,5	31,5
Состаренная ткань	Образец 1	5	14,3
	Образец 2	5,2	14,3
	Среднее	5,1	14,3
Амилоризин	Образец 1	14	47,2
	Образец 2	15	37,2
	Среднее	14,5	42,2
BAN 480 LS	Образец 1	13,6	28,6
	Образец 2	8,4	31,5
	Среднее	11	30
Альфалад БН	Образец 1	9	30
	Образец 2	8,6	21,5
	Среднее	8,8	25,8
Фунгамил	Образец 1	12,2	25,8
	Образец 2	8,8	25,8
	Среднее	10,5	25,8

Результаты, полученные и для трех остальных тканей, позволяют сделать следующие выводы.

1. Состаренный шелк с клеевым покрытием значительно теряет в прочности (примерно в 9 раз) и эластичности (в 2 раза);
2. Прочность шелковой ткани после расчистки всеми препаратами увеличилась примерно в 2 раза;
3. Относительное удлинение шелка после расчистки всеми энзимами увеличилось и достигло значения этого показателя для новой ткани при обработке препаратами BAN 480 LS и Амилорезин;
4. Прочность состаренного хлопка с клеевой пленкой снизилась после ускоренного старения в 1,5 раза;
5. Эластичность состаренных образцов хлопка снизилась незначительно;
6. После обработки всеми энзимами прочность хлопковой ткани возросла, а для препарата BAN 480 LS достигла прочности исходной ткани;

7. Относительное удлинение хлопка после очистки энзимами мало изменилось и практически достигло значений эластичности исходной ткани после обработки препаратами Амилоризин и Фунгамил;
8. Относительное удлинение образцов льна практически осталось неизменным как в результате ускоренного старения, так и после обработки энзимами;
9. Прочность модельных образцов льна выросла в результате всех проведенных процедур, особенно ее увеличила обработка препаратом BAN 480 LS;
10. В результате старения прочность шерсти с клеевым покрытием увеличилась примерно в 3 раза;
11. Относительное удлинение шерсти несколько снизилось в результате старения, а после очистки ферментами уже практически не меняло значений и только препарат Амилоризин немного увеличил его;
12. Прочность шерсти после расчистки тремя препаратами осталась неизменной, а BAN 489 LS увеличил ее почти в 2 раза.

Итак, полученные в итоге исследований результаты показали, что очистка от крахмального клея шелка, хлопка, льна и шерсти с помощью энзимных препаратов, взятых в эксперимент, не только не ухудшают, а, в основном, улучшают их механические свойства.

Далее все модельные образцы были исследованы под электронным микроскопом с целью определения полноты отмывания всеми препаратами каждого вида ткани. Были просмотрены 144 образца. Полнота очистки образца от клея, наблюдаемая под микроскопом, оценивалась по 5-балльной системе следующим образом:

- 5 баллов – нити чистые, видна четкая фактура ткани, никаких следов клея;
- 4 балла – образец чистый, но отдельные мелкие частицы клея встречаются;
- 3 балла – присутствуют отдельные частицы клеевого покрытия, нити частично склеены;
- 2 балла – ткань почти сплошь покрыта клеевой пленкой.

По итогам изучения микрофотографий четырех видов очищенных экспериментальными препаратами тканей была произведена оценка эффективности этих препаратов. Использовалось время обработки 30 и 60 минут, концентрация препаратов: 0,05% и 0,1%, а также добавление к ферментам моющего препарата, о котором сказано выше (1% от общего объема). Данные по каждой ткани сводились в таблицу. Для наглядности приводим таблицу по очистке образцов льна (табл. 3).

Как видно из данных Таблицы 3, наилучшими препаратами для очистки образцов льна оказались BAN 480 LS с добавкой специального моющего средства «Ландыш» и Альфалад. Для обоих препаратов оптимальная концентрация – 0,05% при времени обработки 1 час, а для BAN 480 LS с добавкой – еще и концентрация 0,1% при времени обработки 30 мин.

При концентрации 0,05% всех примененных составов за время экспозиции 30 мин не происходит очистки льна. При увеличении времени в два раза начинают работать Альфалад в чистом виде, а также Амилоризин и BAN 480 LS с добавками «Ландыша».

Таблица 3. Оценка степени очистки образцов льна

Конц. (%) – время (мин.)	0,05–30	0,05–60	0,1–30	0,1–60
Альфалад	2	5	4	4
Альфалад + «Ландыш»		2	2	3
Амилоризин	2	2	2	4
Амилоризин + «Ландыш»	2	4	5	2
BAN 480 LS		2	2	2
BAN 480 LS + «Ландыш»	2	5	5	4
Фунгамил		2	2	2
Фунгамил + «Ландыш»		2	3	3

Получение подобных результатов для всех видов ткани вместе с вышеописанными исследованиями дало возможность сделать следующие выводы.

1. Очистка тканей (шелк, хлопок, лен и шерсть), проклеенных ранее крахмальными клеями (с добавками) от этих состаренных проклеек с помощью энзимов исследованных 4-х марок увеличивает их прочность;

2. Эластичность тканей, определяемая их относительным удлинением, не снижается в результате такой очистки. Ее значения остаются на том же уровне для льна и шерсти и увеличиваются до значений эластичности новой ткани у хлопка и шелка;

3. По итогам исследования проклеенных образцов шелка, льна, хлопка и шерсти под электронным микроскопом на полноту их очистки от клеевой композиции на основе крахмала были выбраны энзимные препараты, содержащие α -амилазу, для каждого вида ткани, а также параметры технологического процесса – концентрация и время обработки (табл. 4).

Таблица 4. Энзимные препараты и параметры их применения

	Альфалад	Альфалад + «Ландыш»	Амилоризин	Амилоризин + «Ландыш»	BAN 480 LS
Шелк		0,05% 60 мин; 0,1% 30 мин			
Лён	0,05% 60 мин				0,05% 60 мин; 0,1% 30 мин
Хлопок	0,1% 30 мин	0,1% 30 мин	0,1% 30 мин	0,1% 30 мин	0,1% 30 мин
Шерсть	0,05% 60 мин; 0,1% 30 мин	0,05% 60 мин; 0,1% 30 мин	0,1% 30 мин		

На основе проведенной работы были написаны «Методические рекомендации по удалению крахмальных клеев препаратами, содержащими α -амилазу», а по этим рекомендациям отреставрированы 2 знамени из шелка начала XIX века. Методика с применением разработанной процедуры энзимной очистки была применена также при реставрации бархатного платя Господской плащаницы Синодального периода⁴. Были успешно удалены бумажные проклейки на оборотной стороне и фрагменты мучного клея из волокон бархата.

Примечания

1. Голиков В. П., Лантратова О. Б. Комплексное экспериментальное исследование влияния реставрационного мучного клея на текстиль // «VI Грабарёвские чтения». Международ. науч. конф. Доклады, сообщения. М.: СканРус, 2005. С. 184–198.

2. Семенович Н. Н. Реставрация музейных тканей. Теория и технология. Л.: Изд-во Гос. Эрмитажа, 1961. С. 59–65.

3. Ahmed H. E., Kolisis F. N. An investigation into the removal of starch paste adhesives from historical textiles by using the enzyme α -amylase // Journal of cultural heritage. Vol. 12. № 2. 2011. P. 169–179.

4. Смоленчук Е. В., Хребтова Ю. В. Методы очистки исторических тканей на примере реставрации предметов церковного искусства Синодального периода // Возвращение к истокам: сб. науч. статей: материалы международ. науч. конф. III Покровские академич. чтения «Древнерусское шитье – история и современность». Вып. 3. СПб.: НИЦ АРТ, 2021. С. 74–81.

1. Golikov V. P., Lantratova O. B. Kompleksnoe e'ksperimental'noe issledovanie vliyaniya restavracionnogo muchnogo kleya na tekstil // «VI Grabaryovskie chteniya». Mezhdunarod. nauch. konf. Doklady, soobshheniya. M.: SkanRus, 2005. S. 184–198.

2. Semenovich N. N. Restavraciya muzejny'x tkanej. Teoriya i texnologiya. L.: Izd-vo Gos. E'rmitazha, 1961. S. 59–65.

3. Ahmed H. E., Kolisis F. N. An investigation into the removal of starch paste adhesives from historical textiles by using the enzyme α -amylase // Journal of cultural heritage. Vol. 12. № 2. 2011. P. 169–179.

4. Smolenchuk E. V., Xrebtova Yu. V. Metody` ochistki istoricheskix tkanej na primere restavracii predmetov cerkovnogo iskusstva Sinodal'nogo perioda // Vozvrashhenie k istokam: sb. nauch. statej: materialy` mezhdunarod. nauch. konf. III Pokrovskie akademich. chteniya «Drevnerusskoe shit'e – istoriya i sovremennost'». Vy`p. 3. SPb.: NICz ART, 2021. S. 74–81.

Сведения об авторах

Малачевская Елена Львовна – ФГБНИУ «ГОСНИИР», заведующая лабораторией химико-технологических исследований.

107014, Москва, ул. Гастелло, 44, стр. 1.

E-mail: elemal34@mail.ru

Хребтова Юлия Викторовна – ФГБНИУ «ГОСНИИР», заведующая отделом научной реставрации произведений прикладного искусства.

107014, Москва, ул. Гастелло, 44, стр. 1.

E-mail: julia_pgr@yahoo.com

Malachevskaya Elena – The State Research Institute for Restoration,
head of the laboratory of chemical and technological research.

44-1, Gastello St., Moscow, Russia, 107014.

E-mail: elemal34@mail.ru

Khrebtova Yuliya – The State Research Institute for Restoration,
Head of the Department of Scientific Restoration of Works of Applied Art.

44-1, Gastello St., Moscow, Russia, 107014.

E-mail: julia_pgr@yahoo.com

ОПЫТ ПРАКТИЧЕСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ ФЕРМЕНТА АЛЬФА-АМИЛАЗЫ В РЕСТАВРАЦИИ ТЕКСТИЛЯ

В статье описан опыт повторной реставрации шелковых знамен начала XIX века, в процессе которой для удаления старого крахмального клея был успешно применен фермент альфа-амилаза. При предыдущей реставрации сороковых–пятидесятых годов XX века полотнища знамен были сдублированы на крупный хлопчатобумажный тюль с помощью мучного клея. Данный метод дублировки был очень популярен в начале и середине XX века; многие экспонаты, отреставрированные в то время, сейчас нуждаются в повторной реставрации, что делает поднятую нами проблему очень актуальной. Состаренный клей так разрушил исторический текстиль, что в каталожных данных состояние сохранности знамен характеризовалось как соответствующее состоянию сохранности археологического текстиля. Убрать клей механически или с помощью водной очистки не представлялось возможным. Был выбран метод очистки с применением энзимов. Ферменты как катализаторы могут ускорить химическую реакцию разложения молекул клея, полностью исключив или минимизировав механическое воздействие на экспонат, удалить клей из структуры ткани и даже частично вернуть эластичность волокон. Эффективность и безопасность реставрации была основана на результатах научно-исследовательской работы «Использование энзимов для удаления крахмальных клеев при реставрации музейных тканей». В статье рассматриваются критерии выбора ферментного препарата, описана программа его тестирования, дан список необходимых материалов и оборудования, подробно описана последовательность технологических операций при повторной реставрации знамен, сдублированных на тюль.

Ключевые слова: энзимы, ферменты, удаление старого клея, повторная реставрация, исторический текстиль, крахмальный клей, альфа-амилаза, α -амилаза.

Y. Khrebtova

PRACTICAL APPLICATION OF THE ENZYME ALPHA-AMYLASE IN TEXTILE RESTORATION

The article describes the experience of re-restoration of a silk banner of the early 19th century, where the alpha-amylase enzyme was successfully applied for removal the aged starch glue. During the previous restoration of the forties and fifties of the 20th century, the banner panels were duplicated on a large cotton tulle with starch glue. This method of duplication was very popular in the early-mid 20th century, many exhibits restored at that time now need to be re-restored, it makes the problem very relevant. Aged glue destroyed historical textiles so much that in the catalog data the state of preservation of the banners was characterized as corresponding to the state of preservation of archaeological textiles. It was impossible to remove it mechanically or with the help of water cleaning. The purification method using enzymes was chosen. Enzymes as catalysts can accelerate the chemical reaction of the decomposition of glue molecules, completely eliminating or minimizing the mechanical impact on the exhibit, remove glue from the fabric structure and even partially restore the elasticity of the fibers. The effectiveness and safety of the restoration was based on the results of the research work "Applying of enzymes for removing starch adhesives in museum textile restoration". Particular attention is paid to the selection of an enzyme preparation, and a program for its testing was developed. The sequence of technological operations of the re-restoration of banners duplicated on tulle is described.

Keywords: enzymes, removal of aged glue, re-restoration, historical textiles, starch glue, α -amylase.

В отдел научной реставрации предметов прикладного искусства ГОСНИИР из Музея-заповедника «Бородинское поле» поступили экспонаты – знамёна начала XIX века. При предыдущих реставрациях полотнища знамен были сдублированы на крупную х/б сетку на мучной клей. Данный метод дублировки был очень популярен в начале и середине XX века.

На момент передачи на повторную реставрацию тонкий шелк Саксонского знамени был сильно пересушен, хрупкий, ломкий, жесткий. Наблюдались значительные осыпи и утраты шелка по всей поверхности. У Баварского знамени была практически полностью утрачена ткань. Вышивка сохранилась в виде фрагментов. Клей и ткань дублировки практически полностью скрывали одну сторону знамени, так что до начала реставрации было непонятно, вышивка двусторонняя или нет. В каталожных данных состояние сохранности этих знамен характеризовалось как соответствующее состоянию сохранности археологического текстиля.

Пробы на водную очистку шелка Саксонского знамени не дали удовлетворительных результатов, более того, при высыхании шелк становился еще более хрупким, буквально рассыпался от прикосновения. Фрагменты Баварского знамени были густо залиты клеем, клей плотно лежал между нитями вышивки и убрать его механически, не повредив нити, было невозможно. Пришлось искать щадящий метод удаления мучного клея.

Известно, что фермент альфа-амилаза успешно применяется в реставрации бумаги и ткани за рубежом. Также известны случаи успешного его использования в отечественной реставрации. Например, о реставрации Баварского знамени в Эрмитаже говорится в публикации¹, но в этой работе нет ни методических рекомендаций по работе с ферментами, ни состава и названия ферментного препарата. Препараты же, упоминаемые в зарубежной литературе, очень дороги и малодоступны. Так что кроме создания методики нам пришлось решать вопрос о выборе ферментных препаратов, доступных на российском рынке. В выборе препарата мы опирались на результаты научно-исследовательской работы ГОСНИИР «Использование энзимов для удаления крахмальных клеев при реставрации музейных тканей», что гарантировало эффективность и безопасность реставрационных работ.

В результате проведенной исследовательской и реставрационной работы была разработана методика, которую мы представим на примере реставрации Саксонского знамени.

Для успешной работы необходимы следующие материалы и оборудование:

1. Ферментный препарат α -амилазы. Основное требование, предъявляемое реставраторами к препарату альфа-амилазы – безопасность для тканей, т. е. работа при низких температурах (ок. 40°C) и при значениях pH, близких к нейтральному. Например, препарат «Альфалад», российского производителя, недорогой, работает при T от 30 до 80°C, в широком диапазоне pH;

2. Моющее средство «Ландыш»; без добавления в рецептуру отдушки и оптического отбеливателя производства АО «ОБХ» (Тульская область, г. Новомосковск). Изготавливается специально по нашему заказу для реставрационных целей;

3. Нагревательный прибор, обеспечивающий стабильную температуру 40°C (термостат, реставрационный вакуумный стол с подогревом, плоский гибкий обогреватель с регулятором температуры, работающий во влажной среде);

4. Бесконтактный термометр для контроля температуры;

5. Нетканый материал Hollytex – белая нетканая полиэфирная ткань с ультра-гладкой поверхностью с высокой прочностью на растяжение и разрыв, с хорошей химической стойкостью к кислотам, окислителям и растворителям, хорошей стабильностью размеров во всех направлениях. Он поможет предотвратить смещение фрагментов и обеспечит сохранность экспоната;

6. Плотная тонкая пластиковая сетка, типа сетки от комаров на окна, для армирования;

7. Фланель;

8. Силиконовая или полиэтиленовая пленка;

9. Пульверизатор;

10. Вакуумный промывочный стол;

11. Дистиллированная вода.

Перед началом работы важно протестировать ферментный препарат для выбора правильной концентрации рабочего раствора. Обратите внимание, что ферментная активность падает при долгом или неправильном хранении, поэтому данный пункт особенно важен.

Нами разработана следующая Программа тестирования:

- приготовить водные растворы разных концентраций альфа-амилазы (0,1 или 0,05%) с и без добавления 1% моющего средства «Ландыш» (итого 4 раствора);
- подготовить 8 тестовых образцов (проклеенных крахмальным клеем фрагментов ткани). В идеале использовать фрагменты дублета экспоната. В нашем случае это был х/б тюль, мы вырезали фрагменты 4×2 см;
- обработать тестовые образцы растворами, время обработки 30 и 60 мин. при температуре 40°C;
- промыть. Высушить на фильтровальной бумаге;
- провести йодные пробы на тестовых объектах. Т. е. на каждый образец капнуть каплю йода. Синий цвет – индикатор присутствия крахмала, коричневый – крахмала нет. Выбираем образец самый коричневый. Это и будут оптимальные параметры;
- провести пробные работы на неответственном участке экспоната. Это позволит убедиться, что обработка не причинит вред (не приведет к изменению цвета, текучести красителей и т.д).

В нашем случае был выбран 0,1% водный раствор «Альфалада» с добавлением 1% «Ландыша», время обработки 30 минут.

Последовательность технологических операций при повторной реставрации знамен, сдублированных на тюль:

- перенести расположение фрагментов знамени на бумагу;
- для предотвращения смещения фрагментов и обеспечения максимальной сохранности экспоната в процессе обработки ферментами и промывки

положить с лицевой стороны экспоната полиэфирный нетканый материал Hollytex, а затем поместить экспонат между слоями плотной тонкой пластиковой сетки лицевой стороной вниз;

- смочить экспонат ферментным раствором пульверизатором сквозь сетку;
- фланелевую ткань также пропитать раствором фермента, обложить ею экспонат сверху и снизу;
- упаковать всё это в силиконовую пленку. Подойдет плотный полиэтилен;
- уложить на нагреватель с регулируемым подогревом, соблюдая все меры предосторожности работы с электрическими приборами. Мы использовали реставрационный стол с подогревом;
- оставить на обработку на выбранное время при постоянно поддерживаемой температуре 40°C;
- после обработки снять силиконовую пленку и фланель, оставив пластиковую сетку и Hollytex;
- перенести экспонат в сетке на вакуумный промывочный стол;
- хорошо промыть мягкой струей водопроводной воды, в заключение – трехкратно дистиллированной водой. На этом этапе из экспоната удален клей и рабочий раствор;
- после промывки верхнюю пластиковую сетку снять. Механически удалить старый дублировочный тюль. Перенести Знамя на рабочий реставрационный стол, на котором разложен сделанный ранее бумажный макет знамени, помещенный под прозрачную пленку;
- перевернуть Знамя лицевой стороной вверх, снять пластиковую сетку и Hollytex, фрагменты экспоната уложить и расправить в соответствии с прорисовками.

Дальнейшие реставрационные мероприятия обычны и проводятся согласно методике, утвержденной Реставрационным советом.

Примечания

1. *Денисова М. В.* Опыт реставрации баварского знамени 1812 года // ГОСНИИР: [сайт]. – URL: <http://www.gosniir.ru/library/articles/conservation/denisova.aspx> (дата обращения: 25.08.2020).

1. *Denisova M. V.* Opyt' restavracii bavarskogo znameni 1812 goda // GOSNIIR : [sajt]. – URL: <http://www.gosniir.ru/library/articles/conservation/denisova.aspx> (data obrashheniya: 25.08.2020).

Сведения об авторах

Хребтова Юлия Викторовна – ФГБНИУ «ГОСНИИР», заведующая отделом научной реставрации произведений прикладного искусства.

107014, Москва, ул. Гастелло, 44, стр. 1.

E-mail: julia_pgr@yahoo.com

Khrebtova Yuliya – The State Research Institute for Restoration,
Head of the Department of Scientific Restoration of Works of Applied Art.

44-1, Gastello St., Moscow, Russia, 107014.

E-mail: julia_pgr@yahoo.com

Научное издание

**Художественное наследие. Исследования. Реставрация. Хранение.
Art Heritage. Research. Storage. Conservation.**

Свидетельство о регистрации СМИ ЭЛ № ФС77-82901

от 14.03.2022 г.

ISSN 2782-5027

Подписано в печать 20.12.2022 г.

Федеральное государственное бюджетное
научно-исследовательское учреждение
«Государственный научно-исследовательский институт реставрации»
107014, г. Москва, ул. Гастелло, д. 44, стр. 1
e-mail: journal@gosniir.ru
Сайт: <http://www.journal-gosniir.ru/>