

Rinaldo Cubeddu  
Daniela Comelli  
Gianluca Valentini  
Lucia Toniolo  
Chiara Colombo  
Antonio Sansonetti

## La fluorescenza per immagini risolta in tempo per l'analisi di Beni Culturali

### Fluorescence Lifetime Imaging for the analysis of works of art

Le indagini diagnostiche per la conoscenza dei manufatti di interesse storico-artistico e per la definizione dello stato di conservazione costituiscono un momento fondamentale nella redazione di un progetto conservativo. Negli ultimi anni la diagnosi si è spostata sempre più a favore delle tecniche non invasive, la cui applicazione in situ permette di ridurre grandemente il numero di micro-campioni prelevati dal manufatto e sottoposti ad analisi chimica. Tale aspetto è di grande valore, in particolar modo per quelle opere di grande pregio artistico per le quali l'azione di campionamento risulta difficilmente praticabile. Tra le tecniche non invasive, un ruolo primario è tradizionalmente occupato dalla fluorescenza indotta mediante radiazione ultravioletta (UV). Infatti, se si eccita con radiazione UV una sostanza organica, essa emette una luce di fluorescenza nella regione visibile dello spettro elettromagnetico. Grazie a questa emissione è possibile visualizzare e talvolta identificare sostanze che risultano non riconoscibili in luce bianca.

I parametri che caratterizzano l'emissione fluorescente sono la lunghezza d'onda, l'intensità ed il tempo di decadimento. In anni recenti, presso i laboratori del Dipartimento di Fisica del Politecnico di Milano, è stata sviluppata una strumentazione portatile per misurare il tempo di decadimento della fluorescenza in aree estese di un campione. Tale parametro è una caratteristica delle sostanze fluorescenti e può essere messo in relazione

To plan a conservation intervention on a work of art, it is necessary to perform a careful diagnosis about the state of conservation of the artefact. To this purpose, in recent years, a great effort has been devoted to transform laboratory techniques in portable equipment for non-invasive measurements. These measurements can be easily carried out in-situ and allow one to reduce the number of micro-samples to be taken from the artefact for chemical analysis. This is especially valuable for those artworks of great value that can be hardly sampled.

Amongst non-invasive investigation techniques, UV induced fluorescence is well appreciated amongst restorers since long ago. In fact, after excitation with UV light, most organic compounds emit a well-defined fluorescence light in the visible part of the electromagnetic spectrum. On the basis of the fluorescence emission it is possible to localize and sometimes to identify substances otherwise not visible.

The parameters that characterize the fluorescence emission are the spectral shape, the intensity and the decay time. In the last years, researchers in the laboratories of the Physics Department at Politecnico di Milano developed a portable instrumentation to measure the fluorescence decay time in an extended area of a sample. This parameter is characteristic of the emitting substances and can be correlated with the materials present in the inspected area. The measurement technique, which is internationally known as Fluorescence Lifetime Imaging (FLIM) allows one to measure the spatial map of the decay time in an area typically 20-30 cm wide. The experimental apparatus is made of a) a Nitrogen laser emitting short ( $\Delta t < 1\text{ns}$ ) pulses of UV ( $\lambda = 337\text{nm}$ ) radiation; b) an intensified camera that can be gated for acquisition times of few nanoseconds; c) an electronic control unit to set the proper gate and delay; d) a computer to collect and to process the images.

The FLIM device is complemented by an Optical Spectrum Analyser (OMA) to measure the fluorescence emission spectrum in a point like area of the sample, 2 mm wide. This device is made by a Nitrogen laser source and by a fibre optic probe that delivers the excitation light and collects the fluorescence emission from the surface to be examined. The fluorescence spectrum provides further information, beside intensity and decay time, to discriminate amongst different chemical environments.

ai componenti principali presenti nell'area esaminata. La tecnica di misura, nota in campo internazionale con l'acronimo FLIM (Fluorescence Lifetime Imaging), permette di determinare la mappa spaziale del tempo di decadimento e dell'ampiezza relativa della fluorescenza in una regione superficiale del diametro di 20-30 cm.

L'apparato sperimentale si compone di:

a) una sorgente laser che emette brevi impulsi ( $\Delta t < 1$  ns) di radiazione ultravioletta ( $\lambda = 337$  nm); b) una telecamera ad elevata sensibilità che può essere attivata per intervalli di tempo molto brevi (alcuni nanosecondi); c) una unità di controllo elettronico; d) un computer per la raccolta e l'elaborazione delle immagini.

La tecnica FLIM ha come valido complemento uno strumento per la misura dello spettro di fluorescenza in un'area del diametro di circa 2 mm. Questo strumento si avvale anch'esso di una sorgente laser di luce ultravioletta, trasportata mediante fibra ottica ad una sonda in grado di raccogliere il segnale di fluorescenza e trasmetterlo ad un analizzatore ottico multicanale (OMA). La sonda può essere portata dall'operatore a contatto con la superficie da esaminare e permette di misurare lo spettro di fluorescenza del punto desiderato. Lo spettro di fluorescenza, unito all'intensità ed al tempo di decadimento, fornisce un ulteriore parametro per discriminare aree superficiali differenti. Recentemente, queste tecnologie sono state applicate alla diagnosi dello stato di conservazione di superfici di interesse storico-artistico.

L'unione delle tecniche FLIM/OMA consente di ottenere una *fotografia materica* della superficie in esame. Infatti, abbinando all'esame di fluorescenza l'analisi di laboratorio di micro-campioni opportunamente prelevati, è possibile ricostruire la distribuzione di composti di interesse sulla superficie in esame, attribuibili sia alle tecniche esecutive che ad interventi di restauro. In particolare, questo tipo di indagine si propone come uno strumento efficace e preciso per il riconoscimento e la localizzazione di sostanze di natura organica presenti sulle superfici di interesse storico-artistico, quali sostanze naturali usate tradizionalmente come leganti in pittura o in interventi di conservazione (oli, cere, grassi animali o vegetali, polisaccaridi o carboidrati derivati da gomme vegetali, proteine derivate da latte e uova, ecc.) o sostanze dovute all'inquinamento atmosferico, quali gli idrocarburi e i cosiddetti VOC (volatile organic compounds).

The combination of the techniques FLIM/OMA allows one to take a snapshot of the materials that lay down on the surface under investigation.

In fact, the fluorescence investigation can be complemented with the chemical analysis of micro-samples taken from the surface, thus leading to the maps of some organic compounds laying on the artefact due both to the action of the artist or to restoration activities.

More specifically, this technique is very effective to distinguish and localize organic compounds present on the surfaces of works of art, like natural substances traditionally used as binders in paintings or conservation treatments (oils, waxes, animal or vegetal fats, polysaccharides or carbohydrates deriving from natural gum, proteins from milk or egg) or substances deriving from environmental pollution, like hydrocarbons or VOC (volatile organic compounds). The application of the devices described in this paper represent a new methodology, which has been recently patented [1].

In the last two years, the FLIM/OMA technique has been applied to investigate the conservation status of several artworks of great artistic and historical importance.

More specifically, measurements have been performed on the fresco paintings by Masolino da Panicale in the Collegiata church in Castiglione Olona, on the fresco paintings by Filippo Lippi in Duomo di Prato and on the marble surface of the very famous David statue by Michelangelo in Florence, while the investigation of the Pietà Rondanini statue by Michelangelo in Milano is still in progress.

The analysis of the fresco paintings by Masolino da Panicale has been made to support a restoration activity very complex due to the poor conditions of the painted surface. By means of the fluorescence measurements, we could reveal several materials superimposed to the fresco surface, mainly stucco joints and glue residues, with many areas of the surface permeated by poly-vinyl acetate.

Such alterations are mainly ascribed to the restoration carried out in the '70. Moreover, the FLIM analysis allowed us to understand the technique used by Masolino to make the gilded reliefs that decorate the frescos. Particular attention has been devoted to study the halos that surround the faces of several holy characters in the paintings, representing the Histories of the Virgin. As an example, Figure 1 shows a photograph (a) of the face of the

**1a.**

Riproduzione fotografica (a) del volto del Bambin Gesù sul ciclo di affreschi raffiguranti le Storie della Vergine nella chiesa della Collegiata Castiglione Olona (VA)

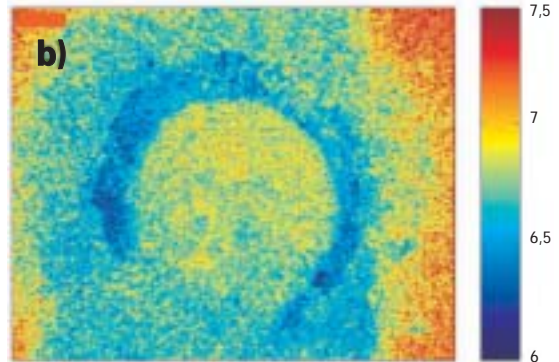
Photograph (a) of the face of Infant Jesus (Bambin Gesù) from the frescos describing the Stories of Virgin Mary in the Church of Collegiata at Castiglione Olona (Va)



**1b.**

Mappa del tempo di decadimento della fluorescenza (b); si noti l'eterogeneità dell'aureola

Fluorescence lifetime image (b). Note the heterogeneity of the aureola

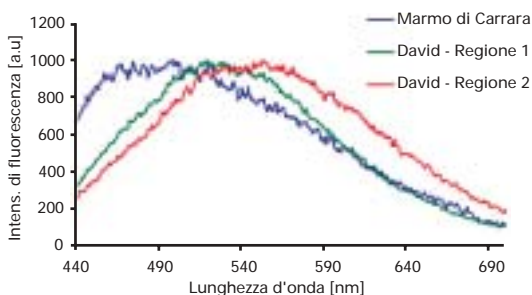


La specifica applicazione della strumentazione descritta per la diagnosi nel settore dei Beni Culturali costituisce una metodologia innovativa come è testimoniato da un recente brevetto [1]. Negli ultimi due anni sono state condotte alcune importanti esperienze di applicazione della metodica su pitture murali e sculture di elevato valore storico-artistico. In particolare, sono state effettuate misure sul ciclo di affreschi di Masolino da Panicale nella chiesa della Collegiata di Castiglione Olona, sugli affreschi di Filippo Lippi nel Duomo di Prato e sulla superficie marmorea del David di Michelangelo, mentre un'indagine sulla Pietà Rondanini di Michelangelo è tuttora in corso. Le analisi sul ciclo pittorico di Masolino da Panicale sono state effettuate a supporto di un intervento di restauro assai impegnativo a causa del precario stato di conservazione in cui versa la superficie. Tramite l'analisi in fluorescenza è stato possibile evidenziare sulla superficie affrescata estese sovrammissioni, costituite prevalentemente da stuccature e residui di colla, con ampie aree di intonaco permeate da composti vinilici. Tali alterazioni sono per lo più conseguenza del restauro effettuato negli anni '70. L'analisi FLIM ha permesso inoltre

Holy Child Jesus and the corresponding fluorescence decay time map (b). The heterogeneity of the fluorescence decay time in the halo has been ascribed to the existence of two metallic layers attached to the painted surface by means of two organic glues, whose emissions are detected by the FLIM device. A similar structure has been found in all the halos present in the fresco paintings. The investigation of Michelangelo's David has been carried out on behalf of a throughout diagnostic campaign that involved many Universities and Research Centres in Italy, to support the restoration scheduled for the 500 years anniversary of the masterpiece (2004). Forty-five FLIM maps have been collected all over the statue. The investigated areas were selected on the basis of their location, which influences the exposure to atmospheric events, and with the support of a careful visual inspection carried out under visible and UV light (Wood lamp).

It is worth noting that the surface of the statue is characterised by an unexpectedly bright fluorescence emission, much higher than the one emitted by a brand new sample of Carrara marble, which has been considered as a reference. Moreover, as it

**2.** Spettri di fluorescenza di un campione da cava di marmo di Carrara e di due regioni del David di Michelangelo rappresentative dei contaminanti presenti sulla sua superficie  
 Fluorescence spectra taken on a sample from a marble quarry of Carrara and on two regions representative of the contaminants present on Michelangelo's David surface

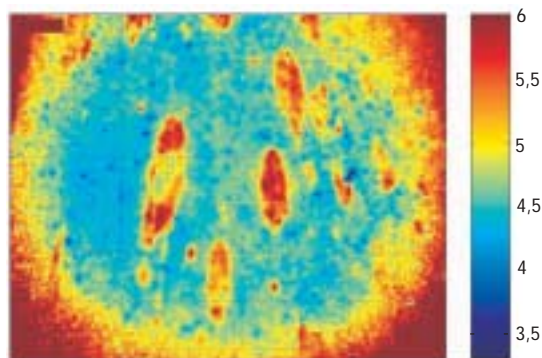


di comprendere la tecnica utilizzata da Masolino per realizzare le decorazioni a rilievo che impreziosiscono l'affresco. Particolare attenzione è stata dedicata allo studio delle aureole che circondano il volto di vari personaggi sacri del ciclo pittorico, che rappresenta le Storie della Vergine.

A titolo di esempio la Figura 1 mostra la fotografia del volto del Bambin Gesù (a) e la corrispondente mappa del tempo di decadimento della fluorescenza (b). L'eterogeneità del tempo di decadimento nella regione dell'aureola è stata attribuita all'esistenza di due fasi realizzative, costituite da due lamine metalliche collocate sulla superficie pittorica mediante due adesivi di composizione organica (missioni). Una simile struttura di fluorescenza è stata riscontrata in tutte le aureole presenti nel ciclo pittorico.

L'analisi del David di Michelangelo è stata effettuata nell'ambito di una campagna diagnostica che ha coinvolto numerosi Centri di Ricerca e Dipartimenti Universitari in occasione dell'intervento di restauro programmato per il cinquecentenario dell'opera (2004). Sono state registrate 45 immagini FLIM di varie aree della statua selezionate sia in base alla loro collocazione e orientazione, sia in base

**3.** Mappa del tempo di decadimento della fluorescenza di una regione dell'avambraccio destro del David nella quale sono evidenti delle gocce di cera che si manifestano grazie alla durata particolarmente lunga della fluorescenza  
 Fluorescence lifetime map of a region on the right forearm of David. Wax drops are clearly visible due to the noticeable long



is shown in Figure 2, the fluorescence spectrum of the Carrara sample has the peak at 480 nm, different from the emission peak of all David spectra. Such considerations strongly suggest that David marble is deeply covered and permeated by contaminants. The FLIM investigation supported by chemical analysis carried out on micro-samples gave valuable insights on surface deposits.

Figure 3 shows the decay time map of a portion of the right forearm. The circular spots clearly visible in the map are characterised by a long decay time (6 ns) and by an emission peak at 520 nm. Similar spots are present also in other regions of the statue. By means of the analysis of a micro-sample, it was possible to ascertain that they are made of wax (possibly bee wax). It is worth noting that between 1808 and 1815, a conservative treatment made of hot wax was applied to David. After about 200 years, notwithstanding several cleanings, wax is still widely present on the statue, as it has been evidenced by the FLIM measurements.

As a second example, some brown deposits with a vertical pattern are visible on the rear part of the left thigh [Figure 4a']. Regions with a similar pattern of contaminants are also present on other

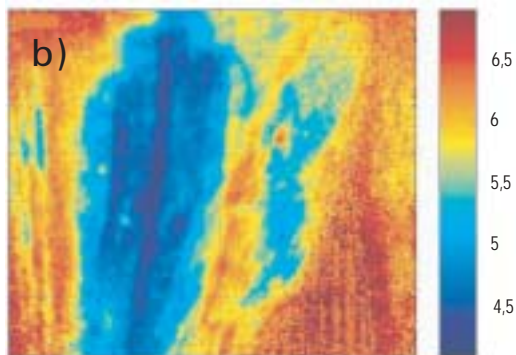


**4a.**  
Riproduzione fotografica (a) di un particolare della coscia sinistra del David sulla quale sono visibili depositi di colore bruno  
Photograph (a) of a detail on David's left thigh. Brown deposits are clearly visible



**4b.**  
Mappa del tempo di decadimento della fluorescenza (b) che mostra una durata breve della fluorescenza in corrispondenza dei depositi inorganici

Fluorescence lifetime map (b). A short fluorescence lifetime is observable in the correspondence of inorganic deposits



all'esame visivo in luce bianca e alla lampada di Wood (UV). In primo luogo è opportuno osservare che la superficie della scultura è caratterizzata da una elevata intensità di fluorescenza, nettamente superiore a quella emessa da una superficie di riferimento in marmo di Carrara da cava analizzata in laboratorio. Inoltre, come mostrato in Figura 2, lo spettro della fluorescenza del campione di marmo di Carrara mostra un picco di emissione a 480 nm, non riscontrabile in alcuno degli spettri del David. Tali considerazioni hanno permesso di stabilire che l'intera superficie è interessata da una complessa presenza di sovrammissioni e contaminanti. Sulla natura delle sovrammissioni, la tecnica FLIM, unita alle indagini di laboratorio su micro-prelievi, ha fornito indicazioni significative. La Figura 3 mostra la mappa del tempo di decadimento di una porzione dell'avambraccio destro dove sono state evidenziate delle macchie oblunghe, probabilmente gocciolature, caratterizzate da un tempo di decadimento della fluorescenza particolarmente lungo (circa 6 ns) e da uno spettro con picco a 520 nm. Residui con un simile comportamento in fluorescenza sono stati riscontrati in forma di colature anche in altre regioni della statua

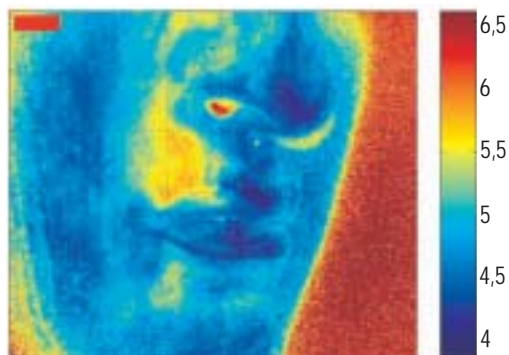
parts of the statue. These deposits are very likely a consequence of the exposition to meteorological events that lasted almost four centuries while David was in Piazza della Signoria, before the statue was housed in Galleria dell'Accademia in 1873. The FLIM maps of these regions [Figure 4b'] show a relatively short decay time (4.5 ns) as a consequence of the fluorescence quenching caused by inorganic salts, mostly oxalate. Other residues, very likely of organic nature, were found on David. In particular, on the face [Figure 5'] we detected wax deposits (under the right nostril) and a deposit of a substance not yet identified (above the lips), which shows fluorescence properties well distinguished from those of the wax. Beside the detection of contaminants, the FLIM technique was also applied to evaluate the cleaning effectiveness of different procedures tested in patches selected for the strong presence of wax or inorganic salts. The FLIM/OMA methodology for the analysis of the surface of artworks is still under development. For what concerns the experimental apparatus, a suitable engineering of the devices would allow a wider class of operators, including restores, to

e sono stati identificati come depositi di cera (probabilmente cera d'api) grazie all'analisi di micro-campioni. Si deve ricordare a questo proposito che tra il 1808 e il 1815 sul David fu effettuato un trattamento conservativo con cera stesa ad encausto. Dopo circa duecento anni e nonostante i successivi interventi di pulitura anche piuttosto invasivi, la cera è ancora largamente presente sulla statua, come testimoniato dalle mappe di fluorescenza misurate in parecchie regioni. Sul retro della coscia sinistra sono ben visibili alcuni depositi di colore ocra con andamento verticale [Figura 4a'] probabilmente derivanti dall'esposizione al dilavamento atmosferico. Aree che presentano questa tipologia di depositi sono abbastanza ricorrenti sulla statua, come conseguenza di quasi quattro secoli di esposizione alle intemperie in Piazza della Signoria, prima del ricovero della statua presso la Galleria dell'Accademia, avvenuto nel 1873. Le mappe FLIM di queste regioni [Figura 4b'] mostrano una fluorescenza con tempo di decadimento breve (4.5 ns) per la presenza di sali inorganici, in prevalenza ossalati, che smorzano l'emissione di fluorescenza, riducendone la durata.

Altri residui, probabilmente di natura organica, sono stati localizzati in varie regioni della statua; in particolare sul volto [Figura 5'] sono stati riscontrati depositi di cera (sotto la narice destra) e di un'altra sostanza non ancora identificata (sopra il labbro), con proprietà di fluorescenza che si differenziano da quelle della cera sia in tempo di decadimento che in spettro. Oltre all'indagine conoscitiva, la tecnica FLIM è stata utilizzata anche per valutare l'efficacia di differenti metodi di pulitura applicati in tasselli di prova, selezionati per la presenza di cera e di depositi inorganici. L'applicazione delle tecniche di fluorescenza FLIM e OMA all'analisi di superfici di interesse storico-artistico è ancora in fase sperimentale. Dal punto di vista strumentale è necessario prevedere un intervento di ingegnerizzazione e sviluppo dell'apparecchiatura per rendere possibile l'utilizzo della tecnica ad una gamma di operatori più ampia. Dal punto di vista diagnostico è necessario sviluppare le capacità interpretative delle immagini FLIM relative a superfici di interesse storico-artistico. Questi obiettivi di ricerca applicata vengono promossi congiuntamente da ricercatori del Politecnico e del CNR, attraverso la partecipazione a progetti di ricerca nazionali e internazionali e mediante indagini diagnostiche su manufatti di pregio.

5. Mappa del tempo di decadimento della fluorescenza di una porzione del volto del David. Si notano due diversi tipi di sovrapposizioni organiche, entrambe con durata della fluorescenza superiore alla media. La sovrapposizione sotto la natica è stata identificata come cera, grazie alle proprietà della fluorescenza. Il deposito sopra il labbro è tuttora di natura sconosciuta

Fluorescence lifetime map of a part of David's face. Two different type of organic deposits are observable, both having a fluorescence lifetime longer than the average. Due to its long fluorescence lifetime, the deposit under the nostril has been identified as wax. The nature of the deposit on the lip is still unknown



apply this technique. From the diagnostic standpoint, it would be important to further enhance the interpretation capabilities of the FLIM technique on the basis of a wider experience achieved by laboratory and field measurements. These research goals are presently pursued by researchers at Politecnico di Milano and CNR, through the participation in national and international research projects and through further investigations on valuable works of arts.

#### BIBLIOGRAFIA / BIBLIOGRAPHY

- [1]  
R. Cubeddu, G. Valentini, P. Taroni, D. Comelli, L. Toniolo -  
Analisi di opere d'arte  
mediante l'utilizzo della spettroscopia di fluorescenza per immagini, Brevetto Italiano n. MI2002A001361 (2002); estensione europea in corso