MICHELA MONTE SILA, MARIA STELLA SCAVIZZI

RICERCA DEI SOLFOBATTERI NEGLI INTONACI DEI DIPINTI MURALI

1. - INTRODUZIONE

Nella solfatazione dei materiali calcarei, la formazione di solfati ha origine da reazioni catalitiche dell'SO₂ atmosferica ^{1) 2)} e da reazioni enzimatiche di varie sostanze solforate sotto forma ridotta o parzialmente ridotta. ³⁾ Questi enzimi specifici sono prodotti di crescita di solfobatteri ossidanti del genere Thiobacillus che, essendo microrganismi chemioautotrofi, possono svilupparsi in presenza di sole sostanze inorganiche. ^{4) 5)}

Gli intonaci dei dipinti murali della Cappella degli Scrovegni, di natura essenzialmente inorganica, rappresentano un substrato adatto a un possibile attec-

chimento di questi microrganismi.

Questa considerazione e la presenza di solfati negli affreschi della Cappella, rilevata a seguito delle analisi chimiche eseguite nei laboratori dell'Istituto Centrale del Restauro, ⁶⁾ hanno reso necessario ricercare una eventuale presenza di Thiobacilli e, parallelamente, per comprenderne i meccanismi di sviluppo, anche di batteri solforiducenti.

2. - PARTE SPERIMENTALE E RISULTATI

Microrganismi ricercati

- a) Solfobatteri ossidanti del genere Thiobacillus.
- b) Solfobatteri riducenti (riduttori dei solfati e dello zolfo organico).

Analisi dei campioni prelevati

I g di materiale, prelevato con bisturi sterile e polverizzato in mortaio, è sospeso in soluzione fisiologica in rapporto di 1/10. Da questa sospensione, agitata con agitatore magnetico, si preparano sospensioni diluendo fino a 1:106.

Da ciascuna sospensione viene fatta la semina in

triplo nei terreni di coltura.

Terreni di coltura

a) Per i solfoossidanti: è stato usato il terreno S_{ox}: K₂HPO₄ 0,25 g; MgCl₂ 0,1 g; NaCl 0,1 g; NH₄NO₃2 g; CaCO₃5 g; H₂O 1000 cc; pH 6,2.

Questo terreno è distribuito in provette in ragione

Questo terreno è distribuito in provette in ragione di 7 cc per provetta. In ogni provetta, dopo la semina, vengono aggiunti 50 mg di zolfo elementare sterilizzato.

b) per i solforiducenti è stato usato il terreno S_r: K₂HPO₄ 0,5 g; NH₄Cl 1 g; Na₂SO₄ 1 g; CaCl₂ 0,1 g; MgSO₄·7H₂O 2 g; Na·lattato al 70 % 5 cc; H₂O dist. 1000 cc, pH 7,3. Questo terreno è distribuito in provette in ragione di 10 cc per provetta. In ogni provetta si aggiunge sterilmente: sale di Mhor 1 micromole/cc.; cisteina HCl 5 micromoli/cc.

Durata e temperatura di incubazione

Le colture sono state incubate a 30° C, e sono state analizzate dopo 1 e 3 mesi di incubazione. Per i batteri solforiducenti l'incubazione è stata effettuata in anaerobiosi.

Valutazione dei risultati

La positività della coltura per i batteri solfoossidanti è valutata in base al cambiamento di pH, alla torbidità, alla presenza di solfati rilevata con BaCl₂ all'1 % a pH acido.

Le positività delle colture per i batteri solforiducenti è data dalla torbidità e dalla formazione di precipitato di solfuro di ferro macroscopicamente os-

servabile.

Il numero di microrganismi per grammo di campione è calcolato secondo il metodo statistico Mc Crady.

Zone di prelievo

I campioni prelevati possono essere così raggruppati:

I) campioni prelevati in una zona prossima alla porta di ingresso, a diverse altezze di una verticale, in corrispondenza delle fasce bianche a sinistra deiseguenti riquadri, a partire dal basso verso l'alto:

| 'Invidia' | | campione | n. | I |
|--------------------|-------|----------|----------|---|
| 'Crocefissione' | | » | * | 2 |
| 'Battesimo di | Gesù' | » | » | 3 |
| ' Presentazione di | | | | |
| al Tempio'. | | » | * | 4 |

2) campoini prelevati in una zona lontana dalla porta d'ingresso, dagli affreschi situati a sinistra (guardando l'abside) della arcata che immette nell'abside, in corrispondenza delle fasce bianche a destra dei seguenti riquadri:

I riquadro dal basso campione n. 5
II riquadro dal basso » » 6
III riquadro 'Giuda riceve il prezzo del tradimento' . . . » » 7

- 3) polvere depositata sullo strombo della II finestra – a partire dall'entrata – della parete destra campione n. 8
- 4) polvere depositata sulla parte superiore di una scultura in marmo della tribuna campione n. 9
- 5) campioni prelevati all'esterno, sulla parete sinistra della Cappella, in corrispondenza del 1º scomparto:
 - mattone da o a 3 mm di profondità campione n. 10
 - mattone da 3 mm a 1 cm di profondità campione n. 11
 - intonaco da o a 3 mm di profondità campione n. 12
 - intonaco da 3 mm a 1 cm di profondità campione n. 13

I risultati relativi alle analisi colturali sono riassunti nella tabella.

I risultati avuti mostrano assenza di batteri solforiducenti; in un solo caso è stata riscontrata la loro presenza, che tuttavia è numericamente irrilevante.

I batteri solfoossidanti sono sempre presenti, con valori numerici variabili dopo un mese e dopo tre mesi di incubazione; la loro distribuzione non è omogenea, variando come segue:

- nell'interno della Cappella il numero di batteri è sempre più alto nelle zone prossime alla porta di ingresso, sia sugli affreschi sia sulla polvere.

A questi valori fa eccezione il campione n. 1, la cui discontinuità si può attribuire a particolarità non rilevate;

- alle variazioni di altezza del prelievo non fanno riscontro variazioni del numero di batteri;
- all'esterno, il numero dei batteri solfoossidanti risulta sempre maggiore nei campioni prelevati in superficie (0-3 mm) rispetto a quelli prelevati più in profondità (3 mm-1 cm) e nei campioni di intonaco rispetto ai campioni di mattone.

Queste conclusioni sono in accordo con i risultati delle misure relative sia alla distribuzione dei solfati sulle pareti, sia alle condizioni termoigrometriche dell'ambiente. ^{6) 7)}

TABELLA

Numero di batteri per grammo di campione dopo incubazione a 30 °C

| 4 | Cam- pioni | Solfoossidanti dopo i mese di incubazione | Solfoossidanti dopo 3 mesi di incubazione | | Cam- pioni | Solforiducenti dopo i mese di incubazione | Solforiducenti dopo 3 mesi di incubazione |
|---|---------------|---|---|---|---------------|---|---|
| Interno della Cappella: | | | | Interno della Cappella: | | | |
| zone affrescate pros- | I | 95 | 450.000 | zone affrescate pros- | I | 0 | 0 |
| sime alla porta di | 2 | 450,000 | 1.100.000 | sime alla porta di | 2 | 0 | 0 |
| ingresso | 3 | 110,000 | 1.400.000 | ingresso { | 3 | 0 | 0 |
| | 4 | 450,000 | 1.400.000 | | 4 | 0 | 0 |
| zone affrescate lon- tane dalla porta | 5 | 95 | 450,000 | zone affrescate lon- tane dalla porta di | 5 | 0 | o |
| di ingresso { | 6 | 25 | 450.000 | ingresso { | 6 | 0 | 0 |
| | 7 | 45 | 250,000 | | 7 | 0 | 0 |
| polvere depositata in una zona prossi- ma alla porta di ingresso | 8 | 1.100.000 | 1,400,000 | polvere depositata in una zona prossi- ma alla porta di ingresso | 8 | 0 | 0 |
| polvere depositata in una zona lontana dalla porta di in- gresso | 9 | 1,100 | 20,000 | polvere depositata in una zona lontana dalla porta di in- gresso | 9 | 7 | 7 |
| Esterno della Cappella: | | | | Esterno della Cappella: | | | / Mis x |
| mattone o-3 mm . | 10 | 14.000 | 300,000 | mattone o-3 mm . | 10 | 0 | 0 |
| mattone 3 mm-1 cm | II | 45 | 7.500 | mattone 3 mm-1 cm | II | 0 | 0 |
| intonaco o-3 mm . intonaco 3 mm-1 | 12 | 1.100 | 1,400,000 | intonaco o-3 mm . intonaco 3 mm-1 | 12 | 0 | 0 |
| cm | 13 | 1.100 | 11,000 | cm · · · · · | 13 | 0 | 0 |

3. - Conclusioni

I risultati avuti mostrano presenza costante di solfobatteri ossidanti, il cui valore numerico varia da un mese a tre mesi di incubazione delle colture, pur restando inalterata la loro distribuzione. Questi risultati si possono spiegare ammettendo che i Thiobacilli, abbastanza diffusi sulla superficie degli intonaci, si trovino in uno stato più o meno vitale, cosicché dopo un mese si ha sviluppo di quelli che sul supporto sono in stato attivo e, con tempi più lunghi di incubazione, si riattivano quei batteri che si trovano in stato di quiescenza o di latenza metabolica. Questa interpretazione è convalidata dalle prove in corso nel nostro laboratorio, che mostrano una lunga sopravvivenza di questa microflora senza svolgimento di attività metabolica.

L'assenza dei solfobatteri riducenti concorda con i risultati di tutte le analisi da noi effettuate per

precedenti lavori. 4) 5)

Questi rilevamenti pongono il problema di ricercare le eventuali sostanze solforate, ridotte o parzialmente ridotte, che i solfobatteri ossidanti possono utilizzare per ricavare l'energia di organicazione.

Infatti i risultati avuti finora sono abbastanza numerosi da fare abbandonare, per l'assenza dei batteri

solforiducenti, questa via ipotetica:

Chiarire questo problema è ormai fondamentale per stabilire la patogenità dei solfobatteri ossidanti per i substrati che abbiamo finora analizzato. Sommario. – Sugli intonaci dei dipinti murali della Cappella degli Scrovegni è stata riscontrata la presenza di solfobatteri ossidanti in numero variabile da zona a zona. I risultati, rilevati dopo un mese e dopo tre mesi di incubazione delle colture, sono omogenei sia alla distribuzione dei solfati sulle pareti, sia alle condizioni termoigrometriche dell'ambiente.

I solfobatteri riducenti risultano assenti.

Summary. - On the plasters of the mural paintings in the Scrovegni Chapel, we ascertained the presence of sulphur-oxidizing bacteria in quantities varying from zone to zone. The results obtained after incubations of one and three months of the cultures, are homogeneous both in relation with the distribution of sulphates on the walls, and the thermohygrometric data of the environment.

Sulphur-reducing bacteria were found to be absent.

1) M. Serra, G. Starace, Un metodo radiochimico per lo studio dell'ossidazione dell'anidride solforosa, in Atti del Congresso Internazionale sui Metodi Nucleari Applicati nel Campo delle Opere d'Arte, Roma-Venezia 1973, pp. 629-635.

²⁾ M. Serra, G. Starace, Study of reaction between gaseous sulphur dioxide and calcium carbonate, in Atti dell'International Symposium on Deterioration and Protection of Stone Monuments, UNESCO-RILEM, Parigi, 5-9 giugno 1978.

3) I.H. ALEEM, Biochemical reaction mechanisms in sulphur oxidation by chemiosynthetic bacteria, Plant and Soil, 43,

1975, pp. 587-607.

4) L. BARCELLONA VERO, M. MONTE SILA, Influenza delle condizioni stagionali sullo sviluppo dei solfobatteri nei monumenti esposti all'aperto, in Atti XXIX Congresso Nazionale A.T.I., Firenze, 24–27 settembre 1974, Prestampe, 1974, pp. 214–217.

5) L. BARCELLONA VERO, M. MONTE SILA, Mise in evidence de l'activité des Thiobacilles dans les alterations des pierres à Rome. Identification de certaines sources, in Atti dell'International Symposium on Deterioration and Protection of Stone Monuments, UNESCO-RILEM, Parigi, 5-9 giugno 1978.

6) Relazione di D. Artioli, M. Marabelli, C. Meucci,

pubblicata in questo volume.

7) Relazioni di G. Accardo, D. Camuffo, P. Schenal, pubblicate in questo volume.