FORUM 2026 / roč. XVI / č. 2

PRO KONZERVÁTORY-RESTAURÁTORY
FORUM FOR CONSERVATORS-RESTORERS

2026 / Vol. XVI / No. 2
Peer-reviewed open access journal

Chief editor: Ing. Alena Selucká
Editors: Mgr. Pavla Stöhrová, Mgr. Jana Fricová

Editorial Board:
Ing. Ivo Štěpánek (Head of Editorial Board)
doc. Mgr. art. Jakub Ďoubal, Ph.D.
prof. Dr. Ing. Michal Ďurovič
akad. mal. Igor Fogaš
Ing. Pavel Jirásek
Ing. Jan Josef
doc. akad. soch. Petr Kuthan
Ing. Radka Šefců, Ph.D
Mgr. Pavla Stöhrová (Secretary)

Open acces since 2019 available for free
on https://mck.technicalmuseum.cz/casopis-fkr/
The journal is indexed and abstracted in EBSCO.

Published by:
Technické muzeum v Brně
Purkyňova 105, 612 00 Brno, Czech Republic

Contact for communication:
fricova@tmbrno.cz / stohrova@tmbrno.cz / selucka@tmbrno.cz

© Technické muzeum v Brně, 2026
ISSN (Online) 2571-4384
ISSN (Print) 1805-0050

DOI 10.61574/FKR.2026.2.032

TECHNICKÉ MUZEUM V BRNĚ

METODICKÉ CENTRUM KONZERVACE

VYUŽITÍ DESULFURIKAČNÍCH BAKTERIÍ PŘI ODSTRAŇOVÁNÍ MODELOVÝCH SÁDROVCOVÝCH KRUST Z KAMENE

Stella Burkhardtová[1] · Petra Lesniaková[2] Květa Koryčanová[3]

[1] Univerzita Pardubice, Fakulta restaurování, Ateliér restaurování sochařských děl z kamene a souvisejících materiálů
[2] Univerzita Pardubice, Fakulta restaurování, Katedra chemické technologie
[3] Univerzita Pardubice, Fakulta chemicko-technologická, Katedra biologických a biochemických věd

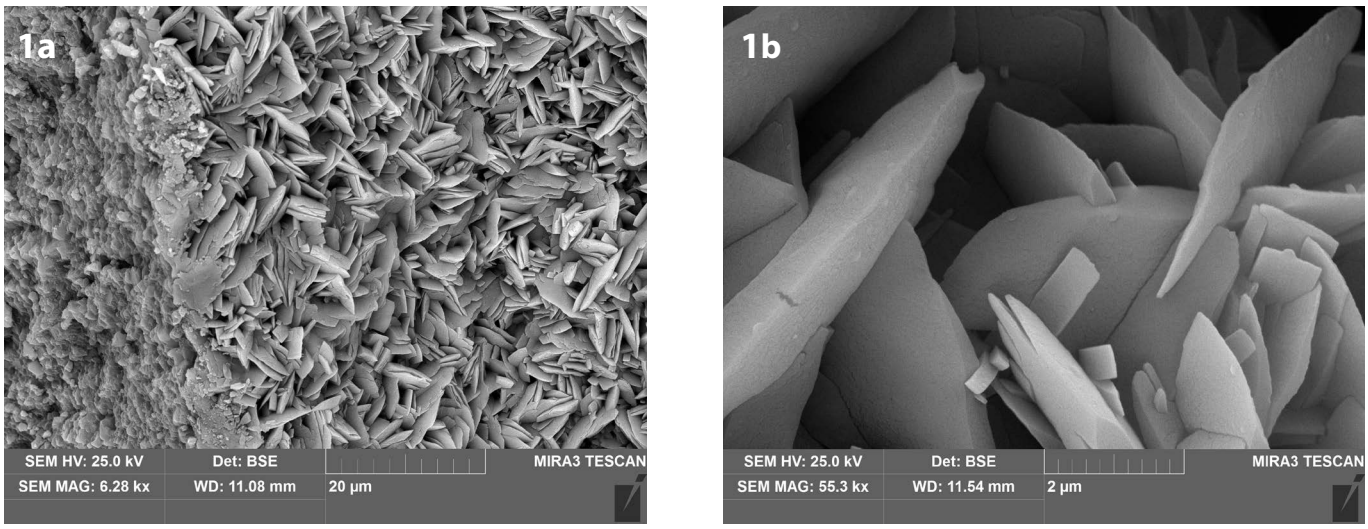
Stella Burkhardtová absolvovala v roce 2023 magisterské studium v Ateliéru restaurování sochařských děl z kamene a souvisejících materiálů na Fakultě restaurování Univerzity Pardubice. V současnosti se zaměřuje především na restaurování sochařských a architektonických objektů v Praze a Středočeském kraji. (sburkhardtova@seznam.cz)

Studie se zabývá odstraňováním tmavých sádrovcových krust z kamenosochařských děl s využitím desulfurikačních bakterií *Desulfovibrio vulgaris*. Sádrovcové krusty představují významný degradační i estetický problém a jejich odstraňování bývá spojeno s rizikem poškození díla. Biologické čištění nabízí alternativní přístup ke konvenčním metodám založený na schopnosti bakterií redukovat sírany a narušovat tak strukturu sádrovcové vrstvy. Studie má pilotní charakter, protože metoda dosud nebyla systematicky ověřena v českém prostředí. Cílem bylo vytvořit reprodukovatelný experimentální model a ověřit účinnost bakteriálního systému aplikovaného v gelovém médiu při odstraňování uměle připravené sádrovcové krusty na podkladu z vápence. Účinnost byla na modelových vzorcích hodnocena vizuálně, pomocí fotografické dokumentace, optické mikroskopie a skenovací elektronové mikroskopie s energiově-disperzní rentgenovou spektroskopií (SEM-EDX). Výsledky prokázaly úbytek sádrovcové vrstvy po aplikaci bakteriálního systému, zatímco kontrolní vzorky vykazovaly minimální změny. Studie otevírá téma biologického čištění sádrovcových krust a současně identifikuje klíčové faktory jeho praktické aplikace.
Klíčová slova: Desulfovibrio vulgaris, biologické čištění kamene, desulfurikační bakterie, umělá sádrovcová krusta, Carbogel, vápenec

REMOVAL OF MODEL GYPSUM CRUSTS FROM STONE USING SULFATE-REDUCING BACTERIA

The study explores the potential of the sulfate-reducing bacteria *Desulfovibrio vulgaris* for the removal of dark gypsum crusts from stone sculptural works. Gypsum crusts represent a significant degradation and aesthetic problem, and their removal is often associated with the risk of damaging the artwork. Biological cleaning offers an alternative approach to conventional methods, based on the ability of bacteria to reduce sulfates and thereby disrupt the structure of the gypsum layer.
This work is a pilot study, as the method has not yet been tested in the Czech context. The aim was to develop a reproducible experimental model and to evaluate the effectiveness of the bacterial system applied in a gel medium for the removal of an artificially prepared gypsum crust on a limestone substrate. The effectiveness of the cleaning was assessed on model samples visually, using photographic documentation, light microscopy, and scanning electron microscopy with energy-dispersive X-ray spectroscopy (SEM-EDX). The results demonstrated a reduction in the gypsum layer following application of the bacterial system, whereas the control samples showed minimal changes. The study highlights the potential of biological cleaning of black crusts and identifies key factors for its practical application.
Keywords: Desulfovibrio vulgaris, stone biocleaning, sulfate-reducing bacteria, artificial gypsum crust, Carbogel, limestone

Čištění je nezbytnou součástí téměř každého restaurátorského zásahu. U kamenosochařských děl čištění velmi často směřuje k redukci tmavých sádrovcových krust, které na povrchu vznikají vlivem znečištěné atmosféry. Tyto vrstvy jsou tvořeny převážně sádrovcem (dihydrát síranu vápenatého, $CaSO_4 \cdot 2H_2O$), vznikajícím sulfatizací karbonátových materiálů působením oxidů síry (obr. 1) [Ranalli – Zanardini, 2021, s. 587].
Sádrovcové krusty se typicky vytvářejí na karbonátových horninách, zejména vápencích a mramorech, mohou však vznikat i na nekarbonátových substrátech, např. pískovcích. V těchto případech vznikají depozicí sekundárních síranů nebo reakcí s produkty předchozích restaurátorských zásahů na bázi vápna či cementu [Bayer, 2006; Halsey a kol., 1996; Marszalek a kol., 2014]. Porézní struktura krust podporuje zachycování atmosférických nečistot, což vede ke vzniku esteticky i materiálově problematických šedých až černých vrstev (obr. 2) [Moropoulou a kol., 1998; Saheb a kol., 2016].
Odstraňování sádrovcových krust představuje jeden z nejrizikovějších kroků restaurátorského zásahu. Jde o nevratný proces, který může změnit materiálovou podstatu, vizuální stránku a fyzikální vlastnosti kamene. Krusty mění barevnost díla a čitelnost modelace, mají odlišnou teplotní či vlhkostní roztažnost, uzavírají povrch horniny a snižují její paropropustnost i nasákavost. Jejich přítomnost je riziková zejména při výskytu vodorozpustných solí, které se pod neprodyšným povrchem kumulují a opakovanou rekrystalizací způsobují dezintegraci kamene. V neposlední řadě se k jejich odstranění přistupuje z důvodu zvýšení efektivity následujících restaurátorských kroků (konsolidace, hydrofobizace).
Volba metody čištění musí vycházet z materiálové podstaty objektu, hodnot díla a cílů restaurátorského zásahu. Celkové čištění by mělo být realizováno na základě zkoušek různých postupů. Klíčovými parametry zvoleného procesu jsou selektivita, kontrolovatelnost, minimalizace reziduí a dlouhodobý vliv na stabilitu materiálu [Kolář, 2016, s. 22–24].
Metody redukce sádrovcových krust lze rozdělit na fyzikální a chemické. Mezi fyzikální postupy se řadí mechanické kartáčování, omývání vodou, čištění párou nebo suché i mokré mikroabrazivní metody, přičemž další využívanou alternativu představuje laser. Pokud se volí chemické čištění, využívají se zejména vodné roztoky uhličitanu a hydrogenuhličitanu amonného, iontoměniče nebo chelatační činidla, například kyselina ethylendiamintetraoctová (EDTA) či citronová a jejich soli [Burkhardtová, 2023, s. 109, 110; Potgieter-Vermaak a kol., 2005, s. 2460, 2461].
Optimální postup čištění v praxi často spočívá v kombinaci několika výše uvedených metod, protože každá z nich bývá spojena s určitými limity. Chemické metody například nesou riziko zanechání reziduí a často vyžadují aplikaci látek s výrazně kyselým či alkalickým pH, které představují potenciální nebezpečí pro památku i restaurátora. Mokré procesy mohou způsobit nadměrné



Obr. 1 *Detail sádrovcové krusty s charakteristickými krystaly sádrovce při dvou zvětšeních: (a) menší zvětšení, b) větší zvětšení, skenovací elektronová mikroskopie (SEM-BSE). Fotografie: P. Lesniaková / Detail of the gypsum crust with characteristic gypsum crystals at two different magnifications: (a) lower magnification, b) higher magnification, scanning electron microscopy (SEM-BSE). Photo by P. Lesniaková*

zavlhčení vedoucí k rozpouštění, vyplavení materiálů a transportu solí. Obecně při čištění do určité míry hrozí poškození povrchu objektu a vznik nehomogenních výsledků [Kotlík, 1999, s. 87, 88; Pozo-Antonio a kol., 2016].

Za velice šetrnou a dobře kontrolovatelnou metodu je považováno laserové čištění; jeho širší využití je však limitováno technologickou a finanční náročností [Salimbeni a kol., 2003]. Zákrok může vést ke žloutnutí povrchu kamene [Berthonneau a kol., 2019; Gioventù – Lorenzi, 2013, s. 28; Mrověc, 2017, s. 136–139].

Limity konvenčních metod vytvářejí prostor pro hledání alternativních přístupů. Inovativní možnosti obecně představuje biologické čištění, při kterém se využívají buď živé mikroorganismy, nebo produkty jejich látkové výměny (enzymy) [Pyzik a kol., 2021, s. 8; Soffritti a kol., 2019]. Z živých mikroorganismů se uplatňují zejména desulfurikační, denitrifikační a organické látky degradující bakterie [Chandra a kol., 2020; Pyzik a kol., 2021, s. 8, 9; Ranalli – Zanardini, 2021, s. 589–591]. Podle zahraniční literatury lze pomocí desulfurikačních bakterií úspěšně odstraňovat sádrovcové

Obr. 2 *Příklad kamenosochařského díla (část vápencové sochy) lokálně pokrytého tmavou sádrovcovou krustou. Fotografie: S. Burkhardtová / Example of a stone sculpture (part of a limestone statue) locally covered with a black gypsum crust. Photo by S. Burkhardtová*

krusty z povrchu kamenosochařských děl [Martino a kol., 2022; Ortega-Morales – Gaylarde, 2021]. Tento fenomén je zkoumán přibližně od 70. let 20. století [Ranalli – Zanardini, 2021, s. 587]. K tomuto účelu se využívá zejména aerotolerantní druh desulfurikačních bakterií *Desulfovibrio vulgaris subsp. vulgaris* [Cappitelli a kol., 2006, s. 3733; Gioventù – Lorenzi, 2013, s. 28; Lombardi, 2013/2014, s. 59; Pyzik a kol., 2021, s. 8; Ranalli – Zanardini, 2021]. Desulfurikační bakterie jsou schopny odstraňovat sádrovcové krusty, aniž by docházelo k poškození podkladového materiálu. Představují velmi šetrnou variantu čištění, jejíž mechanismus je založen na biologické desulfataci (redukci síranů) v podobě postupného rozkladu sádrovce až na sulfan (H_2S) a vápenaté kationty (Ca^{2+}). Jejich následnou reakcí s oxidem uhličitým ze vzduchu (CO_2) vzniká uhličitan vápenatý ($CaCO_3$), čímž se povrch karbonátových hornin přirozeně regeneruje [Ranalli – Zanardini, 2021, s. 587]. Biologické čištění se vyznačuje nejen vysokou selektivitou, ale také dobrou kontrolovatelností, homogenitou a inertností k substrátu bez zanechání škodlivých reziduí. Dalšími výhodami jsou možnost opětovného zpevnění povrchu karbonátových hornin na základě popsaného mechanismu a snadná aplikace na členité povrchy včetně hloubek reliéfu [Soffritti a kol., 2019, s. 6].

Přestože byla účinnost bakteriálního čištění v restaurování již experimentálně ověřena, širší zavedení do praxe stále vyžaduje laboratorní i praktické testování. V českém prostředí s touto metodou dosud nejsou žádné zkušenosti. Důvodem mohou být nevýhody spjaté s vysokou citlivostí metody na podmínky při kultivaci i aplikaci (obsah kyslíku, teplota, pH a relativní vlhkost prostředí). Problematická je také vyšší časová náročnost oproti tradičním postupům [Cappitelli a kol., 2007; Gioventù a kol., 2011; Troiano a kol., 2013]. Příprava a kultivace bakteriální suspenze navíc představuje metodicky náročný proces, který vyžaduje specifické laboratorní zázemí a interdisciplinární spolupráci s mikrobiology.

Klíčovým aspektem kultivace desulfurikačních bakterií je prevence tvorby černého sulfidu železnatého (FeS). Jednu z možností zamezení tohoto jevu při použití vyživovacího roztoku s obsahem síranů představuje filtrace, neboť sulfid železnatý vzniká jako vedlejší produkt bakteriálního metabolismu [Cappitelli a kol., 2006, s. 3734].

Aplikační metody bakteriálních systémů prošly postupným vývojem [Bosch-Roig a kol., 2015]. Nejprve byly bakterie aplikovány ponorem [Gauri, 1992], později v zábalech z drcené celulózy nebo Laponitu [Ranalli a kol., 1997; Ranalli – Zanardini, 2021, s. 585] a v gelech jako Hydrobiogel-97, Vanzan či deriváty celulózy [Ranalli a kol., 2000; Troiano a kol., 2013]. Podle dosavadních poznatků je jednou z nejvhodnějších metod aplikace v gelu *Carbogel* [Alfano a kol., 2011; Cappitelli a kol., 2007; Martino a kol., 2015; Polo a kol., 2010]. *Carbogel* je sypká gelotvorná látka na bázi neutralizované kyseliny polyakrylové.

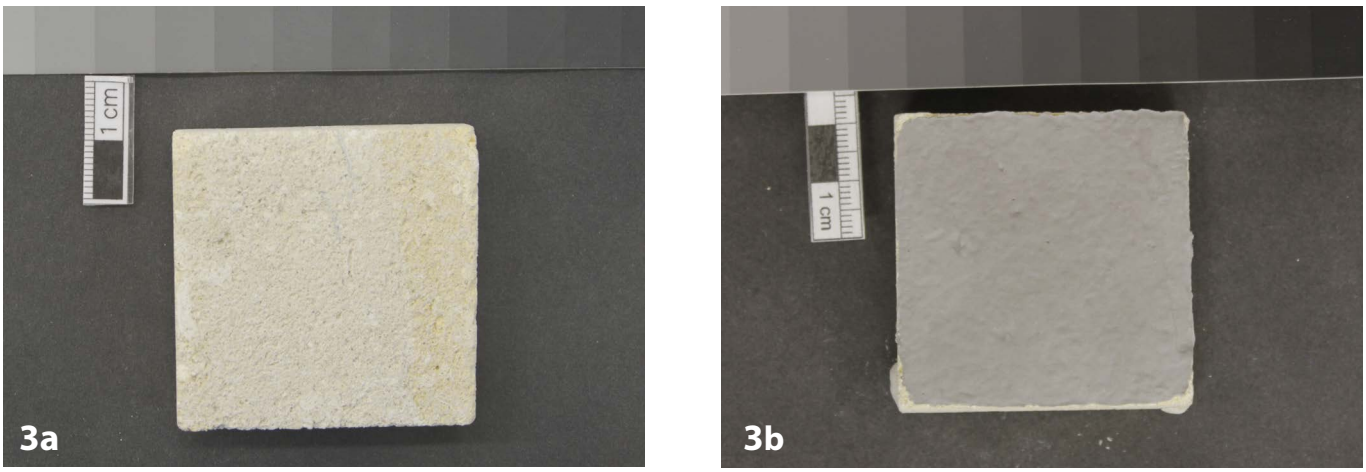
Aplikace obvykle vyžaduje více cyklů a při odstraňování silnějších vrstev [Elhagrassy – Hamad, 2018] je zpravidla nezbytná kombinace s dalšími metodami čištění [Bosch-Roig a kol., 2015; Troiano a kol., 2013]. Dosud publikované studie se zabývaly především čištěním objektů s přirozenou sádrovcovou krustou či jejich fragmentů [Alfano a kol., 2011; Gioventù a kol., 2011; Martino a kol., 2015; May a kol., 2008; Polo a kol., 2010]. Experimentální studie biologického čištění na standardizovaných modelových vzorcích s uměle připravenou sádrovcovou krustou však nebyla dosud zřejmě publikována. Použití modelových vzorků v této fázi výzkumu umožňuje kontrolovanější sledování základních procesů a reprodukovatelnosti aplikace, identifikaci faktorů ovlivňujících účinnost systému i jeho možností před případným ověřením na reálných objektech nebo také systematické srovnání výsledků čištění s jinými metodami. Předkládaný pilotní výzkum se proto zaměřuje na experimentální ověření možnosti využití desulfurikačních bakterií druhu *Desulfovibrio vulgaris subsp. vulgaris* v gelu *Carbogel* při odstraňování uměle připravené sádrovcové krusty na podkladu z vápence.

Předkládaná studie je koncipována jako pilotní metodicky orientovaný výzkum zaměřený především na předběžné ověření funkčnosti bakteriálního systému, kultivaci a aplikační metodiky při odstraňování modelových sádrovcových krust. Cílem práce není statistické hodnocení účinnosti čištění, ale identifikace klíčových faktorů a metodických úskalí důležitých pro případný navazující systematický výzkum či rozvoj této technologie v podmínkách restaurátorské praxe.

EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

Příprava zkušebních vzorků

Zkušební vzorky (obr. 3) byly připraveny nanesením sádrové suspenze (*Almond LC, Saint-Gobain Formula*) se sazovou černí (*Furnace Black, Kremer Pigmente GmbH & Co. KG*) na podložky z organodetritického vápence (lokalita Pińczów, Polsko) o rozměrech 5 × 5 × 1,5 cm. Celkem bylo připraveno deset vzorků. Počet vzorků odpovídal pilotnímu charakteru experimentu, jehož cílem byla zejména kultivace bakteriálního systému, ověření jeho funkčnosti a základních aplikačních parametrů. Sazová čerň byla do suspenze přidána za účelem vizuálního a materiálového přiblížení modelové vrstvy reálným sádrovcovým krustám. Šedé zabarvení zároveň umožnilo snazší optické hodnocení změn po čištění ve srovnání s čistě bílou sádrovou vrstvou, která by vznikla bez použití pigmentu. Příprava modelových krust vycházela z předběžných



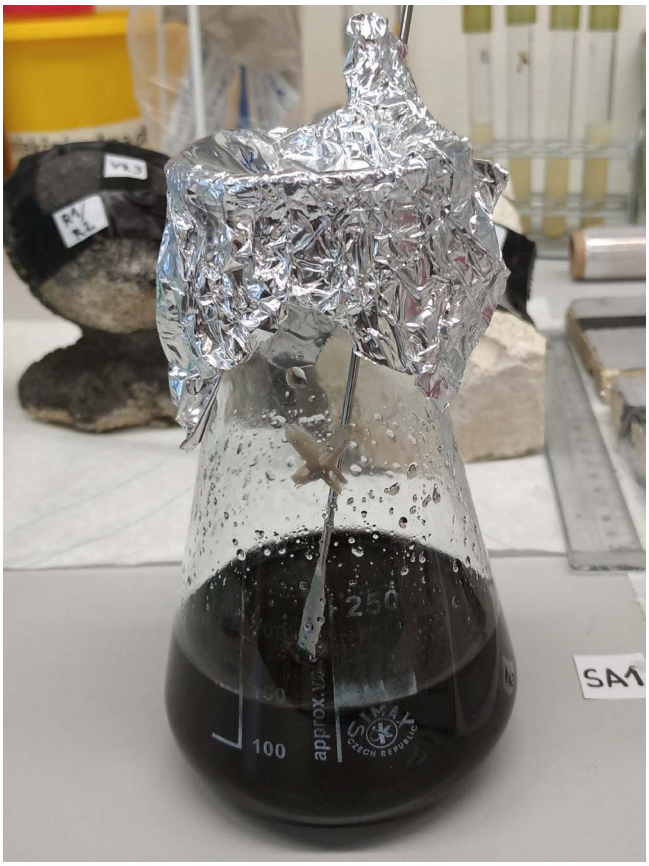
Obr. 3 *Ukázka modelových vzorků (5 × 5 × 1,5 cm) pro testování bakteriálního čištění: a) podložka z vápence; b) vzorek vápence s umělou sádrovcovou krustou (sádra, černý pigment). Fotografie: P. Lesniaková / Example of model samples (5 × 5 × 1,5 cm) with artificial crusts for testing bacterial cleaning: a) limestone substrate; b) limestone sample with an artificial gypsum crust (gypsum, black pigment). Photo by P. Lesniaková*

experimentů a odborné literatury [Burkhardtová, 2023, s. 121–138]. V průběhu předběžných testů byly ověřovány různé varianty přípravy krusty (způsob nanášení, poměry složek, doba aplikace). Aplikační plochy byly vymezeny ohraničením podložek plastickou hmotou po jejich obvodu, přičemž jejich vodorovná poloha byla kontrolována vodováhou. Při přípravě suspenze byly nejprve homogenizovány suché složky (sádra a sazová čerň) a přesáty přes jemné síto. Obsah sazové černi v suché směsi činil 1 hm. %. Do kádinek bylo pro každý vzorek vždy naváženo 60 g demineralizované vody, do níž bylo postupně přisypáváno 10 g suché směsi. Po jedné minutě intenzivního míchání byla suspenze nalita na podložku. Uvedený postup se ukázal jako nejvhodnější z hlediska reprodukovatelnosti a homogenity vrstvy. Na každém vzorku byla před aplikací vytvořena referenční plocha zakrytím části s šířkou cca 20 mm povrchu lepicí páskou. Jeden vzorek byl ponechán bez aplikace jako kontrolní.

Příprava bakteriálního systému a jeho aplikace

Kultivace čisté kultury *Desulfovibrio vulgaris subsp. vulgaris* DSM 644 (3 × 0,6 ml alikvot zamražený na −80 °C) byla zahájena sterilním přenosem 0,5 ml alikvotu do 14,5 ml kultivačního média *Sulphate Reducing Medium* (*Himedia*). Následně bylo 5 ml vzniklé suspenze převedeno do 45 ml čerstvého média (celkový objem 50 ml) a kultivace pokračovala dalších 7 dní za stejných podmínek. Zkumavky byly plněny na maximální objem, aby se eliminovalo množství kyslíku.

Po druhém cyklu byl pozorován nárůst kultury doprovázený černáním původně žlutého kultivátu. Tato změna barevnosti je způsobena přítomností tmavého sulfidu železnatého (FeS), který vzniká bioredukcí síranu železnatého ($FeSO_4$) z kultivačního média. Sirovodík zároveň způsobuje intenzivnější zápach bakteriálního kultivátu. Podle literárních údajů je černé zbarvení suspenze nežádoucí, neboť může vést ke ztmavnutí čištěného povrchu.



Obr. 4 *Nefiltrovaný bakteriální kultivát Desulfovibrio vulgaris subsp. vulgaris DSM 644 před použitím. Fotografie: P. Lesniaková / Unfiltered bacterial culture of Desulfovibrio vulgaris subsp. vulgaris DSM 644 prior to use. Photo by P. Lesniaková*

Nefiltrovaný kultivát (obr. 4) byl přesto použit v počátečních testech za účelem ověření jeho funkčnosti. Aktivita bakterií byla průběžně kontrolována mikroskopicky.

Aplikace probíhaly v gelu *Carbogel* (*CTS*) na bázi neutralizované kyseliny polyakrylové. Pět vzorků bylo ošetřeno nefiltrovaným bakteriálním systémem v gelu. Čtyři další vzorky sloužily pro aplikaci referenčních systémů v gelu – kultivačního média a fosfátového pufru. Cílem bylo posoudit jejich případný vliv na průběh čištění, protože kultivační médium tvoří součást bakteriálního kultivátu a fosfátový pufr slouží k uchování filtrovaných bakterií, se kterými bylo plánováno pracovat v navazujících experimentech.

Kapalné systémy – bakteriální kultivát, kultivační médium a fosfátový pufr – byly míchány přibližně pět minut s *Carbogelem* za vzniku homogenních gelů vhodných k aplikaci. Koncentrace gelů byly voleny tak, aby výsledné gelové systémy vykazovaly optimální konzistenci. Bakteriální kultivát byl aplikován v gelu o koncentraci 1 hm. % *Carbogelu*. Referenční systém s kultivačním médiem *Sulphate Reducing Medium* obsahoval 2 hm. % *Carbogelu* a fosfátový pufr byl aplikován v gelu o koncentraci 1 hm. % *Carbogelu*.

Gelové systémy byly nanášeny přes japonský papír ve vrstvě o přibližné tloušťce 0,5 cm. Vzorky byly následně důsledně zabaleny do plastové fólie. Aplikace probíhaly při laboratorní teplotě přibližně 24 °C a relativní vlhkosti vzduchu 78 % ve třech desetihodinových cyklech. Délka i počet cyklů byly stanoveny na základě literatury a průběžného vyhodnocení výsledků po jednotlivých cyklech tak, aby bylo možné jednoznačně sledovat úbytek umělé krusty. Po každém cyklu byl gel odstraněn plastovou špachtlí, povrch očištěn měkkým plastovým kartáčkem s demineralizovanou vodou, opláchnut a následně znovu ošetřen čerstvě připraveným gelem (obr. 5).

Metody vyhodnocení

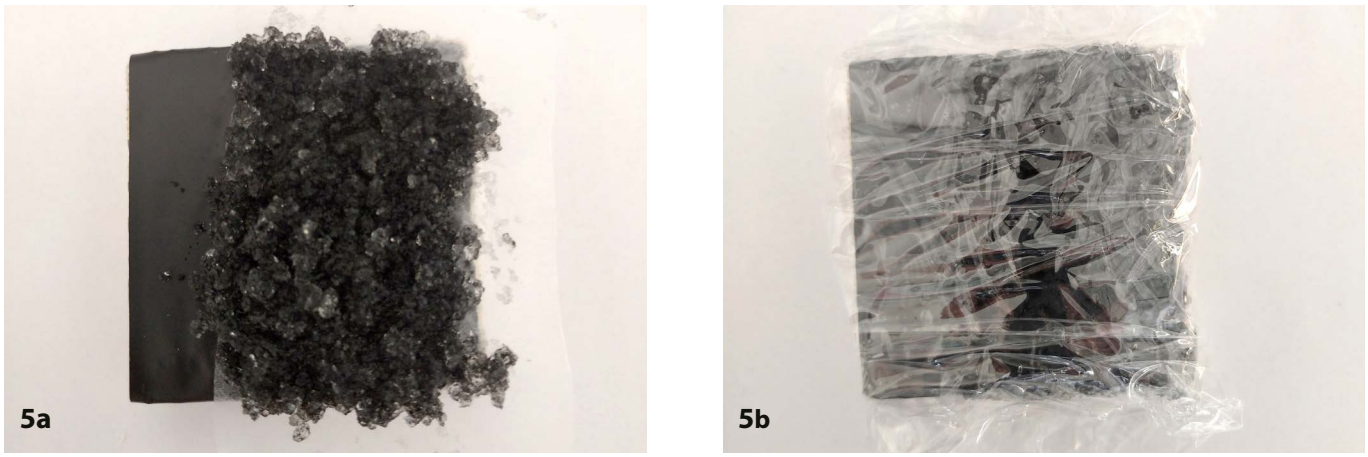
Účinnost čištění byla hodnocena vizuálně a fotograficky dokumentována. Povrch vzorků byl dále zkoumán stereomikroskopem (*SZM800, Nikon*). Z vybraných vzorků byly zhotoveny nábrusy zahrnující přechod mezi čištěnou a referenční částí. Nábrusy byly připraveny zalitím odříznutých částí vzorků do polyesterové pryskyřice (*Polyesterová pryskyřice průzračná licí, Peroxid K1, Havel Composites cz, s. r. o.*) a následně vybroušeny.

K vyhodnocení účinnosti čištění na nábrusech byl využit optický mikroskop (*Nikon Eclipse LV100D-U, Nikon*) a skenovací elektronový mikroskop (*Mira 3 LMU, Tescan*) s energiově-disperzní rentgenovou spektroskopií SEM-EDX (*X-Max 50 mm², Oxford Instruments*). Pomocí optického mikroskopu byly nábrusy vzorků dokumentovány ve viditelném světle, UV luminiscenci (viditelná luminiscence buzená UV zářením) a viditelné luminiscenci buzené modrým světlem. Analýzy SEM-EDX byly provedeny na nauhličených nábrusech ve vysokém vakuu, v režimu zpětně odražených elektronů (BSE) při urychlovacím napětí 25 kV a pracovní vzdálenosti 15 mm.

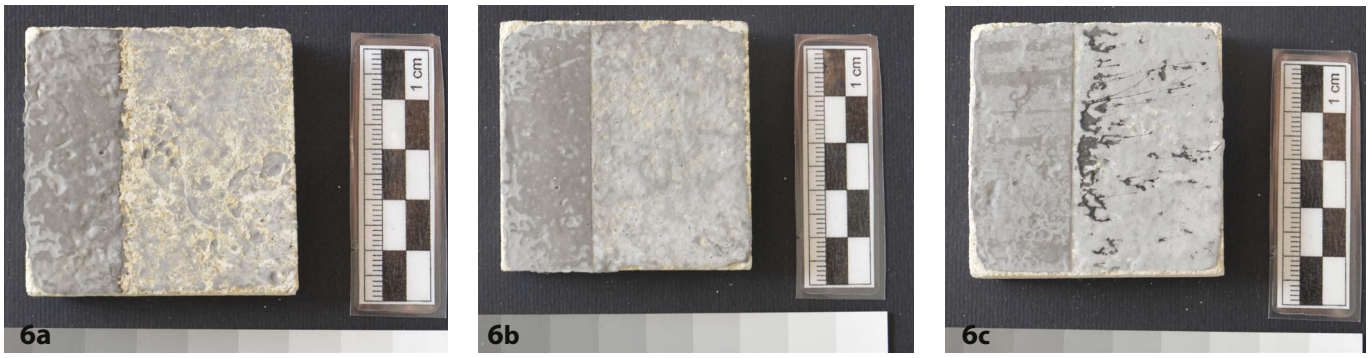
Výsledky a diskuse

Z výsledků vyplývá, že po aplikaci nefiltrovaného bakteriálního systému byl vizuálně patrný úbytek umělé sádrovcové krusty, místy až s úplným odkrytím podkladového vápence (obr. 6). U vzorků ošetřených fosfátovým pufrem v gelu nebylo odstranění krusty pozorováno. V případě aplikace kultivačního média v gelu bylo zaznamenáno pouze mírné ztenčení vrstvy. Tyto změny jsou dobře patrné také na mikrosnímcích pořízených pomocí stereoskopického mikroskopu (obr. 7).

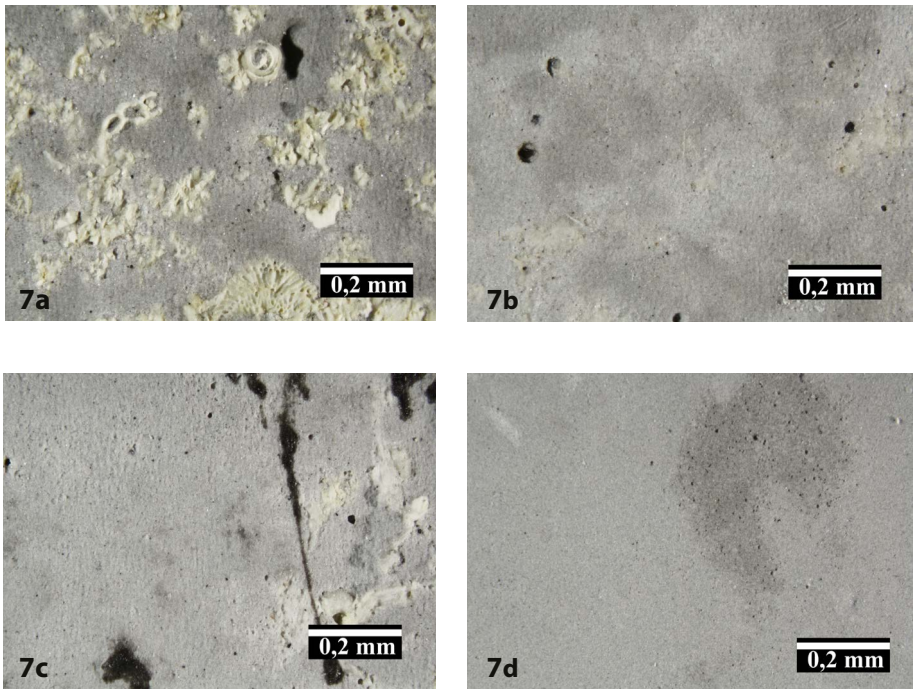
Poznatky z vizuálního hodnocení byly potvrzeny optickou mikroskopií i pomocí SEM-EDX analýz (obr. 8). Na příčných řezech vzorků byl patrný úbytek umělé krusty po aplikaci bakteriálního systému. Nepatrné ztenčení bylo zaznamenáno rovněž u referenčních vzorků ošetřených gelovými systémy s kultivačním médiem i fosfátovým pufrem. Tyto změny lze pravděpodobně přičíst kombinaci mechanického zásahu při odstraňování gelu



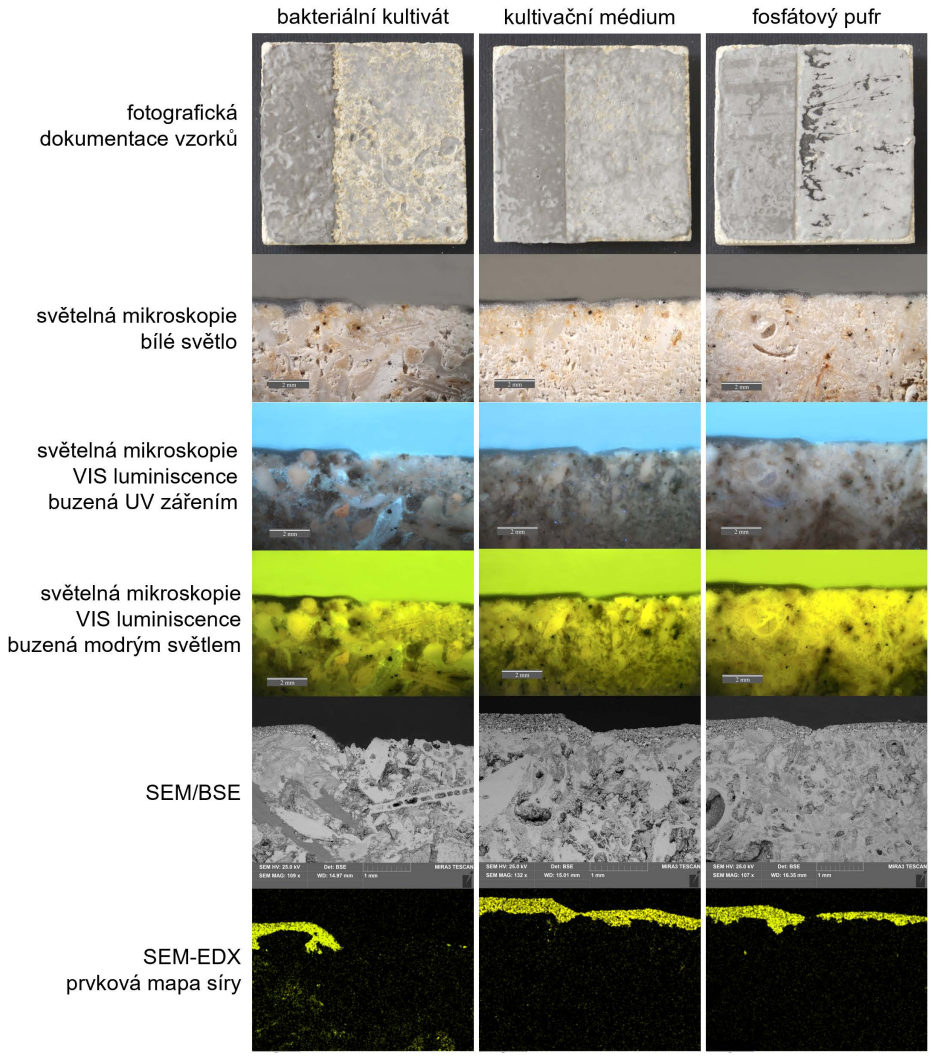
Obr. 5 *Ukázka aplikace nefiltrovaného bakteriálního čisticího systému Desulfovibrio vulgaris subsp. vulgaris DSM 644 na modelovém vzorku: a) aplikace v gelu Carbogel na povrch modelového vzorku – vlevo je vidět referenční plocha zakrytá černou izolační páskou; b) tentýž modelový vzorek zabalený do plastové fólie. Fotografie: P. Lesniaková / Example of the application of unfiltered bacterial cleaning system of Desulfovibrio vulgaris subsp. vulgaris DSM 644 on a model sample: a) application of the unfiltered bacterial culture in Carbogel gel to the surface of the model sample – on the left, you can see the reference area covered with black insulating tape; b) the same model sample wrapped in plastic foil. Photo by P. Lesniaková*



Obr. 6 *Fotografická dokumentace vzorků vápence s umělou sádrovcovou krustou po aplikaci – nahoře referenční (nečištěná) část, dole čištěná část: a) nefiltrovaným bakteriálním kultivátem Desulfovibrio vulgaris subsp. Vulgaris DSM 644; b) médiem Sulphate reducing medium (Himedia); c) fosfátovým pufrem. Fotografie: P. Lesniaková / Photographic documentation of limestone samples with an artificial gypsum crust after treatment – the reference (untreated) area is at the top and the treated area is at the bottom, treated with: a) unfiltered bacterial culture of Desulfovibrio vulgaris subsp. vulgaris DSM 644; b) medium Sulfate-reducing medium (Himedia); c) phosphate buffer. Photo by P. Lesniaková*



Obr. 7 *Příklady dokumentace vzorků vápence s umělou sádrovcovou krustou po čištění při větším zvětšení, stereomikroskop SZM800 (Nikon), mikrosnímky z plochy: a) nefiltrovaný bakteriální kultivát Desulfovibrio vulgaris subsp. vulgaris DSM 644; b) Sulphate reducing medium (Himedia); c) fosfátový pufr; d) referenční vzorek bez aplikace. Fotografie: P. Lesniaková / Examples of documentation of limestone model samples with an artificial gypsum crust after cleaning at higher magnification, stereomicroscope SZM800 (Nikon): a) unfiltered bacterial culture of Desulfovibrio vulgaris subsp. vulgaris DSM 644; b) Sulfate-reducing medium (Himedia); c) phosphate buffer; d) reference sample without treatment. Photo by P. Lesniaková*



Obr. 8 *Vyhodnocení čištění pomocí různých instrumentálních metod, mikrosnímky nábrusů dokumentují přechod mezi nečištěnou (vlevo) a čištěnou částí (vpravo). Fotografie: P. Lesniaková / Evaluation of cleaning using various instrumental methods; micrographs of polished sections document the transition between the untreated area (left) and the treated area (right). Photo by P. Lesniaková*

a působení vodného prostředí, přestože rozpustnost sádry ve vodě je nízká (rozpustnost $CaSO_4 \cdot 2H_2O$ při 25 °C je 0,26 g na 100 g vody) [Fogl – Volka, 2000, s. 69].

Všechny použité techniky světelné mikroskopie se ukázaly jako vhodné pro hodnocení účinnosti čištění. Nejvyšší optický kontrast mezi modelovou krustou a podkladem poskytla viditelná luminiscence buzená modrým světlem, která umožnila nejpřesnější posouzení změn tloušťky vrstvy. Rozsah úbytku umělé krusty byl dále výrazněji vizualizován pomocí prvkového mapování (SEM-EDX), především v mapách síry (S) odpovídajících distribuci sádrovce (obr. 8).

Výsledky současně potvrzují poznatky uváděné v odborné literatuře, podle nichž je biologické čištění časově náročným procesem vyžadujícím stabilní aplikační podmínky. Zásadním faktorem je zejména zabránění vysychání systému, které může vést ke snížení až zastavení aktivity bakterií i omezení rovnoměrného kontaktu gelu s čištěným povrchem. Přestože byl použit nefiltrovaný kultivát obsahující tmavý sulfid železnatý, nebyly po aplikaci pozorovány negativní vizuální změny povrchu, které jsou v literatuře s tímto typem systému spojovány. Tento aspekt by však vyžadoval další ověření na rozsáhlejším souboru vzorků.

ZÁVĚR

Předkládaná studie představuje vstupní příspěvek k problematice využití desulfurikačních bakterií při odstraňování sádrovcových krust z kamenných povrchů. Na základě zahraniční odborné literatury byla realizována experimentální část práce, zahrnující kultivaci bakterií *Desulfovibrio vulgaris subsp. vulgaris* DSM 644 a aplikaci nefiltrovaného bakteriálního kultivátu v gelu *Carbogel* na modelové vzorky vápence s uměle vytvořenou sádrovcovou krustou. Výsledky prokázaly lokální úbytek umělé krusty po aplikaci bakteriálního systému a současně potvrdily význam kultivačních i aplikačních podmínek pro průběh biologického čištění. Zavedení biologického čištění do restaurátorské praxe může být šetrnou, avšak časově náročnou alternativou tradičních metod.

Přínosem studie je zejména metodické ověření biologického čištění na standardizovaných modelových vzorcích, které umožňují kontrolovanější sledování průběhu čištění, reprodukovatelnosti systému a faktorů ovlivňujících jeho účinnost. Použití modelových krust zároveň vytváří vhodný základ pro systematické srovnání biologického čištění s dalšími metodami redukce sádrovcových vrstev.

Vzhledem k pilotnímu charakteru studie nelze výsledky interpretovat jako kvantitativní hodnocení účinnosti metody, ale především jako předběžné ověření funkčnosti bakteriálního systému a základních aplikačních postupů. Studie zároveň poskytuje výchozí základ pro případný navazující výzkum zaměřený na optimalizaci kultivace a filtraci bakteriálního systému, kvantitativní hodnocení účinnosti čištění a ověření reprodukovatelnosti metody na rozsáhlejším souboru modelových i reálných vzorků.

PODĚKOVÁNÍ

Studie vznikla za finanční podpory projektu studentské grantové soutěže (SGS_2022_018) Univerzity Pardubice. Za nápomocný přístup děkujeme MgA. Petru Rejmanovi, vedoucímu diplomové práce, v jejímž rámci mohla být předkládaná studie realizována.

SEZNAM MATERIÁLŮ

- organodetritický vápenec z lokality Pińczów (Polsko)
- sádra *Almond LC* (*Saint-Gobain Formula*)
- sazová čerň *Furnace Black* (*Kremer Pigmente GmbH & Co. KG*)
- kultivační medium *Sulphate Reducing Medium* (Triple pack), M803 (*HiMedia Laboratories*)
- bakterie *Desulfovibrio vulgaris subsp. vulgaris* DSM 644 (*Leibniz Institute, DSMZ*)
- generátor anaerobní atmosféry OXOID AnaeroGen Compact Pufr
- fosfátový pufr, p.a. (*PENTA, s. r. o.*): 0,204 g/l K_2HPO_4, 0,536 g/l $NaHPO_4$, 0,299 g/l laktát sodný
- *Carbogel* (*CTS, Benátky, Itálie*)
- polyesterová pryskyřice (*Polyesterová pryskyřice průzračná licí*, *Peroxid K1*, *Havel Composites cz, s. r. o.)* k přípravě nábrusů vzorků

ZKRATKY

- UV ultrafialový
- VIS viditelný
- SEM skenovací elektronová mikroskopie
- EDX energiově-disperzní rentgenová spektroskopie
- BSE zpětně odražené elektrony

LITERATURA

- ALFANO, Gabriele; LUSTRATO, Giuseppe; BELLI, Claudia; ZANARDINI, Elisabetta; CAPPITELLI, Francesca et al. The bioremoval of nitrate and sulfate alterations on artistic stonework: The case-study of Matera Cathedral after six years from the treatment. Online. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2011, vol. 65, iss. 7, s. 1004–1011. eISSN 1879-0208. Dostupné z: https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2011.07.010. [cit. 2026-03-26].
- BAYER, Karol. Gypsum – an overlooked corrosive factor for some types of silicate sandstones in Bohemia: A case study on the example of the stone adornment corrosion on the facing leaf of st. Peter and Paul's cathedral in Brno. In: DRDÁCKÝ, Miloš (ed.). *European Research on Cultural Heritage: State of the Art Studies*. Praha: ITAM – Centre of Excelllence Academy of Sciences of the Czech Republic, 2006, s. 97–108. ISBN 8086246213.
- BERTHONNEAU, Jeremie; PARENT, Philippe; GRAUBY, Olivier; FERRY, Daniel; LAFFON, Carine et al. Yellowing of laser-cleaned artworks: Formation of residual hydrocarbon compounds after Nd:YAG laser cleaning of gypsum plates covered by lamp black. Online. *Journal of Cultural Heritage*, 2019, vol. 39, s. 57–65. eISSN 1778-3674. Dostupné z: https://doi.org/10.1016/j.culher.2019.02.014. [cit. 2026-03-25].
- BOSCH-ROIG, Pilar; LUSTRATO, Giuseppe; ZANARDINI, Elisabetta a RANALLI, Giancarlo. Biocleaning of Cultural Heritage stone surfaces and frescoes: which delivery system can be the most appropriate? Online. *Annals of Microbiology*, 2015, vol. 65, s. 1227–1241. eISSN 1869-2044. Dostupné z: https://doi.org/10.1007/s13213-014-0938-4. [cit. 2026-03-27].
- BURKHARDTOVÁ, Stella. *Restaurování sousoší Nejsvětější Trojice v Oseckém údolí, Biologické čištění sádrovcových krust na kameni pomocí bakterií*. Online, diplomová práce. Litomyšl: Univerzita Pardubice, Fakulta restaurování, 2023. Dostupné z: https://portal.upce.cz/portal/studium/prohlizeni.html. [cit. 2026-03-26].
- CAPPITELLI, Francesca; TONIOLO, Lucia; SANSONETTI, Antonio; GULOTTA, Davide; RANALLI, Giancarlo et al. Advantages of Using Microbial Technology over Traditional Chemical Technology in Removal of Black Crusts from Stone Surfaces of Historical Monuments. Online. *Applied and Environmental Microbiology*, 2007, vol. 73, no. 17, s. 5671–5675. eISSN 1098-5336. Dostupné z: https://doi.org/10.1128/AEM.00394-07. [cit. 2026-03-25].
- CAPPITELLI, Francesca; ZANARDINI, Elisabetta; RANALLI, Giancarlo; MELLO, Emilio; DAFFONCHIO, Daniele et al. Improved Methodology for Bioremoval of Black Crusts on Historical Stone Artworks by Use of Sulfate-Reducing Bacteria. Online. *Applied and Environmental Microbiology*, 2006, vol. 72, no. 5, s. 3733–3737. eISSN 1098-5336. Dostupné z: https://doi.org/10.1128/AEM.72.5.3733-3737.2006. [cit. 2026-03-27].
- ELHAGRASSY, Abeer F. a HAMAD, Rasha T. Bio-Cleaning by Desulfovibrio vulgaris bacteria for black gypsum crust of archaeological stone. Online. البحر المتوسط مجلة مركز حضارات (*Journal of the Center for Mediterranean Civilizations*), 2018, vol. 2, no. 1, s. 5–21. ISSN 2812-5495. Dostupné z: https://doi.org/10.21608/midcul.2018.225069. [cit. 2026-03-25].
- FOGL, Jaroslav a VOLKA, Karel. *Analytické tabulky*. Praha: VŠCHT Praha, 2000. ISBN 80-7080-371-1.
- GAURI, Khariti Lal; PARKS, L.; JAYNES, J. a ATLAS, R. Removal of Sulphated-Crust from Marble Using Sulphate Reducing Bacteria. In: WEBSTER, Robin G. M. (ed.). *Stone cleaning: and the nature, soiling and decay mechanisms of stone: proceedings of the International conference held in Edinburgh, UK, 14–16 April 1992*. London: Donhead Publishing, 1992, s. 160–165. ISBN 1873394098.
- GIOVENTÙ, Eleonora; LORENZI, Paola Franca; VILLA, Federica; SORLINI, Claudia; RIZZI, Maria et al. Comparing the bioremoval of black crusts on colored artistic lithotypes of the Cathedral of Florence with chemical and laser treatment. Online. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2011, vol. 65, iss. 6, s. 832–839. eISSN 1879-0208. Dostupné z: https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2011.06.002. [cit. 2026-03-22].
- GIOVENTÙ, Eleonora a LORENZI, Paola Franca. Bio-Removal of Black Crust from Marble Surface: Comparison with Traditional Methodologies and Application on a Sculpture from the Florence's English Cemetery. Online. *Procedia Chemistry*, 2013, vol. 8, s. 123–129. ISSN 1876-6196. Dostupné z: https://doi.org/10.1016/j.proche.2013.03.017. [cit. 2026-03-27].
- HALSEY, David P.; DEWS, John S.; MITCHELL, D. J. et al. The Black Soiling of Sandstones Buildings in the West Midlands England: Regional Variations and Decay Mechanism. In: SMITH, Bernard J. a WARKE, Patricia A. (eds.). *Processes of urban stone decay*. London: Routledge, 1996, s. 53–66. ISBN 9781873394205.
- CHANDRA, Prem; ENESPA, Singh; KUMAR, Rajesh a AHMAD, Jameel. The Role of Microorganisms in Removal of Sulfates from Artistic Stonework. Online. In: YADAV, Ajar Nath; RASTEGARI, Ali Asghar; GUPTA, Vijai Kumar a YADAV, Neelam (eds.). *Microbial Biotechnology Approaches to Monuments of Cultural Heritage*. Singapore: Springer, 2020, s. 103–135. eBook ISBN 978-981 15-3401-0. Dostupné z: https://doi.org/10.1007/978-981-15-3401-0_7. [cit. 2026-03-24].
- KOLÁŘ, Roman. *Restaurování reliéfu sv. Rozálie z morového sloupu v Kutné Hoře a technologie čištění sádrovcových krust na kutnohorském vápenci*. Diplomová práce. Litomyšl: Univerzita Pardubice, Fakulta restaurování, 2016.
- KOTLÍK, Petr; HEIDINGSFELD, Viktor; BLÁHA, Jindřich a VANĚČEK Ivan. *Stavební materiály historických objektů*. Praha: VŠCHT Praha, 2007. ISBN 978-80-7080-347-9.
- LOMBARDI, Emanuela. *Biotechnologies for Restoration of Cultural Heritage*. Online, disertační práce. Milano: Universita degli Studi di Milano, Faculty of Agricultural and Food Science, 2013/2014.

Dostupné z: https://air.unimi.it/retrieve/dfa8b991-7231-748b-e053-3a05fe0a3a96/phd_unimi_R09789.pdf. [cit. 2026-03-27].

- MAY, Eric; WEBSTER, A. M.; INKPEN, Robert; ZAMARREÑO, D.; KUEVER, J. et al. The Biobrush Project for bioremediation of heritage stone. Online. In: MAY, Eric; JONES, Mark a MITCHELL, Julian (ed.). *Heritage Microbiology and Science: Microbes, Monuments and Maritime Materials*. Cambridge: Royal Society of Chemistry, 2008, s. 76–93. ISBN 9780854041411. Dostupné z: https://doi.org/10.1039/9781847558633-00076. [cit. 2026-03-27].
- MARSZAŁEK, Mariola; ALEXANDROWICZ, Zofia a RZEPA, Grzegorz. Composition of Weathering Crusts on Sandstones from Natural Outcrops and Architectonic Elements in an Urban Environment. Online. *Environmental Science and Pollution Research*, 2014, vol. 21, iss. 6, s. 14023–14036. eISSN 1614-7499. Dostupné z: https://doi.org/10.1007/s11356-014-3312-y. [cit. 2026-03-25].
- MARTINO, Manuela; SCHIAVONE, Salvo; PALLA, Franco; PELLEGRINO, Lorella; DE CASTRO, Evelina et al. Bioremoval of Sulphate Layer from a 15th Century Polychrome Marble Artifact. Online. *Conservation Science in Cultural Heritage*, 2015, vol. 15, no. 1, s. 235–252. eISSN 1973-9494. Dostupné z: https://doi.org/10.6092/issn.1973-9494/6177. [cit. 2026-03-27].
- MARTINO, Manuela; BALLOI, Annalisa a PALLA, Franco. Biocleaning. Online. In: PALLA, Franco a BARRESI, Giovanna (eds.). *Biotechnology and Conservation of Cultural Heritage*. 2nd ed. Cham: Springer, 2022, s. 71–95. eBook ISBN 978-3-030-97585-2. Dostupné z: https://link.springer.com/book/10.1007/978-3-319-46168-7. [cit. 2026-03-14].
- MOROPOULOU, Antonia I.; BISBIKOU, K.; TORFS, K.; VAN GRIEKEN, René E.; ZEZZA, F. et al. Origin and Growth of Weathering Crusts on Ancient Marbles in Industrial Atmosphere. Online. *Atmospheric Environment*, 1998, vol. 32, iss. 6, s. 967–982. ISSN 1352-2310. Dostupné z: https://doi.org/10.1016/S1352-2310(97)00129-5. [cit. 2026-03-26].
- MROVĚC, Pavel. *Restaurování sádrového modelu pomníku Jana Husa na Staroměstské náměstí od Stanislava Suchardy: Možnosti využití laseru v kontextu tradičních a současných metod čištění povrchově neupravených sádrových odlitků*. Diplomová práce. Litomyšl: Univerzita Pardubice, Fakulta restaurování, 2017.
- ORTEGA-MORALES, Benjamín Otto a GAYLARDE, Christine Claire. Bioconservation of Historic Stone Buildings—An Updated Review. Online. *Applied Sciences*, 2021, vol. 11, no. 12, s. 1–18. eISSN 2076-3417. Dostupné z: https://doi.org/10.3390/app11125695. [cit. 2026-03-19].
- POLO, Andrea; CAPPITELLI, Francesca; BRUSETTI, Lorenzo; PRINCIPI, Pamela; VILLA, Federica et al. Feasibility of Removing Surface Deposits on Stone Using Biological and Chemical Remediation Methods. Online. *Microbial Ecology*, 2010, vol. 60, iss. 1, s. 1–14. eISSN 1432-184X. Dostupné z: https://doi.org/10.1007/s00248-009-9633-6. [cit. 2026-03-14].
- POTGIETER-VERMAAK, Sanja S.; GODOI, Ricardo Henrique Moreton; VAN GRIEKEN, René E.; POTGIETER, J. Herman; OUJJA, Mohamed et al. Micro-structural characterization of black crust and laser cleaning of building stones by micro-Raman and SEM techniques. Online. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2005, vol. 61, iss. 11–12, s. 2460–2467. eISSN 1873-3557. Dostupné z: https://doi.org/10.1016/j.saa.2004.09.010. [cit. 2026-03-22].
- POZO-ANTONIO, José Santiago; RAMIL, Alberto; RIVAS, Teresa; LÓPEZ, Ana Jesús a FIORUCCI, María Paula. Effectiveness of chemical, mechanical and laser cleaning methods of sulphated black crusts developed on granite. Online. *Construction and Building Materials*, 2016, vol. 112, s. 682–690. eISSN 1879-0526. Dostupné z: https://doi.org/10.1016/j.conbuildmat.2016.02.195. [cit. 2026-03-22].
- PYZIK, Adam; CIUCHCINSKI, Karol; DZIURZYNSKI, Mikolaj a DZIEWIT, Lukasz. The Bad and the Good—Microorganisms in Cultural Heritage Environments—An Update on Biodeterioration and Biotreatment Approaches. Online. *Materials*, 2021, vol. 14, iss. 1, s. 177. eISSN 1996-1944. Dostupné z: https://doi.org/10.3390/ma14010177. [cit. 2026-03-26].
- RANALLI, Giancarlo; CHIAVARINI, Mauro; GUIDETTI, Viviana; MARSALA, F.; MATTEINI, Mauro et al. The Use of Microorganisms for the Removal of Sulphates on Artistic Stoneworks. Online. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 1997, vol. 40, iss. 2–4, s. 255–261. eISSN 1879-0208. Dostupné z: https://doi.org/10.1016/S0964-8305(97)00054-1. [cit. 2026-03-27].
- RANALLI, Giancarlo; MATTEINI, Mauro; TOSINI, Isetta; ZANARDINI, Elisabetta a SORLINI, Claudia. Bioremediation of Cultural Heritage: Removal of Sulphates, Nitrates and Organic Substances. Online. In: CIFERRI, Orio; TIANO, Piero; MASTROMEI, Giorgio (eds). *Of Microbes and Art: The Role of Microbial Communities in the Degradation and Protection of Cultural Heritage*. Boston: Springer, 2000, s. 231–245. eBook ISBN 978-1-4615-4239-1. Dostupné z: https://doi.org/10.1007/978-1-4615-4239-1_16. [cit. 2026-03-22].
- RANALLI, Giancarlo a ZANARDINI, Elisabetta. Biocleaning on Cultural Heritage: New Frontiers of Microbial Biotechnologies. Online. *Journal of Applied Microbiology*, 2021, vol. 131, iss. 2, s. 583–603. eISSN 1365 2672. Dostupné z: https://doi.org/10.1111/jam.14993. [cit. 2026-03-27].
- SAHEB, Mandana; CHABAS, Anne; MERTZ, Jean-Didier; COLAS, Estel; ROZENBAUM, Olivier et al. Weathering of limestone after several decades in an urban environment. Online. *Corrosion Science*, 2016, vol. 111, s. 742–752. eISSN: 1879-0496. Dostupné z: https://doi.org/10.1016/j.corsci.2016.06.015. [cit. 2026-03-27].
- SALIMBENI, Renzo; PINI, Roberto a SIANO, Salvatore. A variable pulse width Nd:YAG laser for conservation. Online. *Journal of Cultural Heritage*, 2003, vol. 4, suppl. 21, s. 72–76. eISSN 1778-3674. Dostupné z: https://doi.org/10.1016/S1296-2074(02)01149-4. [cit. 2026-03-28].
- SOFFRITTI, Irene; D'ACCOLTI, Maria; LANZONI, Luca; VOLTA, Antonella; BISI, Matteo et al. The Potential Use of Microorganisms as Restorative Agents: An Update. Online. *Sustainability*, 2019, vol. 11, iss. 14, s. 1–17. eISSN 2071-1050. Dostupné z: https://doi.org/10.3390/su11143853. [cit. 2026-03-24].
- TROIANO, Federica; GULOTTA, Davide; BALLOI, Annalisa; POLO, Andrea; TONIOLO, Lucia et al. Successful combination of chemical and biological treatments for the cleaning of stone artworks. Online. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2013, vol. 85, s. 294–304. eISSN 1879-0208. Dostupné z: https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2013.08.011. [cit. 2026-03-13].