

Výzkum sterilizačních (protiplísňových) metod – Národní knihovna ČR

mezinárodní grant s účastí p. Randy Silvermana

Materiály, pomůcky, zařízení, přístroje :

Destilovaná voda
Vatové tampóny
Živná půda (CDA)
Petriho misky
Digestoř
Laboratorní vana
Plastové sáčky a pytle
Mrazák (Zanussi ZCF 410)
Sušicí komora
Sterilizační komora (Matachana)
Aseptický box (Fatran LF)
Biologický termostat (BT 120 M)
Optický mikroskop (Biolar)
Parní sterilizátor (Tuttnauer 3870 M)
Digitální fotoaparát (Olympus C-990)
Termohygrometr (Testo 601)
Mechanické měřidlo na rozměry knih

Postup :

Před vlastními pokusnými pracemi bylo provedeno u vybraných knih zjištění některých parametrů knih (typ knihy, materiál vazby a bloku knih), změřeny některé fyzikální vlastnosti (rozměry, teplota, relativní vlhkost) a provedena mikrobiologická kontrola. Poté byly knihy postupně namočený, zamrazeny, usušeny (lyofilizace) a nakonec sterilizovány. Po pokusných pracích byly znovu u vybraných knih změřeny některé fyzikální vlastnosti (rozměry, teplota, relativní vlhkost) a znovu provedena mikrobiologická kontrola.

Rozměry knih (výška, šířka, tloušťka) byly měřeny na začátku (před pokusy) a na konci (po sterilizaci) pomocí mechanického měřidla na rozměry knih. Teplota a relativní vlhkost byly na začátku (před pokusy) a na konci (po sterilizaci) měřeny pomocí termohygrometru Testo 601.

Namočení (Národní knihovna ČR)

Nejdříve knihy byly rozevřeny pomocí tkaniny na vybraných stránkách, aby bylo možno knihy co nejvíce namočit. Rozevřené knihy byly ponořeny do laboratorních van s destilovanou vodou na jeden den. Potom byly knihy vyjmuty z laboratorních van, krátce se nechaly odkapat a následně byly umístěny do plastových pytlů, kde byly neprodyšně uzavřeny po dobu 7 dní (simulace povodňových podmínek).

Zmrazení (Národní knihovna ČR)

Namočené knihy byly vloženy do plastových sáčků a umístěny do mrazáku, kde byly zamrazeny při teplotě -20°C.

Lyofilizace (Národní archiv v Praze)

Zmrazené knihy byly umístěny do sušící komory a sušeny lyofilizací při teplotě -12 °C to -18°C a tlaku 2 mbar po dobu 3 týdnů.

Sterilizace (Národní archiv v Praze)

Sterilizace byla prováděna ve sterilizační komoře etoxenem (směs 10% etylenoxid, 90% oxid uhličitý), při teplotě 30 °C, relativní vlhkosti 80%, tlaku 150 kPa, po dobu jednoho sterilizačního cyklu 16 h a s následným odvětráním zbytkových reziduí v odvětrávacím tunelu po dobu 1 týdne.

Mikrobiologická kontrola (Národní knihovna ČR)

Mikrobiologická kontrola byla prováděna pomocí suchých sterilních vatových tampónů z plochy (asi 10x10 cm) vazeb a bloků knih před a po sterilizaci. Vatové tampóny byly poté nanášeny v aseptickém boxu na sterilní Petriho misky se živnou půdou (CDA). Kultivace plísní probíhala v biologickém termostatu při teplotě 25°C po dobu 7-14 dní. Poté bylo provedeno kvantitativní a kvalitativní vyhodnocení plísní. Kvantitativní vyhodnocení bylo provedeno na základě vizuálního zjištění počtu kolonií plísní a kvalitativní zjištění jednotlivých druhů plísní na základě mikroskopického pozorování struktur plísní.

Vyhodnocení :

Tabulka 1 : Parametry a fyzikální vlastnosti knih na začátku (před pokusy) a na konci (po sterilizaci)

Označení knih	Typ knih	Materiál vazby	Materiál bloku knihy	Na začátku (před pokusy)			Na konci (po sterilizaci)		
				Rozměry /výška x šířka x tloušťka/ (mm)	Teplota (°C)	Relativní vlhkost (%)	Rozměry /výška x šířka x tloušťka/ (mm)	Teplota (°C)	Relativní vlhkost (%)
E-007	Tisk	Kůže	Papír	127x82x16	20,4	25,7	125x77x28	21,3	36,7
E-014	Tisk	Kůže	Papír	209x125x43	20,3	23,6	209x122x75	21,1	32,7
E-021	Tisk	Kůže	Papír	179x109x27	20,3	24,8	178x104x38	21,4	35,4
E-029	Tisk	Kůže	Papír	158x102x25	20,4	25,8	157x96x42	21,1	32,9
E-032	Tisk	Kůže	Papír	220x134x45	20,7	26,3	220x136x64	21,5	32,7
E-040	Tisk	Kůže	Papír	258x166x65	20,6	23,3	259x164x90	20,9	43,3
E-048	Tisk	Textil	Papír	208x142x44	20,6	24,5	211x141x55	21,3	33,5
E-051	Tisk	Textil	Papír	197x140x30	20,7	25,4	198x138x34	21,0	34,5
E-054	Tisk	Textil	Papír	279x193x49	20,4	23,5	284x189x90	21,1	38,9
E-062	Tisk	Kůže Textil	Papír	254x188x47	19,9	22,7	256x185x64	21,2	37,9
E-075	Tisk	Kůže Papír	Papír	237x164x39	20,9	22,6	227x162x53	21,0	33,7
E-083	Tisk	Textil	Papír	222x155x43	21,0	22,5	227x153x64	21,1	28,6
E-110	Tisk	Kůže Papír	Papír	189x133x38	20,8	24,3	188x127x57	21,2	34,6
E-113	Tisk	Kůže	Papír	217x162x30	19,8	23,7	221x161x57	21,0	35,2
E-121	Tisk	Kůže	Papír	237x163x48	19,4	23,5	238x164x66	21,1	33,0

E-124	Tisk	Kůže	Papír	210x140x27	20,5	24,3	208x136x36	21,0	35,8
E-127	Tisk	Textil	Papír	247x169x29	20,1	22,6	249x169x46	21,2	38,8
E-130	Tisk	Textil	Papír	244x168x40	19,0	22,3	246x170x61	21,4	37,0
E-138	Tisk	Kůže	Papír	212x158x31	20,4	23,4	210x157x45	21,3	35,3
E-150	Tisk	Textil	Papír	243x162x36	20,3	23,9	245x159x57	21,4	35,7
E-153	Tisk	Textil	Papír	247x170x29	20,5	22,3	250x169x48	21,3	35,4
E-170	Tisk	Plast	Papír	260x201x27	21,0	24,6	261x200x51	20,9	34,1

Tabulka 2 : Kvantitativní a kvalitativní vyhodnocení plísni na začátku (před pokusy) a na konci (po sterilizaci)

Označení knihy	Na konci (před pokusy)		Na konci (po sterilizaci)		Účinek sterilizace (vazba knih)	Účinek sterilizace (vazba knih)
	Identifikované plísně (vazba knih)	Identifikované plísně (blok knih)	Identifikované plísně (vazba knih)	Identifikované plísně (blok knih)		
E-007	6x Aspergillus niger 1x Penicillium chrysogenum 1x Aspergillus versicolor (celkem : 8)	0 (celkem : 0)	1x Aspergillus niger (celkem : 1)	0 (celkem : 0)	87,5%	
E-014	3x Aspergillus niger 2x Penicillium chrysogenum 1x Aspergillus flavus 1x Aspergillus versicolor (celkem : 7)	1x Aspergillus flavus (celkem : 1)	0 (celkem : 0)	0 (celkem : 0)	100%	100%
E-021	6x Aspergillus niger 6x Penicillium chrysogenum 2x Aspergillus flavus (celkem : 14)	1x Aspergillus flavus (celkem : 1)	0 (celkem : 0)	0 (celkem : 0)	100%	100%
E-029	12x Aspergillus niger (celkem : 12)	0 (celkem : 0)	3x Aspergillus niger (celkem : 3)	0 (celkem : 0)	75%	
E-032	4x Penicillium chrysogenum 3x Aspergillus niger 3x Aspergillus flavus 3x Trichoderma harzianum 1x Cladosporium cladosporoides (celkem : 14)	1x Penicillium chrysogenum 1x Cladosporium cladosporoides (celkem : 2)	0 (celkem : 0)	0 (celkem : 0)	100%	100%
E-040	4x Penicillium chrysogenum 4x Aspergillus flavus 1x Aspergillus niger	0	0 (celkem : 0)	0 (celkem : 0)	100%	

	(celkem : 9)	(celkem : 0)				
E-048	9x Aspergillus niger 4x Penicillium chrysogenum 1x Aspergillus flavus 1x Aspergillus versicolor (celkem : 15)	1x Penicillium chrysogenum (celkem : 1)	1x Aspergillus niger (celkem : 1)	0 (celkem : 0)	93,3%	100%
E-051	11x Aspergillus niger 5x Penicillium chrysogenum 1x Aspergillus flavus 1x Cladosporium cladosporoides (celkem : 18)	0 (celkem : 0)	2x Aspergillus niger 1x Penicillium chrysogenum (celkem : 3)	0 (celkem : 0)	83,3%	
E-054	11x Penicillium chrysogenum 3x Cladosporium cladosporoides 2x Aspergillus niger 1x Aspergillus flavus (celkem : 17)	2x Penicillium chrysogenum (celkem : 2)	0 (celkem : 0)	0 (celkem : 0)	100%	100%
E-062	2x Aspergillus versicolor 1x Penicillium chrysogenum 1x Cladosporium cladosporoides (celkem : 4)	3x Penicillium chrysogenum (celkem : 3)	0 (celkem : 0)	0 (celkem : 0)	100%	100%
E-075	3x Penicillium chrysogenum 1x Aspergillus flavus 1x Aspergillus versicolor (celkem : 5)	0 (celkem : 0)	0 (celkem : 0)	0 (celkem : 0)	100%	
E-083	2x Aspergillus flavus 2x Penicillium chrysogenum (celkem : 4)	0 (celkem : 0)	0 (celkem : 0)	0 (celkem : 0)	100%	
E-110	9x Penicillium chrysogenum 1x Aspergillus versicolor (celkem : 10)	1x Penicillium chrysogenum (celkem : 1)	2x Penicillium chrysogenum (celkem : 2)	0 (celkem : 0)	80%	100%
E-113	11x Aspergillus niger 4x Penicillium chrysogenum 1x Cladosporium cladosporoides (celkem : 16)	0 (celkem : 0)	0 (celkem : 0)	0 (celkem : 0)	100%	
E-121	3x Aspergillus niger 3x Penicillium chrysogenum 2x Cladosporium herbarum 1x Aspergillus versicolor	1x Cladosporium herbarum	1x Cladosporium herbarum	0	88,9%	100%

	(celkem :9)	(celkem : 1)	(celkem : 1)	(celkem : 0)		
E-124	5x Aspergillus niger 2x Penicillium chrysogenum 1x Aspergillus versicolor 1x Scopulariopsis brevicaulis (celkem : 9)	1x Aspergillus versicolor (celkem : 1)	0 (celkem : 0)	0 (celkem : 0)	100%	100%
E-127	5x Aspergillus niger 3x Aspergillus flavus 1x Penicillium chrysogenum (celkem : 9)	1x Aspergillus flavus 1x Penicillium chrysogenum (celkem : 2)	0 (celkem : 0)	0 (celkem : 0)	100%	100%
E-130	8x Penicillium chrysogenum 7x Aspergillus niger (celkem : 15)	6x Trichoderma harzianum 1x Penicillium chrysogenum 1x Aspergillus flavus (celkem : 8)	2x Penicillium chrysogenum (celkem : 2)	1x Penicillium chrysogenum (celkem : 1)	86,7%	87,5%
E-138	3x Aspergillus niger 3x Penicillium chrysogenum 3x Trichoderma harzianum 2x Aspergillus flavus (celkem : 11)	1x Penicillium chrysogenum (celkem : 1)	1x Penicillium chrysogenum 1x Aspergillus flavus (celkem : 2)	0 (celkem : 0)	81,8%	100%
E-150	12x Aspergillus niger 3x Penicillium chrysogenum 1x Scopulariopsis brevicaulis (celkem : 16)	1x Penicillium chrysogenum (celkem : 1)	3x Aspergillus niger (celkem : 3)	0 (celkem : 0)	81,3%	100%
E-153	11x Penicillium chrysogenum 3x Cladosporium cladosporoides 1x Aspergillus niger (celkem : 15)	3x Penicillium chrysogenum 1x Aspergillus versicolor 1x Cladosporium cladosporoides (celkem : 5)	1x Penicillium chrysogenum (celkem : 1)	0 (celkem : 0)	93,3%	100%
E-170	4x Aspergillus niger 2x Penicillium chrysogenum 2x Cladosporium cladosporoides 1x Aspergillus versicolor (celkem : 9)	0 (celkem : 0)	0 (celkem : 0)	0 (celkem : 0)	100%	
Průměr					93,2%	99,1%

Počet kolonií plísní vykazuje nízkou míru plísňového znečištění. Identifikované plísně jsou běžnými druhy, které se vyskytují na knihách. Sterilizační účinek (průměr) na plísně, které se vyskytují na vazbě knih je 93,2% a na bloku knih 99,1%.

Identifikované plísně :

Aspergillus flavus

Kolonie jsou nízké a sametové nebo zrnité. Povrch kolonií je zpočátku bílý, který se později stává žlutým, žlutozeleným, žlutohnědým nebo hnědým. Spodní strana je žlutá (od barviva) nebo hnědá. Vyskytuje se v půdě, na tlejících rostlinách, na potravinách (semena), na papíru, na kůži, na textilu. Produkuje mykotoxiny (aflatoxiny ...).

Aspergillus niger

Kolonie jsou vysoké a vatovité. Povrch kolonií je zpočátku bílý, který se později stává hnědým nebo černým. Spodní strana je bezbarvá. Vyskytuje se v půdě, ve vzduchu, na tlejících rostlinách, na papíru, na kůži, na textilu. Produkuje kyselinu citrónovou a mykotoxiny (malformin ...).

Aspergillus versicolor

Kolonie jsou nízké a sametové. Povrch kolonií je zpočátku bílý, který se později stává žlutým, žlutozeleným, žlutohnědým nebo hnědým. Spodní strana je žlutá (od barviva), okrová, červenohnědá (od barviv) nebo hnědá. Vyskytuje se v půdě, ve vzduchu, na tlejících rostlinách, na potravinách, na kukuřici, na papíru, na kůži, na textilu. Produkuje mykotoxiny (sterigmatocystin ...).

Cladosporium cladosporoides

Kolonie jsou nízké a sametové. Povrch kolonií je hnědý. Spodní strana je hnědočerná. Vyskytuje se ve vzduchu, na tlejících rostlinách, na mokrých zdech, na papíru, na kůži, na textilu.

Cladosporium herbarum

Kolonie jsou nízké a plstěné nebo sametové. Povrch kolonií je zelenohnědý nebo hnědočerný. Spodní strana je šedočerná nebo černá. Vyskytuje na tlejících rostlinách, na mokrých zdech, na papíru, na kůži, na textilu. Produkuje mykotoxiny (gibberelin ...).

Penicillium chrysogenum

Kolonie jsou nízké a sametové. Povrch kolonií je zpočátku bílý, který se později stává žlutozeleným, zelenohnědým, nebo modrozeleným s bílým okrajem. Spodní strana je žlutá (od barviva), žlutozelená, nebo žlutohnědá. Vyskytuje se v půdě, ve vzduchu, na tlejících rostlinách, na potravinách, na mokrých zdech, na papíru, na kůži, na textilu. Produkuje antibiotikum penicilin a mykotoxiny (ochratoxin ...).

Scopulariopsis brevicaulis

Kolonie jsou nízké a sametové nebo vatovité. Povrch kolonií je zpočátku bílý, který se později stává skořicověhnědým nebo žlutohnědým. Spodní strana je bezbarvá nebo světle hnědá. Vyskytuje se v půdě, na rostlinách, na papíru, na kůži, na textilu.

Trichoderma harzianum

Kolonie jsou nízké a vatovité. Povrch kolonií je zpočátku bílý, který se později stává zeleným. Spodní strana je bezbarvá. Vyskytuje se v půdě, na tlejících rostlinách, na potravinách, na papíru, na kůži, na textilu. Produkuje mykotoxiny (chrysophanol ...).