

Wojtczak, Mirosława

Próby usuwania zaplamień grzybowych z papieru zabytkowego

Acta Universitatis Nicolai Copernici. Zabytkoznawstwo i Konserwatorstwo 15 (189), 115-126

1990

Artykuł został opracowany do udostępnienia w internecie przez Muzeum Historii Polski w ramach prac podejmowanych na rzecz zapewnienia otwartego, powszechnego i trwałego dostępu do polskiego dorobku naukowego i kulturalnego. Artykuł jest umieszczony w kolekcji cyfrowej bazhum.muzhp.pl, gromadzącej zawartość polskich czasopism humanistycznych i społecznych.

Tekst jest udostępniony do wykorzystania w ramach dozwolonego użytku.

Zakład Konserwacji Skóry i Papieru

Mirosława Wojtczak

PRÓBY USUWANIA ZAPŁAMIEŃ GRZYBOWYCH Z PAPIERU ZABYTKOWEGO

Zarys treści. Jednym z trudniejszych problemów w konserwacji zabytków na papierze jest usuwanie różnobarwnych zaplamień wywołanych działalnością mikroorganizmów. Przedstawione badania dotyczą możliwości zastosowania rozpuszczalników organicznych do rozpuszczania plam grzybowych i usuwania ich z papieru. Uzyskane wyniki, potwierdzone także przez praktykę konserwatorską, pozwalają na stosowanie kąpeli rozpuszczalnikowych (w metanolu, etanolu, acetonie) do usuwania zaplamień grzybowych jako metody wspomagającej prace konserwatorskie.

Zmiany spowodowane przez rozwój drobnoustrojów na papierze mają bardzo różny charakter. Są to najczęściej zmiany w strukturze papieru, będące wynikiem skomplikowanego procesu rozkładu włókna celulozowego, jak również towarzyszące temu procesowi zaplamienia papieru¹. Zaplamienia papieru wywołane przez rozwijające się na nim drobnoustroje (głównie grzyby) są zasadniczo trojakiego rodzaju. Pierwszy jest wynikiem wytworzenia barwnych zarodników na powierzchni papieru, drugi spowodowany jest migracją barwnika z grzybni do papieru, trzeci natomiast jest wynikiem rozwoju barwnej grzybni w papierze.

Barwne plamy na papierze zabytkowym i ich intensywność są wypadkową wielu czynników działających na drobnoustroje, tak fizycznych jak i chemicznych. Kształt, barwa i nasilenie zaplamienia zależą bowiem od warunków, jakie stworzył papier żyjącym na nim drobnoustrojom (skład włóknisty papieru, rodzaj przeklejenia, wypełniacze, warstwa barwna itp.). Zależną od zmian chemicznych, jakim uległ papier, a także od czasu działania danego gatunku lub współdziałania kilku

¹ J. A. Goscoigne, M. M. Goscoigne, *Biological Degradation of Cellulose*, London 1960; S. Leźnicka, *Cellulolytic activities of fungi destroying ancient books*, *Acta Microbiol. Polon.*, 29,4, 1980.

gatunków grzybów². Najczęściej zmiany barwne papieru zabytkowego łączą się z silnym rozkładem samego papieru; równocześnie obserwuje się także przypadki przebarwienia podłoża bez widocznego naruszenia struktury papieru³. Zaplamienia te mają czasem zasięg znacznie szerszy niż wskazywałyby na to ślady wzrostu samej kolonii.

Na stopień zabarwienia papieru wpływają również zawarte w nim substancje nieorganiczne⁴. Znaczną rolę w tworzeniu plam barwnych na papierze należy przypisać pierwiastkom metalicznym niezbędnym dla życia grzybów. Bezpośrednią przyczyną powstawania plam barwnych na papierze są wydzielane przez drobnoustroje produkty przemiany materii. Te barwne wydzieliny mają najczęściej charakter toksyn grzybowych i antybiotyków⁵. Na rodzaj i kolor powstającego na papierze zaplamienia istotny wpływ mają także bezbarwne produkty przemiany materii drobnoustrojów, np. kwasy organiczne czy ich sole. Przenikając do podłoża stymulują barwy wydzielanych do niego związków, które mają często charakter indykatorów. Powoduje to, że kolor powstającej plamy, np. *Fusarium*, może przybierać barwę od czerwonej przez fioletową do niebieskiej.

Rola barwników wytwarzanych przez grzyby nie została do tej pory dostatecznie wyjaśniona. Wiadomo, że niektóre z nich pełnią funkcję inhibitorów enzymów, antybiotyków. Inne, takie jak melanina, chronią komórki grzybów przed działaniem światła⁶. Tylko część wytwarzanych przez grzyby substancji barwnych została zbadana. Niezależnie od roli, jaką spełniają te związki w życiu poszczególnych gatunków grzybów, pod względem chemicznym są to najczęściej pochodne chinonów i antrachinonów. Związki te dzięki podwójnym wiązaniom łatwo wchodzi w reakcję i są zarazem najsilniejszymi chromoforami⁷. Wiele z antybiotyków produkowanych przez grzyby to właśnie związki chinonowe, np. fenicyna, jawanicyna czy fumigatyna. Drugą grupę stanowią

² V. G. Lilly, H. L. Barnett, *Fizjologia grzybów*, Warszawa 1959, s. 318—320; M. Alexander, *Ekologia mikroorganizmów*, Warszawa 1975.

³ Świadczą o tym liczne przykłady bardzo zniszczonych obiektów zabytkowych, jak i uzyskane laboratoryjnie próbki papieru do badań, np. wytypowany szczep *Penicillium* sp. przebarwiając podłoże powodował bardzo silną jego destrukcję do tego stopnia, że pierwsze krążki bibuły ulegały całkowitemu zniszczeniu. Szczep *Fusarium* sp. i *Epicoccum* sp. silnie przebarwiał papier próbki nie powodując jej zniszczenia.

⁴ I. P. Niukša, *Mikrobiologia i fitopatologia*, Akad. Nauk SSSR, 3, 463 (1969); J. Wolf, R. Kowalik, *Barwniki mikroorganizmów*, Wiadomości Chemiczne, 9—10, 1950.

⁵ V. G. Lilly, H. L. Barnett, op. cit., s. 319; J. Wolf, R. Kowalik, op. cit.; W. P. Brian, *The ecological of antibiotic production*, 1957; V. J. Bilai, *Antibiotic — Producing Microscopic Fungi*, London 1963.

⁶ V. J. Bilai, op. cit.; *Antybiotyki. Aktualny stan wiedzy*, pod red. W. Kuryłowicza, Warszawa 1979, s. 20—30.

⁷ B. Bobrański, *Chemia organiczna*, Warszawa 1964, s. 355.

karotenoidy⁸. Trzecią grupę stanowią żółte barwniki flawonowe i antocyjanidyny⁹. Do tej ostatniej grupy należą barwniki czerwone, fioletowe i niebieskie mające charakter indykatorów¹⁰. Jeszcze inny rodzaj barwników, to barwniki melaninowe odpowiedzialne za dużą odporność organizmów na czynniki środowiska¹¹.

Tak niezwykła różnorodność substancji barwnych wytwarzanych przez grzyby stwarza poważne trudności dla badaczy. Poszczególne opracowania zajmują się problemem barwności związków i barwników, rozpatrując te substancje głównie od strony roli, jaką mają do spełnienia w życiu danej grupy mikroorganizmów. Próbę omówienia i zestawienia typowych plam barwnych w zależności od wyizolowanych mikroorganizmów podjęli m.in. R. Kowalik i współpracownicy¹². Jest to jednak zestawienie orientacyjne, ponieważ poszczególne szczepy grzybów mogą wytwarzać różne substancje barwne w zależności od składu chemicznego podłoża i mieszaniny kultur na nim żyjących, na co zwraca uwagę wielu autorów, m.in. M. Alexander w pracy *Ekologia mikroorganizmów* (Warszawa 1975).

Do usuwania zaplamień grzybowych z papieru zabytkowego praktyka konserwatorska poleca stosowanie metod opartych na wybielaniu papieru różnego rodzaju środkami, modyfikując jedynie sposoby ich użycia¹³. Sprawia to, że metody te mogą być stosowane głównie do obiektów o nierozpuszczalnej w wodzie warstwie malarskiej, której nie szkodzi długotrwałe przebywanie w roztworach wodnych. Literatura konserwatorska wspomina o możliwości zastosowania alkoholu do usuwania zaplamień spowodowanych działalnością mikroorganizmów. Autorzy jednak nie podejmują systematycznych badań na ten temat. Wykorzystanie rozpuszczalników organicznych do usuwania zaplamień grzybowych pozwalałoby tymczasem na wykorzystanie zabiegów „mokrych” także do tego celu. W świetle literatury mikrobiologicznej i biochemicznej wydaje się to możliwe. W związku z tym podjęto próbę sprawdzenia efektywności niektórych rozpuszczalników organicznych,

⁸ K. Blaim, *Barwniki roślinne*, Warszawa 1967; P. Strebeyko, *Fotobiologia*, Warszawa 1971, s. 77; J. Wolf, R. Kowalik, op. cit.

⁹ P. Strebeyko, op. cit., s. 79; D. D. Davies, J. Giovanelli, T. ap Rees, *Biochemia roślin*, Warszawa 1969, s. 399.

¹⁰ P. Strebeyko, op. cit.; D. D. Davies, op. cit.; J. Wolf, R. Kowalik, op. cit.

¹¹ M. Alexander, op. cit., s. 454; G. C. Ainsworth, A. S. Sussman, *The Fungi*, 3, New York 1968, s. 447—486.

¹² R. Kowalik, J. Sadurska, E. Czerwińska, *Zniszczenia papieru wywołane przez mikroflorę. Środki zapobiegawcze*, Blok Notes, M. M. 2/62/1; B. Zyska, *Mikrobiologiczna korozja materiałów*, Warszawa 1977.

¹³ G. M. Cunha, P. G. Cunha, *Conservation of Library Materials*, New York 1971; Y. P. Kathpalia, *Deterioration and conservation of paper*, Indian Pulp and Paper, 1960; F. Fliedner, *La Conservation des Documents Graphiques*, Paris 1969 i inni.

stosując metody wypróbowane w konserwacji zabytków (tamponowanie, kąpiele). W tym celu na podstawie literatury wybrano rozpuszczalniki organiczne najczęściej używane w procesach ekstrakowania substancji barwnych. Celem pracy było więc zbadanie, czy pod wpływem wytypowanych rozpuszczalników organicznych można usunąć zaplamienia grzybowe z papieru metodami stosowanymi w konserwacji zabytków.

MATERIAŁY I METODY BADAŃ

Grzyby powodujące zaplamienia wyodrębniono z książek i map zakażonych mikroorganizmami ze śladami przebarwień papieru. Wybrane obiekty pochodziły z różnych okresów od XVI do XIX w.

WYODRĘBNIANIE Z OBIEKTÓW ZABYTKOWYCH GRZYBÓW POWODUJĄCYCH ZAPLAMIENTA PAPIERU

Wysiewów dokonywano metodą odciskową, dotykając miejsc zaatakowanych przez mikroorganizmy wyjałowionymi kwadracikami bibuły Whatmana nr I, które potem umieszczano w płytkach Petriego z pożywką z wyciągiem słodowym „Malto”. Po przeprowadzeniu selekcji wybrano tylko te kultury, które po całkowitym oczyszczeniu wytwarzały barwne plamy na papierze. Do badań wybrano następujące szczepy: *Aspergillus* sp., *Chaetomium cinnabarinum*, *Epicoccum* sp., *Penicillium* sp., *Trichoderma viride*, *Fusarium solani* oraz *Cladosporium* sp. i *Stemphylium* sp. Szczepy te przechowywano na skosach z podłożem słodowym „Malto”, przeszczepiając na nowe do każdej serii badań.

W celu uzyskania do badań próbek zaplamionego papieru hodowano wybrane szczepy grzybów w płytkach Petriego, w których umieszczano krążki bibuły Whatmana nr 1 o średnicy ± 8 cm przeklejone:

- 1,5% roztworem kleju skrobiowego z mąki pszennej;
- 1% roztworem kleju glutynowego sporządzonego z żelatyny;
- 0,5% roztworem metylocelulozy;
- nie przeklejone krążki bibuły.

Krążki te umieszczono w płytkach Petriego po 10 sztuk i nasączano płynną pożywką dla grzybów błonnikowych (Aschan, Norkrans) w ilości 10 ml na płytkę¹⁴. Tak przygotowany materiał umieszczano w autoklawie i jałowiono w temperaturze 110°C przez 0,5 godziny. Krążki bibuły szczepiono zawiesiną zarodników wytrąsniętą w 5 ml wody jałowej z wyhodowanych na skosach szczepów. Przygotowane w ten sposób hodowle inkubowano 14 dni w temperaturze 28°C, z wy-

¹⁴ Skład pożywki według Aschan i Norkrans podaje: C. Szajer, A. Strzelczyk, E. Strzelczyk, *Metody badania aktywności celulolitycznej grzybów*, Warszawa 1969.

jątkiem *Cladosporium* sp., które rośło w świetle w temperaturze ok. 20°C. Po tym czasie krążki rozdzielano na trzy serie, z których każdą jałowiono inną metodą.

JAŁOWIENIE PRÓBEK ZAPLAMIONEGO PAPIERU

Próbki do badań jałowiono trzema sposobami: w autoklawie, przy pomocy par p-chloro-m-cresolu oraz przez gazowanie mieszaniną tlenu etylenu i dwutlenku węgla (Rotanox). Jałowanie w autoklawie wybrano ze względu na największą popularność tej metody w jałowieniu pożywek i próbek w przypadku przeprowadzania badań¹⁵. Druga metoda — użycie par p-chloro-m-cresolu (PCMC) — jest łatwa do zastosowania w praktyce konserwatorskiej i nie wymaga specjalnej aparatury¹⁶. Trzecia metoda to gazowanie w komorach próżniowych gazem Rotanox¹⁷. Metoda ta jest szczególnie zalecana do masowej dezynfekcji materiałów archiwalnych i bibliotecznych.

Wszystkimi trzema metodami jałowiono próbki przeklejone klejem skrobiowym. Próbki przeklejone metylocelulozą, klejem glutynowym i nie przeklejone jałowiono tylko jedną metodą, tzn. przez gazowanie Rotanoxem.

POSTARZANIE PRÓBEK ZAPLAMIONEGO PAPIERU

W celu określenia rozpuszczalności starych plam grzybowych, próbki zaplamionego papieru postarzano metodą określoną normami polskimi (PN-68/PL-50142), umieszczając je w temperaturze 102°C ± 3°C na okres 72 godzin. Badaniami tymi objęto próbki przeklejone klejem skrobiowym i jałowione Rotanoxem.

BADANIE ROZPUSZCZALNOŚCI BARWNIKÓW GRZYBOWYCH

Rozpuszczalnikami zastosowanymi do badań były: eter, metanol, etanol, aceton, chloroform, benzen, czterochlorek węgla, woda i eter naftowy¹⁸. Badanie rozpuszczalności barwników przeprowadzono następującymi metodami:

- a) ekstrahowanie barwnika w kąpeli na zimno;
- b) ekstrahowanie barwnika w kąpeli na ciepło;

¹⁵ Jałowanie w autoklawie odbywało się pod ciśnieniem 0,75 atm przez 30 minut.

¹⁶ Zaplamione krążki bibuły umieszczano pomiędzy bibułami filtracyjnymi nasyconymi uprzednio 10% roztworem PCMC w alkoholu i zaklejano szczelnie w worku foliowym na okres 14 dni. Por. A. Strzelczyk, H. Rosa, *Metody jałowienia akwarel i pastelii parami fungicydów*, Ochrona zabytków, 1, 1975.

¹⁷ Krążki zaplamionej bibuły jałowiono przez 24 godziny pod ciśnieniem 1 atm. gazem Rotanox w komorze próżniowej Biblioteki Głównej UMK.

¹⁸ Rozpuszczalników wymieniono w kolejności, w jakiej najczęściej występowały w literaturze biochemicznej dotyczącej pozyskiwania tego typu materiału do badań.

c) miejscowe wywabianie barwnika przy użyciu ciepłego rozpuszczalnika.

Ekstrahowanie na zimno przeprowadzono następująco: próbki zaplamionego papieru o powierzchni ok. 12,5 cm² umieszczano w małych naczynkach wagowych, zalewano 5 ml rozpuszczalnika i pozostawiano w tej kąpeli na okres trzech godzin (t° 20). Roztwór wyekstrahowanego barwnika grzybowego przelewano do probówek i szczelnie zamknięto gumowymi korkami. Po upływie godziny mierzono fotometrycznie wartość absorbcji światła poszczególnych roztworów aparatem „Specol

ZV” przy długości fali $E \frac{1}{385} - E \frac{1}{390}$. Badanie przeprowadzono w trzech powtórzeniach.

Ekstrahowanie na gorąco ograniczono do użycia dwóch rozpuszczalników (etanolu i metanolu) ze względu na szkodliwość i szybkość parowania pozostałych. Próbki zalewano 5 ml rozpuszczalnika i umieszczano na stoliczku mieszadła magnetycznego o temperaturze 70—80°C. Rozpuszczalnik doprowadzano do wrzenia i pozostawiano w nim próbkę przez 15 minut. Następnie roztwór przelewano do cylindra miarowego i dopełniano rozpuszczalnikiem do 5 ml. Po upływie godziny mierzono wartość absorbcji światła przenikającego przez badany roztwór.

Miejscowe wywabianie barwnika przeprowadzano następująco: krążek zaplamionej bibuły układano na ligninie umieszczonej na stoliczku mieszadła magnetycznego nagrzanego do temperatury 70—80°C. Na krążek nanoszono kroplomierzem rozpuszczalnik w ilości 20 kropeł, stale kontrolując temperaturę. Podatność na wywabianie plamy stwierdzano na podstawie tworzenia się zacieku na krążku. Zaciek świadczył o przechodzeniu barwnika do roztworu.

BADANIE ROZPUSZCZALNOŚCI BARWNIKÓW GRZYBOWYCH
Z PROBEK PAPIERU PRZEKLEJONYCH KLEJEM GLUTYNOWYM,
METYLOCELULOZĄ ORAZ PROBEK NIE PRZEKLEJONYCH

Z opisanych wyżej metod ekstrahowania barwników wybrano do badania kąpiel w ciepłym etanolu. Próbki zaplamionego papieru umieszczano w naczyniu z ciepłym etanolem (t°C 65) i pozostawiano na rozgrzanym stoliczku mieszadła przez 30 minut. Następnie próbki przenoszono na bibułę filtracyjną, celem osuszenia i ponownie płukano w ciepłym etanolu. Efekt usunięcia barwnego zaplamienia określano porównując próbki papieru z kontrolą, z której nie usuwano barwnika. Badań fotometrycznych wyekstrahowanych barwników nie przeprowadzano ze względu na bardzo różny stopień zaplamienia krążków papieru w zależności od użytego przeklejenia.

BADANIE PODATNOŚCI PLAM GRZYBOWYCH NA WYBIELANIE CHLORAMINĄ T

Dla porównania efektywności opisanych wyżej metod usuwania zaplamień z metodą wybielania wybrano wybielanie chloraminą T, jako najłagodniejszy sposób usuwania plam grzybowych. Zastosowano 2% roztwór chloraminy T. Próbkę wybielano przez tamponowanie plamy roztworem chloraminy T w temperaturze 30°C do momentu zaobserwowania braku zmian w zabarwieniu plamy (ok. 30 minut). W przypadku braku wyraźnych efektów dalsze wybielanie prowadzono zakwaszonym (10% roztworem kwasu cytrynowego) roztworem chloraminy T w proporcji 1:3, aż do uzyskania maksymalnego stopnia wybielenia. Następnie, po dokładnym wypłukaniu, przenoszono próbkę do 1% roztworu tiosiarczanu sodowego i pozostawiano na jedną godzinę w celu neutralizacji aktywnego chloru. Po końcowym wypłukaniu w wodzie destylowanej próbki suszono na bibułach.

WYNIKI BADAŃ

1. Wybrane do badań grzyby należące do różnych gatunków, barwiły próbki papieru na różne kolory.

Aspergillus sp. przebarwiał papier na kolor żółty do brązowego, a najlepszymi rozpuszczalnikami tych plam były metanol, etanol i chloroform. Ekstrakcja barwnika zachodziła najlepiej po wyjałowieniu próbek Rotanoxem.

Epicoccum sp. wytwarzało silnie barwiące związki o kolorze pomarańczowym, powodujące nieregularne plamy na papierze. Barwnik wytwarzany przez ten szczep okazał się bardzo podatny na działanie rozpuszczalników organicznych. Najlepszymi rozpuszczalnikami były metanol, etanol, aceton i eter. Efekt wywabiania plam był zadowalający w przypadku czystych kultur. W kulturach mieszanych, w pobliżu zakażeń barwnik ekstrahowany był tylko częściowo. Pozostawały zaplamienia po innych grzybach.

Chaetomium sp. barwiło papier na kolor żółty, brązowy lub szary. Najlepsze wyniki ekstrakcji uzyskano stosując metanol i etanol. Zabarwienie próbek wzrastało z jasnożółtego do intensywnie żółtego, gdy poddawano je jałowieniu parami PCMC. Plamy te były usuwalne z papieru w stopniu zadowalającym z próbek, na których grzyb ten nie zdążył wytworzyć ciał owocujących.

Trichoderma viride wytwarzała intensywnie żółte plamy, jednorodnie przebarwiające podłoże i dające się stosunkowo łatwo usunąć w metanolu, etanolu i acetonie. Podobnie jak u *Chaetomium* sp., jałowienie parami PCMC wpływało na wzrost intensywności zabarwienia plamy na papierze. Całkowite usunięcie plam było możliwe tylko z próbek nie postarzonych.

Penicillium sp. barwiło papier na kolory różowy i żółty. Silnie sklejało próbki papieru, nawet w czasie krótkiej inkubacji. Powodowało to spadek własności wytrzymałościowych papieru do zera. Barwniki wytwarzane przez ten szczep *Penicillium* były odporne na działanie rozpuszczalników organicznych. Metoda jałowienia i temperatura rozpuszczalnika nie miały wpływu na ilość wyekstrahowanego barwnika. Badanie utrudniało znacznie zmętnienie rozpuszczalnika, które było wynikiem dużej ilości zarodników wytwarzanych przez ten szczep oraz silnej destrukcji papieru, powodującej odrywanie się drobin włókien celulozowych. Tłumaczy to podwyższenie niektórych wartości ekstynkcyj, mimo że barwnik trudno przechodził do roztworu rozpuszczalnika.

Fusarium sp. barwiło papier na różowo do ciemnoniebieskiego. Powstałe plamy były nieregularne o nierównej intensywności. Barwne substancje produkowane przez *Fusarium* sp. okazały się bardzo trudne do usunięcia z papieru przez rozpuszczanie. Żaden z zastosowanych rozpuszczalników organicznych nie dał pozytywnych wyników. Rozpuszczalność barwnika wzrastała nieznacznie w próbkach sztucznie postarzonych.

Cladosporium sp. i *Stemphylium* sp. barwiły bibułę na kolory szaro-czarne. Obydwa szczepy okazały się odporne na działanie rozpuszczalników organicznych. Metoda jałowienia i temperatura rozpuszczalnika nie miały wpływu na stopień ekstrakcji barwnej substancji wytwarzanej przez te grzyby. Wysokie wartości ekstynkcyj dla próbek zaplamionego papieru poddanych sztucznemu postarzeniu są prawdopodobnie wynikiem wypłukania innych substancji z papieru, który w czasie postarzenia uległ przyspieszonemu zniszczeniu.

Badania przeprowadzone na grzybach należących do różnych rodzajów wykazały, że metoda stosowania rozpuszczalników organicznych w celu rozpuszczania barwników grzybowych daje tylko częściowe efekty. Efekty te są podobne do otrzymanych podczas wybielania Chloraminą T. Rozpuszczeniu ulegają tylko te substancje barwne, które z grzybni były wydzielane do podłoża.

Grzyby z rodziny sadzakowatych (*Cladosporium* sp. i *Stemphylium* sp.), przebarwiające papier przez wnikanie doń zabarwionych strzępek, nie poddawały się żadnym metodom usuwania zaplamień¹⁹. Barwnik zamknięty w komórkach grzybni nie dał się wyekstrahować za pomocą rozpuszczalników organicznych.

Barwniki wytwarzane w mieszaninach kultur były trudniej usuwalne niż substancje barwne wytwarzane przez kultury czyste. Barwniki w tych przypadkach były znacznie trwalsze i nie ulegały rozpuszczeniu w rozpuszczalnikach organicznych ani wybielaniu chloraminą T.

¹⁹ Por. B. Kruszewska, Badania nad możliwością usuwania z papieru zaplamień grzybowych wywołanych działalnością grzyków z rodziny sadzakowatych (Dematiaceae), Zakład Konserwacji Papieru i Skóry UMK, 1980.

Na efekt usunięcia zaplamienia duży wpływ miała obecność ciał owocujących grzybów, np. *Chaetomium* sp. Wybielanie jako metoda usuwania zaplamień dało lepsze wyniki jedynie w przypadku plam spowodowanych przez *Fusarium* sp. Nierównomierne zabarwienie próbki wyrównywało się i było jaśniejsze niż w przypadkach poddanych działaniu rozpuszczalników organicznych.

Ekstrakcja barwnika z próbek poddanych sztucznemu postarzeniu była mniej więcej dwukrotnie mniejsza od tej z próbek nie poddanych starzeniu. Z badanych rozpuszczalników najlepsze wyniki uzyskiwano stosując metanol, etanol i aceton.

2. W niektórych przypadkach rodzaj przeklejenia papieru wpływał na zmianę zabarwienia plamy powstającej na próbce. *Chaetomium* sp. barwiło papier przeklejony klejem glutynowym na kolor cytrynowożółty, silnie owocując na powierzchni krążka. Na krążkach przeklejonych metylocelulozą wzrost był nikły, a plamy od jasnożółtych do brązowych. Ekstrakcja próbki papieru zaplamionego przez *Chaetomium* sp. w ciepłym roztworze etanolu pozwoliła usunąć barwnik całkowicie z bibuły przeklejonej klejem glutynowym, częściowo z bibuły przeklejonej metylocelulozą i nie przyklejonej. Na tych ostatnich pozostały brązowe plamy. Wzrost *Fusarium* sp. na próbce przeklejonej klejem glutynowym był silny, o kolorze niebieskofioletowym. Próbki przeklejone metylocelulozą, *Fusarium* sp. barwiło śladowo. Rodzaj przeklejenia papieru nie miał istotnego wpływu na usuwanie barwnika z zaplamionego papieru. Miał natomiast istotny wpływ na rodzaj i natężenie tego zaplamienia.

3. Próby miejscowego wywabiania zaplamień przy pomocy ciepłego rozpuszczalnika dały wyniki podobne do opisanych w punkcie 1. Barwne zacieki tworzyły się tylko w przypadku gatunków grzybów wydzielających barwne substancje do podłoża, np. *Asperillus* sp.

4. Badanie rozpuszczalności barwników grzybowych w ciepłych rozpuszczalnikach wykazało, że temperatura nie ma większego wpływu na efekt rozpuszczania (tab. 2). Na poprawienie rozpuszczalności wpływa tylko nieznacznie. Daje to możliwość stosowania zimnych kąpiei w rozpuszczalnikach, co jest mniej szkodliwe dla przeprowadzającego zabieg.

5. Stwierdzono ponadto, że jałowienie zabytków na papierze ma duży wpływ na usuwalność zaplamień powodowanych przez grzyby. Jałowienie w autoklawie wpływa znacznie na obniżenie rozpuszczalności barwników grzybowych w rozpuszczalnikach organicznych. Zjawisko to ma miejsce również podczas usuwania zaplamień metodą wybielania. Z tego względu należałoby zrezygnować z tej metody jałowienia w badaniach prowadzonych dla potrzeb konserwacji zabytków.

Jałowienie parami PCMC, metoda stosowana w praktyce konserwatorskiej, u niektórych gatunków grzybów powoduje wzrost intensywności zabarwienia plam. Stwierdzono również niekorzystny wpływ tej metody jałowienia na wybielanie plam pleśniowych. Plamy te trudniej

Tabela 2

Badanie rozpuszczalności barwników grzybowych
w ciepłych roztworach rozpuszczalników

Rodzaj grzyba	Rozpuszczalnik Temp. 70°C	Sposób jałowienia próbek papieru			
		autoklaw	pary PCMC	Rotanox	Rotanox postarzone
<i>Aspergillus sp.</i>	metanol	—	—	0,105	0,100
	etanol	—	—	0,132	0,132
<i>Epicoccum sp.</i>	metanol	0,255	0,980	2,0	0,597
	etanol	0,405	1,505	1,900	0,440
<i>Chaetomium sp.</i>	metanol	0,117	0,302	0,277	0,127
	etanol	0,135	0,287	0,440	0,337
<i>Trichoderma sp.</i>	metanol	0,025	0,185	0,205	0,135
	etanol	0,047	0,222	0,210	0,215
<i>Penicillium sp.</i>	metanol	0,045	0,070	0,050	0,137
	etanol	0,065	0,107	0,100	0,165
<i>Fusarium sp.</i>	metanol	0,025	0,042	0,035	0,060
	etanol	0,040	0,050	0,072	0,097
<i>Cladosporium sp.</i>	metanol	0,007	0,015	0,007	0,242
	etanol	0,017	0,015	0,015	0,262
<i>Stemphylium sp.</i>	metanol	0,027	0,050	0,045	0,110
	etanol	0,055	0,045	0,100	0,180

Wyniki podane w tabeli są wartościami względnymi wyrażonymi jako pomiar absorpcji światła w warunkach E $\frac{1}{390}$, z trzech powtórzeń.

ulegają wybieleniu i nie dają się usunąć w takim stopniu jak plamy z próbek jałowionych Rotanoxem. Przy zastosowaniu metody rozpuszczania barwników w rozpuszczalnikach organicznych stwierdzono wzrost rozpuszczalności barwników poddanych jałowieniu parami PCMC z wyjątkiem metanolu, etanolu i eteru naftowego. Nie był to jednak znaczący wzrost rozpuszczalności tych barwników.

Najlepsze efekty daje więc rozpuszczanie barwników grzybowych w metanolu i etanolu po jałowieniu Rotanoxem — niezależnie od sposobu przeklejenia papieru.

Przeprowadzone badania są jedynie wstępną próbą rozwiązania problemu usuwania zaplamień grzybowych z papieru zabytkowego, problemu ważnego dla teorii i praktyki konserwatorskiej. Wyniki tych badań zostały wykorzystane w trakcie konserwacji między innymi atlasu świata *Novus Atlas* Johanna de Blaeu z 1647 r.²⁰ Zastosowano tam tampo-nowanie miejsc zaplamionych przez grzyby ciepłym alkoholem przed przystąpieniem do wybielania tych plam chloraminą T. Okazało się, że

²⁰ D. Jurczyga, Dokumentacja Konserwatorska atlasu „Novus Atlas” (1647), Zakład Konserwacji Papieru i Skóry UMK, 1982.

uzyskano znacznie lepsze efekty usunięcia zaplamień w późniejszych kąpielach wodnych niż przy użyciu samego rozpuszczalnika czy tylko roztworu chloraminy T w alkoholu. Szczególnie dobre efekty uzyskano usuwając tym sposobem różowoczerwone plamy spowodowane prawdopodobnie przez *Fusarium* sp. Tak więc, mimo że rozpuszczanie barwników grzybowych przez rozpuszczalniki organiczne nie daje pełnych efektów i że samo w sobie nie stanowi skutecznej metody na usuwanie zaplamień grzybowych, zdaje się być bardzo pomocne i dające dobre efekty w połączeniu z tradycyjnymi metodami usuwania takich zaplamień.

Dla praktyki konserwatorskiej istotne wydają się również wnioski dotyczące zależności intensywności zabarwień od sposobu przeklejenia papieru. Uzyskane wyniki potwierdzają stosowaną przez konserwatorów papieru zasadę unikania w konserwacji środków mogących powodować wtórne zniszczenia. Użycie np. żelatyny do przeklejenia papieru może w niesprzyjających warunkach i przy ponownym ataku mikroorganizmów powodować o wiele silniejsze przebarwienia, niż gdyby zastosowano do tego celu metylocelulozę. Metyloceluloza bowiem, jak to wykazały powyżej opisane badania, nawet przy intensywnym wzroście grzybów nie sprzyja produkowaniu przez nie substancji barwnych, a tym samym zaplamienie papieru jest o wiele mniejsze.

Należałoby również zwrócić uwagę na sposób dezynfekcji obiektów przed konserwacją, ponieważ użycie par PCMC wymaga intensywności zabarwienia plam grzybowych i działa na nie jak gdyby „utrwalająco”.

WNIOSKI

1. Plamy pochodzące z różnych gatunków grzybów dają się tylko w pewnym stopniu usunąć metodą ekstrakcji w rozpuszczalnikach organicznych.

2. Najlepiej usuwalne były plamy z próbek papieru zaplamionych przez *Epicoccum* sp., *Chaetomium* sp. i *Trichoderma* sp. Nieusuwalne okazały się plamy będące wynikiem przerastania papieru przez grzyby sadzakowate (*Cladosporium* sp., *Stemphylium* sp.).

3. Najlepsze wyniki uzyskano stosując do ekstrakcji metanol, etanol i aceton. Rozpuszczalność plam w ciepłych rozpuszczalnikach wzrastała tylko w nieznacznym stopniu.

4. Plamy grzybowe trudno usuwalne metodą ekstrakcji w rozpuszczalnikach organicznych nie dawały się również usunąć przez wybielanie chloraminą T (nawet po zakwaszeniu roztworu chloraminy T).

5. Jałowienie Rotanoxem nie miało wpływu na rozpuszczalność barwników grzybowych. Jałowienie w parach PCMC powodowało nasilenie zaplamiania i nieznacznie obniżało rozpuszczalność.

6. Rodzaj przeklejenia papieru miał wpływ jedynie na stopień (intensywność) zaplamienia papieru próbki, nie wpływał natomiast na rozpuszczalność barwników.

7. W praktyce konserwatorskiej zaleca się tamponowanie plam grzybowych ciepłym etanolem przed przystąpieniem do właściwych zabiegów konserwatorskich, np. wybielania chloraminą T, co pozwoli na uzyskanie lepszych efektów usuwania tego typu zaplamień.

*
* *

Dziękuję pani prof. dr hab. Alicji Strzelczyk za życzliwą opiekę i pomoc w przeprowadzeniu i opracowaniu omówionych badań.

AN ATTEMPT OF FUNGHI STAINS REMOVAL FROM HISTORICAL PAPER

Summary

The removal of funghi stains from historical paper is one of the most difficult conservation treatments. So far, bleaching reveals the most efficient method to remove these stains, at least to a certain degree.

In the present work, a trial of application of organic solvents to remove stains of this type has been reported. This seemed to be possible on the basis of the data quoted in biochemical publications, where several examples can be found of the use of organic solvents to obtain funghi dyes as testing material.

The experimental results, presented partly in table form, allowed to conclude the following:

1. Stains originating from various species of funghi can be removed by means of organic solvents, only with a partial efficiency.

2. Stains of *Epicoccum* sp., *Chaetomium* sp. and *Trichoderma* sp. appeared the easiest to be removed. The stains due to paper overgrowth by *Dematiaceae* (*Cladosporium* sp., *Stemphylium* sp.) are not prone to be removed.

3. The best results were obtained with the use of methanol, ethanol and acetone for extraction. The application of heated solvents has improved the stains solubility only in a moderate degree.

4. Funghi stains hardly removable in organic solvents were impossible to remove by bleaching with chloramine T, in spite of acidification of the solution.

5. Sterilization by Rotanox had no effect on the solubility of funghi dyes. Sterilization in the vapours of PCMC made the stains more pronounced, and slightly reduced their solubility.

6. The type of paper sizing influences the number and intensity of stains on paper sample, and does not affect the solubility of dyes.

7. In the conservation practice, tamponage of funghi stains with heated ethanol is advised previously to the proper restoration treatment, e.g. bleaching with chloramine T, which allows to improve the efficiency of removal of this type of stains.