



You have downloaded a document from
RE-BUŚ
repository of the University of Silesia in Katowice

Title: Wprowadzenie nowej generacji biocydów jako środków chemicznych do dezynfekcji zabytkowej kolekcji bibliotecznej

Author: Agnieszka Bangrowska

Citation style: Bangrowska Agnieszka. (2017). Wprowadzenie nowej generacji biocydów jako środków chemicznych do dezynfekcji zabytkowej kolekcji bibliotecznej. "Bibliotheca Nostra. Śląski Kwartalnik Naukowy" (2017, nr 1, s. 114-124).



Uznanie autorstwa - Na tych samych warunkach - Licencja ta pozwala na kopiowanie, zmienianie, rozprowadzanie, przedstawianie i wykonywanie utworu tak długo, jak tylko na utwory zależne będzie udzielana taka sama licencja.



UNIwersYTET ŚLĄSKI
W KATOWICACH



Biblioteka
Uniwersytetu Śląskiego



Ministerstwo Nauki
i Szkolnictwa Wyższego

WPROWADZENIE NOWEJ GENERACJI BIOCYDÓW JAKO ŚRODKÓW CHEMICZNYCH DO DEZYNFEKCJI ZABYTKOWEJ KOLEKCJI BIBLIOTECZNEJ

Wstęp

Substancje chemiczne i ich mieszaniny stosowane do ochrony roślin mogą być wykorzystane również jako nowej generacji biocydy w jednostkowym zabezpieczeniu konserwatorskim zbiorów bibliotecznych przed mikroorganizmami. Związki chemiczne pochodne 1,2,4-triazolu to substancje biologicznie czynne, które powodują zaburzenie procesów fizjologicznych drobnoustrojów na skutek blokowania aktywności odpowiednich enzymów. Środki chemiczne, po uprzednim zarejestrowaniu, mogą być dopuszczone do użytkowania dopiero po sprawdzeniu ich skuteczności biologicznej w warunkach klimatycznych, a w przypadku mojego obszaru zainteresowania, w bibliotekach i magazynach. Istotnym elementem oceny przydatności związku chemicznego jest również jego toksyczny wpływ na ludzi, zwierzęta i środowisko. Pomimo różnych kontrowersji związanych z negatywnym oddziaływaniem na środowisko, środki te od wielu lat są bardzo skuteczną metodą zapobiegania zagrożeniom plonowania roślin, a co za tym idzie również bezpieczne dla człowieka i apieru (Cools i in., 2011, s. 3830-3837). W archiwach i bibliotekach są gromadzone materiały wykonane z papieru, skóry, pergaminu, takie jak akta, książki, czasopisma, ryciny itp. Przechowywanie ich w nieodpowiednich warunkach przyspiesza procesy starzenia, czyli zmiany właściwości fizycznych, mechanicznych i chemicznych zbiorów bibliotecznych. Zmiany wpływają z kolei na szybki rozwój mikroorganizmów, w tym głównie grzybów pleśniowych. Ich grzybnia może rozwijać się na różnych podłożach, pokrywając je barwnymi nalotami. Grzyby te występują w glebie, wodzie i powietrzu. Zarodniki znajdujące się w powietrzu i kurzu, po opadnięciu na podłoże, np. regały, zaczynają kiełkować pod wpływem niewielkiej

¹ Uniwersytet Śląski

ilości wilgoci, wytwarzając grzybnie, która rozrasta się, tworząc kolonie o wielkości od kilkunastu milimetrów do kilkudziesięciu centymetrów. Ponadto odżywiają się składnikami pokarmowymi pochodzącymi z klejów, skóry czy papieru. W pierwszej kolejności mikroby atakują oprawę grzbiet książki oraz wewnętrzne strony okładki przy wyklejkach i brzegach książki. Przy dużym nawilgoceniu grzyby wrastają w blok książki na taką odległość, na jakiej wystarcza im tlenu. Przy małej dostępności do tlenu następuje spowolnienie procesu destrukcji, jednak powstają przebarwienia, zacieki na papierze oraz deformacje książki. W przypadku bardzo mocnego zawilgocenia następuje duży wzrost mikroobów, co doprowadza do rozpadu bloku książki czy oprawy. Rozwój grzybów przyczynia się do sklejanego całego bloku książki przez substancje będące rozkładem celulozy czy innych składników w tym klejów. Podczas wysychania miejsca te stają się twarde, zdeformowane, odpadają od książki. Proces ten nazwany jest kamieniem książki i zachodzi w egzemplarzach wykonanych z materiału czerpanego. Innym przykładem rozkładu książki wykonanej z papieru czerpanego jak i drzewnego jest tzw. puszysta destrukcja. W tym procesie papier jest miękki, puszysty, a włókna celulozowe są zniszczone (Karbowska-Berent, Strzelczyk, 2004).

Metodyka badań

Celem artykułu były wstępne badania możliwości zastosowania 1,2,4-triazolu do zwalczania zagrożeń mikrobiologicznych występujących w zabytkowych kolekcjach bibliotecznych oraz obiektach indywidualnych. Materiały, z jakich zbudowana jest książka zabytkowa, sprawiają, że jest ona zagrożona szczególnie mikrobiologicznie przez infekcję chorób wirusowych i grzybowych. Jako modelową substancję w tych badaniach wybrano składnik aktywny o zwyczajowej nazwie tebukonazol, natomiast testowym materiałem grzybowym był patogen *Aspergillus Niger van Tieghem*, *Chaecetomium globosum*, *Penicillium chrysogenum*. Tebukonazol to racemiczna substancja stała, foto i termicznie stabilna, rozpuszczalna w polarnych rozpuszczalnikach organicznych, w tym w alkoholach. Mechanizm biologicznej aktywności tej grupy substancji, którą reprezentuje tebukonazol polega na inhibicji syntezy sterolowego alkoholu o nazwie ergosterol, odpowiedzialnego za selektywność błony komórkowej (Kraus, 1997, s. 17-30). Jego brak lub niedomiar w otoczeniu komórki tę selektywność zakłóca. Ponadto związki te wykazują niską toksyczność dla ssaków, a zaleganie prekursorów i ich metabolitów w środowisku naturalnym i ochranianym materiale nie stanowi dla nich zagrożenia przy zastosowanej prawidłowo agrotechnice (Peczul, Łacka2016, s. 1-6).

Część doświadczalna

Aby aktywność grzybobójczą tebukonazolu odnieść do zabytkowego materiału bibliotecznego, należy w pierwszej kolejności wykonać badania, pozwalające określić dla tej substancji wartość tzw. współczynnika ED_{50} w stosunku do wybranego grzybowego materiału testowego. Współczynnik ten wyznacza dawkę substancji aktywnej, przy zastosowaniu, której połowa zwalczanej populacji ulega zniszczeniu. Jej wartość liczbową stanowić będzie podstawę do sporządzenia cieczy roboczej o takim stężeniu, które zapewni skuteczne zwalczanie chorób grzybowych zabytkowego pergaminu, skóry, tkaniny czy papieru.

W celu wyznaczenia tego współczynnika przygotowano wiele stężeńowych izopropanolowych roztworów tebukonazolu. Roztwory te w objętości 1 cm^3 mieszano z 100 cm^3 pożywki, sporządzonej z agaru na brzeczce i wlewano do szalek Petriego. Na zestaloną pożywkę nakładano grzybnicę stanowiącą materiał testowy. Stężenia składnika aktywnego w odniesieniu do 1 cm^3 pożywki mieściły się w zakresie od 10^5 do 10^2 ng/cm^3 pożywki. Liniowy wzrost grzyba kontrolowano co 24 godz., aż do całkowitego porośnięcia szalki kontrolnej zawierającej zestaloną pożywkę z 1 cm^3 izopropanolu.

Wyniki badań i dyskusja

Aktywność grzybobójczą tebukonazolu wobec *Aspergillus Niger van Tieghem*, *Chaecetomium globosum*, *Penicillium Chrysogenum*, przedstawiono w formie współczynnika ED_{50} a uzyskane wyniki przedstawiono w tabelach 1-3.

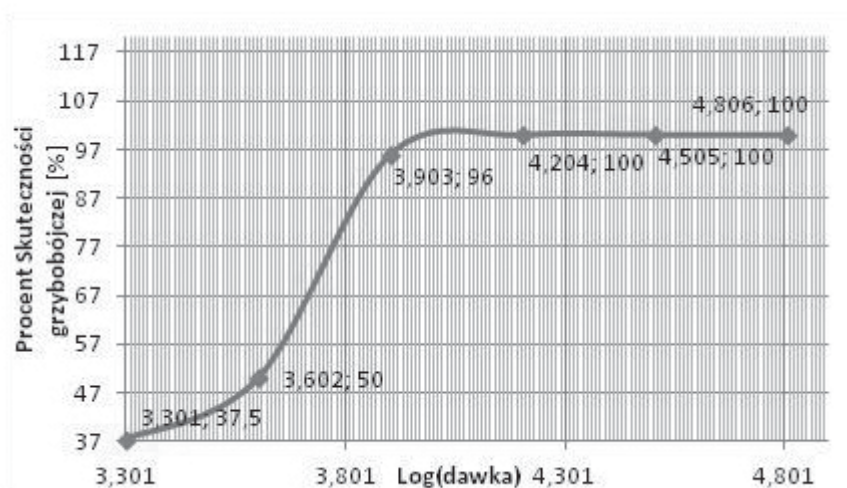
Dynamikę wzrostu grzyba testowego określono poprzez pomiar średnicy strefy wzrostu w próbce badanej i kontrolnej w milimetrach, a jego miarą ilościową jest stosunek różnicy strefy wzrostu z próbki kontrolnej i badanej do średnicy wzrostu w próbce kontrolnej wyrażony w procentach. Do wyznaczenia współczynnika ED_{50} wykorzystano metodę graficzną Lietchfielda i Wilcoxon dla uproszczonej funkcji logarytmiczno-probitowej, ekstrapolując dawkę z punktu na krzywej na poziomie 50% skuteczności (Litchfield, Wilcoxon, 1949, s. 99-113). Zależność skuteczności działania tebukonazolu od zastosowanej dawki przedstawiono na rys. 1-2.

Korzystając z prezentowanego wykresu odczytano wartość dawki w postaci logarytmicznej, dla której 50% populacji uległo zniszczeniu. Wynosi ona 3,602 i odpowiada stężeniu $4,0 \times 10^3\text{ ng/cm}^3$ pożywki, która jest naszym wyznaczonym współczynnikiem ED_{50} . Taką dawkę tebukonazolu w 100 cm^3 pożywki uzyskać można, wprowadzając do niej 1 cm^3 roztworu tej substancji w izopropanolu o stężeniu rzędu 0,04%.

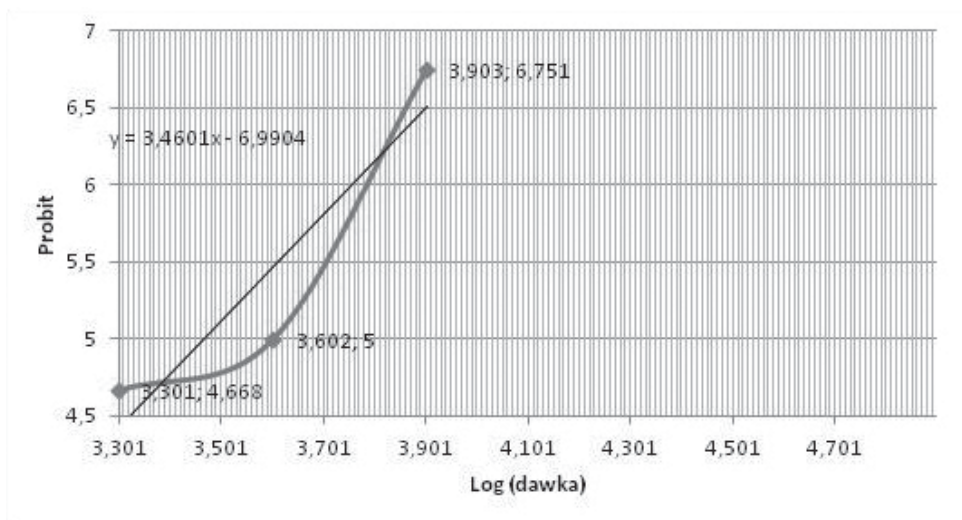
Tabela 1. Aktywność grzybobójcza badanej substancji na *Aspergillus Niger van Tieghem*

Dawka [ng/cm ³]	Log dawki	Średnia wartość średnicy wzrostu grzybni [mm]	Procent skuteczności grzybobójczej [%]	Probit	Ułamek śmiertelności grzybni	Wzór wartości funkcji probit dla danej w kolumnie 6 "=ROZKŁAD.NORMALNY. S.ODW(x)+5"
2000	3,301	15	37,5	4,668	0,375	4,681
4000	3,602	12	50	5	0,5	5
8000	3,903	1	96	6,751	0,96	6,751
16000	4,204	-	100	-	1	-
32000	4,505	-	100	-	1	-
64000	4,806	-	100	-	1	-

Źródło: opracowanie własne



II. 1a. Zależność skuteczności działania tebukonazolu od zastosowanej dawki w *Aspergillus Niger van Tieghem*. Źródło: opracowanie własne

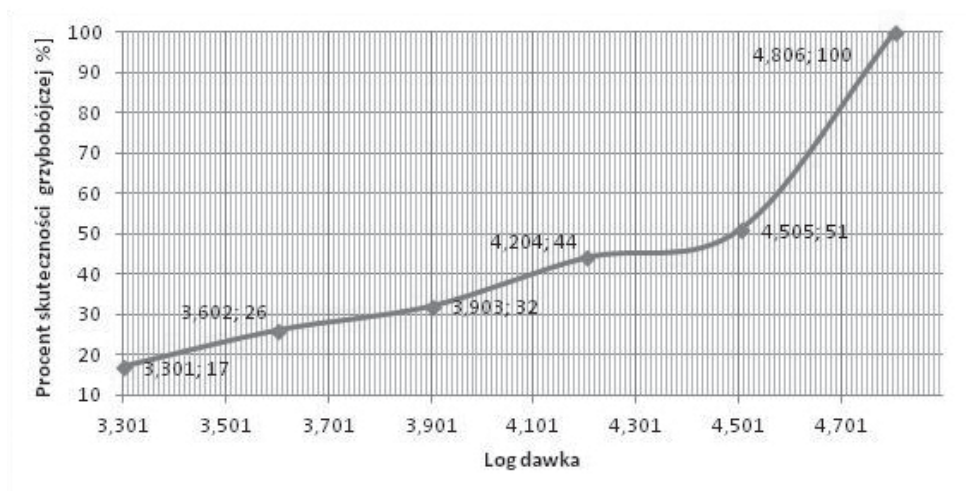


II. 1b. Wykres funkcji logarytmiczno-probitowej. Źródło: opracowanie własne

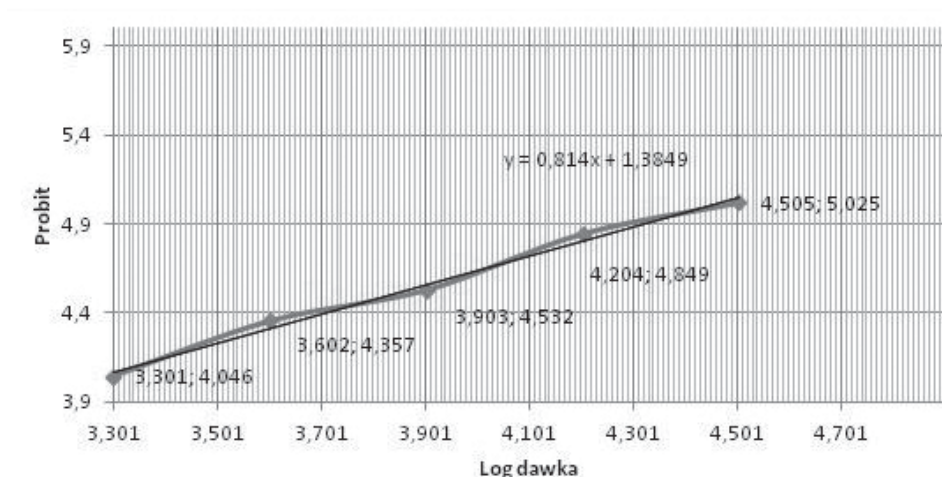
Tabela 2. Aktywność grzybobójcza badanej substancji na *Chaecetomium globosum*

Dawka [ng/cm ³]	Log dawki	Średnia wartość średnicy wzrostu grzybnii [mm]	Procent skuteczności grzybobójczej [%]	Probit	Ułamek śmiertelności grzybnii	Wzór wartości funkcji probit dla danej w kolumnie 6 "=ROZKŁAD.NORMALNY. S.OBW(x)+5"
2000	3,301	45	17	4,046	0,17	4,046
4000	3,602	40	26	4,357	0,26	4,357
8000	3,903	37	32	4,532	0,32	4,532
16000	4,204	30	44	4,849	0,44	4,849
32000	4,505	26,2	51	5,025	0,51	5,025
64000	4,806	-	100	-	1	-

Źródło: opracowanie własne



II. 2a. Zależność skuteczności działania tebukonazolu od zastosowanej dawki w *Chaetomium globosum*. Źródło: opracowanie własne



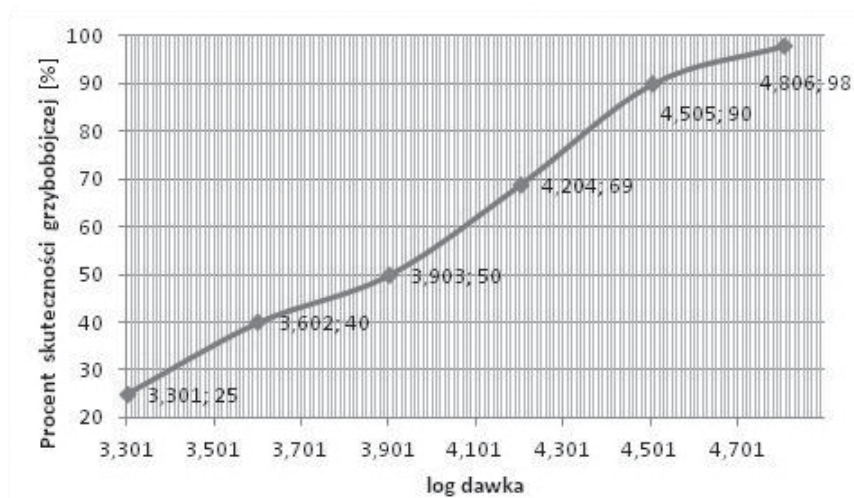
II. 2b. Wykres funkcji logarytmiczno-probitowej. Źródło: opracowanie własne

Z wykresu odczytano wartość dawki w postaci logarytmicznej, dla której 50% populacji uległo zniszczeniu. Wynosi ona 4,500 i odpowiada stężeniu $32,0 \times 10^3 \text{ ng/cm}^3$ pożywki, która jest naszym wyznaczonym współczynnikiem ED_{50} . Taką dawkę tebukonazolu w 100 cm^3 pożywki uzyskać można, wprowadzając do niej 1 cm^3 roztworu tej substancji w izopropanolu o stężeniu rzędu 0,37%.

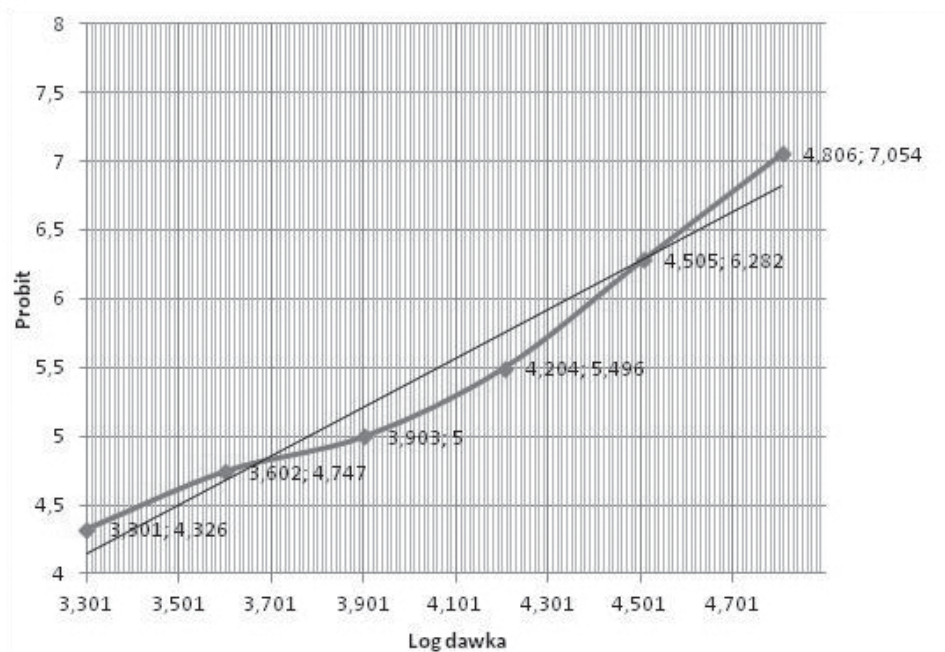
Tabela 3. Aktywność grzybobójcza badanej substancji na *Penicillium Chrysogenum*

Dawka [ng/cm ³]	Log dawki	Średnia wartość średnicy wzrostu grzybnii [mm]	Procent skuteczności grzybobójczej [%]	Probit	Ułamek śmiertelności grzybnii	Wzór wartości funkcji probit dla danej w kolumnie 6 "=ROZKŁAD.NORMALNY. S.ODW(x)+5"
2000	3,301	30	25	4,326	0,25	4,326
4000	3,602	24	40	4,747	0,4	4,747
8000	3,903	20	50	5	0,5	5,000
16000	4,204	12,5	69	5,496	0,69	5,496
32000	4,505	4	90	6,282	0,90	6,282
64000	4,806	1	98	7,054	0,98	7,054

Źródło: opracowanie własne



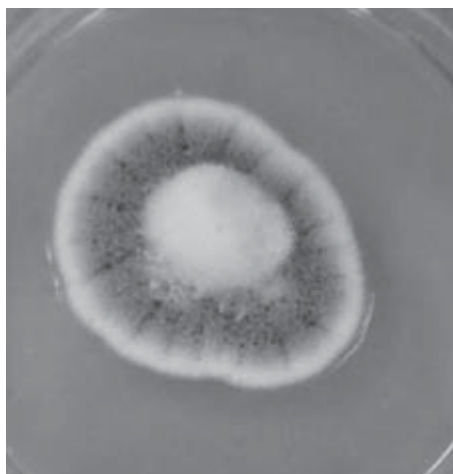
II. 3a. Zależność skuteczności działania tebukonazolu od zastosowanej dawki w *Penicillium Chrysogenum*. Źródło: opracowanie własne



II. 3b. Wykres funkcji logarytmiczno-probitowej. Źródło: opracowanie własne

Z kolei z wykresu trzeciego również odczytano wartość dawki w postaci logarytmicznej, dla której 50% populacji uległo zniszczeniu. Wynosi ona 3,903 i odpowiada stężeniu $8,0 \times 10^3$ ng/cm³ pożywki, która jest naszym wyznaczonym współczynnikiem ED₅₀. Taką dawkę tebukonazolu w 100 cm³ pożywki uzyskać można, wprowadzając do niej 1 cm³ roztworu tej substancji w izopropanolu o stężeniu rzędu 0,1 %. Tak wyznaczone wartości są podstawą do dalszych badań nad skutecznością działania tebukonazolu w roztworze izopropanolu jako cieczy roboczej do opryskowej lub kontaktowej metody zabezpieczania powierzchni ochranianego materiału. Otrzymane wyniki pozwoliły na określenie stopnia wrażliwości poszczególnych patogenów na działanie tebukonazolu o określonym jego stężeniu. Już dawka rzędu 0,04% zabija 50% populacji *Aspergillus Niger van Tieghem*, rzędu 0,1% populacji *Penicillium Chrysogenum* i 0,37% *Chaecetomium globosum*. Większe stężenie roztworu tebukonazolu w izopropanolu należy sporządzić jako ciecz roboczą do zniszczenia *Chaecetomium globosum*.

Modelowy przykład dynamiki liniowego wzrostu grzybowego materiału testowego prezentuje il1. Odnosi się do dawki tebukonazolu rzędu $2,0 \times 10^3$ ng/cm³ pożywki i okresu inkubacji 7 x 24 h.



II. 4. Liniowy wzrost po 7 dniach inkubacji *Penicillium Chrysogenum*. Fot. A. Bangrowska

Wnioski

Prezentowane wyniki traktować należy jako wstęp do dalszych badań nad wykorzystaniem tebukonazolu jako reprezentanta pewnej grupy fungicydów w ochronie zabytkowego materiału bibliotecznego. Wybór tej substancji wynika nie tylko z jego aktywności biologicznej, ale i stabilności fizykochemicznej oraz faktu, że jego potencjalne metabolity nie są produktami o charakterze kwasowym. Pozwoli to na zastosowanie środka dezynfekcyjnego do pojedynczych unikatowych obiektów bibliecznych. Ponadto aby ocenić stopień zagrożenia toksykologicznego użytkownika obiektu należy – stosując techniki chromatograficzne – oznaczyć czas zaniku (karencji) substancji czynnej w podłożu papierowym. Badania przewidują również przeprowadzenie badań chromatograficznych i spektroskopowych zmian zachodzących w obiekcie pod wpływem działania badanego środka.

Bibliografia

- Cools, H.J., Mullins, G.L., Fraaije, B.A., Parker, J.E., Kelly, D.E., Lucas, J.A., Kelly, S.L. (2011). Impact In recently emerged sterol 14-demethylase (CYP51) variants of *Mycosphaerella graminicola* on azole fungicide sensitivity. *Applied and Environmental Microbiology*, 77,3830-3837. DOI: 10.1128/AEM.00027-11
- Karbowska-Berent, J., Strzelczyk, A. (2004). *Drobnoustroje i owady niszczące zabytki i ich zwalczanie*. Toruń: Wydawnictwo Naukowe Uniwersytetu Mikołaja Kopernika.
- Kramer, D.W. (1986). Sterol Biosynthesis and Anti-Feeding Compounds. *Chemis-*

- try of *Plant Protection*, 1, 30-60. Książka to Chemistry of Plant Protection a tytuł artykułu to Sterol Biosynthesis and Anti-Feeding Compounds
- Litchfield, J.T., Wilcoxon, F. (1949). „Sterol biosynthesis inhibitors and anti-feeding compounds. Chemistry of Plant Protection. (ISBN: 3-540-13487-5) A simplified method of evaluating dose-effect experiments. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 96(2), 99-113.
- Peczul, K., Łacka, A. (2016). Cross resistance analysis of *Cercospora beticola* to triazole (DMI) fungicides. *Progress in Plant Protection*, 56(1), 1-6. DOI: 10.14199/ppp-2016-014

Agnieszka Bangrowska

Wprowadzenie nowej generacji biocydów jako środków chemicznych do dezynfekcji zabytkowej kolekcji bibliotecznej

Streszczenie

Substancje chemiczne i ich mieszaniny stosowane jako środki ochrony roślin mogą być wykorzystane również jako nowej generacji biocydy w jednostkowej ochronie konserwatorskiej zbiorów bibliotecznych przed mikroorganizmami. Związki chemiczne pochodne 1,2,4-triazolu to substancje biologicznie czynne, która powoduje zaburzenie ich procesów fizjologicznych na skutek blokowania aktywności odpowiednich enzymów. Środki chemiczne po uprzednim zarejestrowaniu mogą być dopuszczone do użytkowania dopiero po sprawdzeniu jego skuteczności biologicznej w warunkach klimatycznych, a w przypadku mojego obszaru w bibliotekach i magazynach. Istotnym elementem oceny przydatności związku chemicznego jest również jego toksyczność na ludzi, zwierząt i środowisko. Pomimo różnych kontrowersji związanych z negatywnym oddziaływaniem na środowisko, środki te od wielu lat są bardzo skuteczną metodą zapobiegania zagrożeniom plonowania roślin, a co za tym idzie również bezpieczne dla człowieka i papieru. Celem pracy były wstępne badania rozpoznawcze nad możliwością zastosowania 1,2,4-triazolu do zwalczania zagrożeń mikrobiologicznych występujących w zabytkowych kolekcjach bibliotecznych oraz obiektach indywidualnych. Materiały z jakich zbudowana jest książka zabytkowa sprawiają, że jest ona zagrożona szczególnie mikrobiologicznie, poprzez infekcję chorób wirusowych i grzybowych. Jako modelową substancję w tych badaniach wybrano składnik aktywny o zwyczajowej nazwie tebukonazol, natomiast testowym materiałem grzybowym był patogen *Aspergillus Niger van Tieghem*, *Chaecetomium globosum*, *Penicillium chrysogenum*. Aby aktywność grzybobójczą tebukonazolu odnieść do zabytkowego materiału bibliotecznego, należy w pierwszej kolejności wykonać badania, pozwalające określić dla tej substancji wartość tzw. współczynnika ED-50 w stosunku do wybranego grzybowego materiału testowego. Współczynnik ten wyznacza dawkę substancji aktywnej, przy zastosowaniu, której połowa zwalczanej populacji ulega zniszczeniu. Jej wartość liczbową stanowiąc podstawę do sporządzenia cieczy roboczej o takim stężeniu, które zapewni skuteczne zwalczanie chorób grzybowych zabytkowego pergaminu, skóry, tkaniny czy papieru.

Słowa kluczowe: biocydy, tebukonazol, dezynfekcja, książka

Agnieszka Bangrowska

***The introduction of a new generation of biocides as new chemicals
to disinfect historical collections of the library***

Abstract

Chemical substances and mixtures thereof used as plant protection products they can also be used as a new generation biocide unit conservation of library collections against microorganisms. Chemical compounds 1,2,4-triazole derivatives are biologically active substances, which causes their physiological processes to malfunction as a result of blocking activity of the corresponding enzymes. Chemicals after the prior registration may only be accepted after verification its biological effectiveness in climatic conditions, and in case my area in libraries and magazines. An essential element of evaluation the chemical suitability is also its toxicity to humans, animals and the environment. Despite the various controversies associated with the negative environmental impact, these measures have been very effective for many years the method of preventing the threat of plant yielding and, consequently, also safe for man and paper. The purpose of the work was preliminary research recognizing the possibility of using 1,2,4-triazole for control microbiological hazards occurring in historic collections libraries and individual objects. Materials from which it was built it is an antique book that makes it particularly vulnerable microbiologically, through infection of viral and fungal diseases. As a typical active ingredient in this study was the usual active ingredient tebuconazole, while the test fungal material was a pathogen *Aspergillus Niger van Tieghem*, *Chaecetomium globes*, *Penicillium chrysogenum*. For the fungicidal activity of tebuconazole to refer to the antique library material, the first should be done research, allowing to determine for this substance the value of the so- ED50 in relative to the selected mushroom test material. This factor determines the dose of the active substance, with half of which the population being destroyed is destroyed. Its numerical value to represent it will be the basis for the preparation of a working fluid of such concentration that will ensure effective combat against fungal diseases of antique parchment, leather, fabric or paper.

Key words: biocides, tebuconazole, disinfection, book