

FORUM / 2019 / ROČ. IX / Č. 2

PRO KONZERVÁTORY-RESTAURÁTORY FORUM FOR CONSERVATORS-RESTORERS

2019 / Vol. IX / 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. Dr. Ing. Michal Ďurovič
Akad. mal. Igor Fogaš
Ing. Pavel Jirásek
Ing. Jan Josef
doc. Akad. sochař Petr Kuthan
prof. RNDr. Jiří Příhoda,
Ing. Radka Šefců
Mgr. Pavla Stöhrová (Secretary)

Open access 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, 2019
ISSN (Online) 2571-4384
ISSN (Print) 1805-0050

 TECHNICKÉ
MUZEUM
V BRNĚ

 METODICKÉ
CENTRUM
KONZERVACE

VYUŽITÍ LUMINOMETRU PRO OVĚŘENÍ PŘÍTOMNOSTI PLÍSNÍ

Eva Svobodová¹ • Hana Sýkorová² • Jana Kadavá² • Ivana Kopecká¹

1 Národní technické muzeum

2 Zkušební laboratoř Ústavu biochemie a mikrobiologie VŠCHT

RNDr. Eva Svobodová, Ph.D. – zaměstnankyně Národního technického muzea v Praze. Zabývá se především identifikací organických pojiv barevné vrstvy, přírodních barviv, pryskyřic a moderních materiálů metodami molekulové spektrální analýzy. (eva.svobodova@ntm.cz)

Luminometr je spektrální přístroj pro měření luminiscence ATP, produkovaného živými mikroorganismy (plísněmi a bakteriemi). Primárně je určený pro zdravotnické a potravinářské provozy, vyžadující velmi čisté prostředí. Podává okamžitou orientační informaci o úrovni kontaminace povrchu živými mikroorganismy. Příspěvek popisuje kalibraci luminometru pro potřeby preventivní konzervace kulturního dědictví. **Klíčová slova:** luminometr; ATP; plísně; luminiscence; FTIR spektrometrie; Ramanova spektrometrie; konzervace

USING OF LUMINOMETER FOR VERIFYING PRESENCE OF MOULD CONTAMINATION

A luminometer is a spectral instrument for measuring the luminescence of ATP produced by living microorganisms (mould and bacteria). Immediately indicates the level of surface contamination by living microorganisms. Above all, it is intended for medical and food areas requiring a very clean environment. The article describes calibration of the luminometer for its use in preventive protection of cultural heritage.

Key words: luminometer; ATP; mould, luminescence; FTIR spectrometry; Raman spectrometry; conservation

Rychlé potvrzení, nebo naopak vyloučení napadení sbírkových předmětů plísněmi je důležité jak z hlediska preventivní konzervace/dlouhodobého uchování sbírek v odpovídajících podmínkách, tak z hlediska bezpečnosti práce konzervátorů a restaurátorů, kteří s nimi přicházejí do styku obvykle jako první. Metabolitem žijících mikroorganismů (plísní a bakterií) je ATP (adenosintrifosfát), který po smíchání s enzymem luciferázou vykazuje luminiscenci. Její intenzita je přibližně úměrná množství žijících mikroorganismů [Masen – Scheerer, 2014; Rakotonirainy, 2004; Rakotonirainy, 2017]. Luminometr je malý přenosný spektrometr, který identifikuje luminiscenci a měří její intenzitu. Tento přístroj byl vyvinut pro kontrolu procesů, vyžadujících vysoce sterilní prostředí a pro takové prostředí je také kalibrován [Yue – Bai, 2013]. Pro potřeby preventivní konzervace bylo tedy nutné vytvořit a kultivací ověřit takovou kalibrační stupnici, která by pro různé organické materiály stanovila úroveň „normálně“ znečištěného pozadí, kdy se ještě nejedná o kontaminaci mikroorganismy tak, jak ji chápeme v souvislosti s biologickým poškozením sbírkových předmětů.

Přítomnost plísní, bakterií a dalších mikroorganismů lze ověřovat několika způsoby. Nejběžnější jsou stále tradiční metody kultivace na agarovém podkladu; optické metody, založené na určování počtu buněk mikroorganismů pod optickým či fluorescenčním mikroskopem dosahují mnohem větší citlivosti a jsou schopny detekovat již 10^2 buněk [De Boer – Beumer, 1999; Vasavada, 1993]. Tzv. impedanční metody, založené na sledování změny vodivosti v přítomnosti živých mikroorganismů, jsou naopak vhodné pro detekci velkého množství mikroorganismů a rutinně jsou využívány při kontrole potravin [De Boer – Beumer, 1999; Vasavada, 1993]. Nejen v potravinářství jsou využívány i metody imunologické (fungující na principu tvorby komplexu gen/antigen) a metody založené na identifikaci nukleových kyselin mikroorganismů (např. DNA plísní). V současné době jsou v popředí zájmu bioluminiscenční metody, umožňující rychlý screening kontaminovaných ploch v reálném čase.

Všechny živé mikroorganismy produkují v rámci svého metabolického cyklu adenosin-5'-trifosfát (ATP), což je cyklická organická sloučenina, v jejíž vazbách se mezi jednotlivými fosfátovými skupinami uchovává energie získaná z metabolického cyklu. Tato energie může být v případě potřeby opět uvolněna odštěpením fosfátových skupin z molekuly ATP, čehož využívají i bioluminiscenční metody, které ATP ve vzorku identifikují. Z molekuly ATP se v přítomnosti luminiscenční produkující látky –luciferinu – a enzymu luciferázy odštěpí dvě fosfátové skupiny za vzniku adenosin-5'-monofosfátu (AMP) a přitom se uvolní uchovávaná energie. Tato energie je přijata přítomnou luminiscenční produkující látkou (luciferinem) a následně je opět vyzářena v podobě luminiscenčního záření o vlnové délce ~ 500 nm [Bottari, 2015; De Boer – Beumer, 1999; Park, 2015; Smith, 2013; Yamashoji, 2004]. Jelikož je tato luminiscence vyvolána biologickým enzymatickým štěpením, nazývá se bioluminiscencí. Luminiscence ATP v roztoku luciferin/luciferáza je detekována a kvantifikována

pomocí tzv. luminometrů a je udávána v jednotkách RLU (relative luminescence unit), tedy v jednotkách relativní luminiscence. [Okanojo, 2017; Park, 2015; Smith, 2013] Detekce mikroorganismů je velmi často uváděna také v jednotkách CFU (colony-forming unit) popisující počet vytvořených kolonií živých mikroorganismů, kultivovaných na agaru. Vzájemný přepočítání těchto jednotek logicky není možný. Byla však potvrzena přímá úměra mezi množstvím intramolekulárního ATP (ATP obsažený uvnitř buněk mikroorganismů) a celkovým počtem vzniklých kolonií kultivovaných mikroorganismů [Bottari, 2015; Smith, 2013; Park, 2015; Yamashoji, 2004; Viator, 2017]. Luminometry začaly být komerčně vyráběny již od 70. let 20. stol. [Berthold – Tarkkanen, 2013; Bottari, 2015; Hawronskij – Holah, 1997] a dnes jsou již běžně využívány při kontrole účinnosti sanitace v potravinářském průmyslu (např. v rámci systému HACCP – Hazard Analysis and Critical Control Points – Systém analýzy rizika a stanovení kritických kontrolních bodů vycházející z Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 852/2004 ze dne 29. dubna 2004 o hygieně potravin) [Luo, 2009; Poulis, 1993; Salo, 2008], ve zdravotnictví [Branch-Elliman, 2014; Florez, 2016; Huang, 2015; Pierce, 2019; Tršan, 2019] i v environmentální analýze [Hu, 2018; Park, 2015; Torres, 2016]. Do péče o sbírky však ještě nepronikly.

EXPERIMENTÁLNÍ PODMÍNKY

Orientační přítomnost plísní byla sledována pomocí luminometru System SURE Plus (výrobce Hygiene, USA), za použití vlhčených stěrových tyčinek SuperSnap™ High Sensitivity ATP Surface Test. (s luminiscencí produkující látkou, enzymem luciferázou, a s detekcí od 0,2 fmol ATP, určené pro čisté proozy – výrobce Hygiene, USA). Kalibrace luminometru proběhla ve zkušební laboratoři Ústavu biochemie a mikrobiologie VŠCHT Praha.

Příprava výchozí suspenze spor a koncentrační řady

K přípravě jednotlivých suspenzí byly použity čisté kultury mikromycet (*Penicillium sp.*, *Aspergillus brasiliensis*). Kultury narostlé v Petriho miskách (půda PDA – Potato Dextrose Agar) byly pro zvýšení smáčivosti přelity polysorbátem a uvolněny z povrchu skleněnou tyčinkou. Hyfy byly od spor odfiltrovány přes skleněný filtr. Ze získaného filtrátu byly za použití Bürkerovy počítací komůrky připraveny suspenze o koncentraci 10^6 spor/ml. Jako ředící médium byl použit sterilní fyziologický roztok (0,9 % NaCl). Počáteční množství spor v suspenzi bylo následně zkontrolováno i kultivačně (výsev na pevné médium PDA s následnou kultivací při 25 °C) a odpovídalo požadované koncentraci 10^6 KTJ/ml. Z této výchozí koncentrace byla postupem desítkového ředění fyziologickým roztokem připravena koncentrační řada 10^0 – 10^1 spor/ml a ta byla rozšířena o slepý vzorek s nulovou koncentrací spor – čistý fyziologický roztok. Do připravené suspenze byla ponořena stěrová tyčinka ATP-Test a následně bez prodloužení proměřena luminometrem. Takto byly proměřeny koncentrační řady obou indikátorových mikromycet *Penicillium sp.* a *Aspergillus brasiliensis*.

Inokulace vzorků (jednotlivých materiálů – podložek) a následné proměření luminometrem

Na základě výsledků proměření koncentračních řad byly pro aplikaci na jednotlivé materiály zvoleny dvě koncentrace 10^6 a 10^4 spor/ml. Na devíti testovaných podložkách byly vyznačeny testovací plochy o velikosti 2 x 5 cm (10 cm^2) a na ně aplikovány suspenze spor dané koncentrace o objemu 200 μl . Suspenze byla sterilní špičkou rozetřena ve dvou směrech po celé vytyčené ploše. Výsledný stupeň kontaminace materiálů tak byl $2 \cdot 10^3$ spor/ 10 cm^2 při aplikaci výchozí suspenze o koncentraci 10^4 spor/ml a výsledná kontaminace $2 \cdot 10^5$ spor/ 10 cm^2 pro výchozí suspenzi o koncentraci 10^6 spor/ml.

Poté byl proveden křížový stěr (ve dvou na sebe kolmých směrech) celé, ještě vlhké, vytyčené plochy (cca do 5 minut po aplikaci výchozích suspenzí) stěrovou tyčinkou ATP-Test a byl proměřen v luminometru. Pro stanovení pozadí byl u každého materiálu proveden stěr z plochy 2 x 5 cm (10 cm^2) bez předchozí inokulace (byl použit „čistý“ materiál bez viditelného napadnutí plísněmi – podložky nebyly sterilovány). Pro analýzu výkvětů, odebraných z vykrývacího papíru skleněného

negativu, byla využita Ramanova spektrometrie (Ramanův spektrometr DRX2 (Thermo Scientific, USA) s budičím laserem o vlnové délce 532 nm, rozsahu 50 – 3587 cm^{-1} , objektivu s padesátinásobným zvětšením a o různém nastavení intenzity budičeho laseru a délky měření) a FTIR spektrometrie (FTIR spektrometr Nicolet iZ10 (Thermo Scientific, USA) s technikou makro-ATR/diamant v rozsahu vlnočtů 450 – 4000 cm^{-1} a počtů scanů 32). Výkvěty byly také pozorovány stereomikroskopem Leica M165FC pod dopadajícím viditelným a ultrafialovým světlem.

VÝSLEDKY

Luminometry jsou určeny především pro čisté proozy v potravinářském průmyslu [Yue – Bai, 2013], kde se využívají pro kontrolu čistoty kotlů, válců, potrubí a dalších součástí provozu, které jsou vyrobeny převážně z potravinářské korozivzdorné oceli. Jelikož plísně ocelí neporůstají (napadají pouze případné nátěrové vrstvy na povrchu kovu), samotná potravinářská korozivzdorná ocel neobsahuje žádné ATP, a nijak tedy nepřispívá k celkové luminiscenci stěrů z povrchu oceli. Luminometry tak nezohledňují příspěvek samotné podložky k celkové luminiscenci. Příspěvek podložky z organického materiálu se však v celkové luminiscenci ATP výrazně projeví. Proto bylo třeba luminometr nejprve „kalibrovat“, tedy zjistit samotný příspěvek podložky k celkové luminiscenci ATP a až poté proměřit odezvu luminometru, vyvolanou různou koncentrací plísní, nanesených na dané podložky. Vybranými podložkami byly:

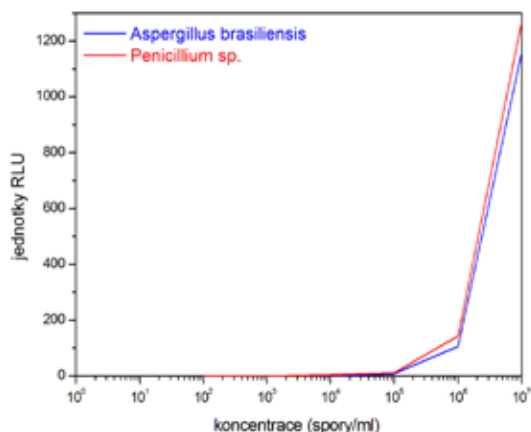
- lepenka
- papír z papíroviny
- dřevitý papír
- dřevěná deska (pravděpodobně smrk)
- useň
- lněné plátno s želatinovou vrstvou s kafrem
- plátno použité na dubování s voskopryskyřičnou směsí (asi 60. léta 20. stol.)
- skleněný negativ (skleněná podložka + želatina)
- plastový negativ (nitrocelulóza podložka + želatina + červeň + sádra)

Kalibrace luminometru

Nejprve byl samotný luminometr kalibrován dvěma nejběžnějšími zástupci plísní *Penicillium sp.* a *Aspergillus brasiliensis* [Vávrová – Součková, 2017] v koncentračním rozsahu 0 (sterilní fyziologický roztok) až 10^7 spor/ml. Výsledné kalibrační grafy jsou uvedeny na Obr. 1. Z grafů vyplývá, že luminometr zaznamená přítomnost plísní o koncentraci větší než 10^4 spor/ml, což odpovídá např. povolenému množství plísní v sušené zelenině v potravinách (viz norma ČSN 56 9609). Proto byly pro proměření modelových vzorků organických podložek s plísní zvoleny koncentrace v okolí tohoto detekčního limitu, tedy $2 \cdot 10^3$ a $2 \cdot 10^5$ spor/ 10 cm^2 .

Příspěvek samotných jednotlivých podložek k celkové luminiscenci stěrů a odezvu dvou koncentračních hladin obou nejběžnějších zástupců plísní shrnuje Obr. 2. Luminiscence samotných podložek se liší, dá se však říci, že ji zvyšuje přítomnost proteinů (klihu, želatiny). Nejvyšší hodnoty dosahovalo lněné plátno s voskopryskyřičnou směsí. K celkové luminiscenci přispívá však i řada dalších faktorů, jako např. nasákavost podložky, hustota materiálu a jeho rozpustnost ve vodě, které mají vliv na odběr stěrů. V případě lepenky a lněného plátna docházelo k uvolňování vláken podložky, která se také přenesla na stěrovou tyčinku, a mohla tak zvyšovat luminiscenci ATP v odebraném stěru. Odezva luminometru se také liší v závislosti na místě, odkud byl stěr z podložky odebrán, a tak jsou získané výsledky vždy pouze orientační.

Kalibrační křivky dvou koncentračních hladin plísní na podložkách (Obr. 2) také potvrdily detekční limit metody – v případě obou použitých plísní (*Penicillium sp.* a *Aspergillus brasiliensis*) odpovídala luminiscence stěrů s koncentrací spor $2 \cdot 10^3$, odebraných z plochy 5 x 2 cm, luminiscenci samotné podložky. Teprve vyšší koncentrace spor ($2 \cdot 10^5$ spor/ 10 cm^2) vyvolala odezvu o řád vyšší, než je odezva samotné podložky. Obdobně jako v případě měření samotných čistých podložek, i zde se luminiscence mění v závislosti na nasákavosti podložky, místě měření, lokálním rozložení plísní v ploše podložky a pravděpodobně i na dalších faktorech.



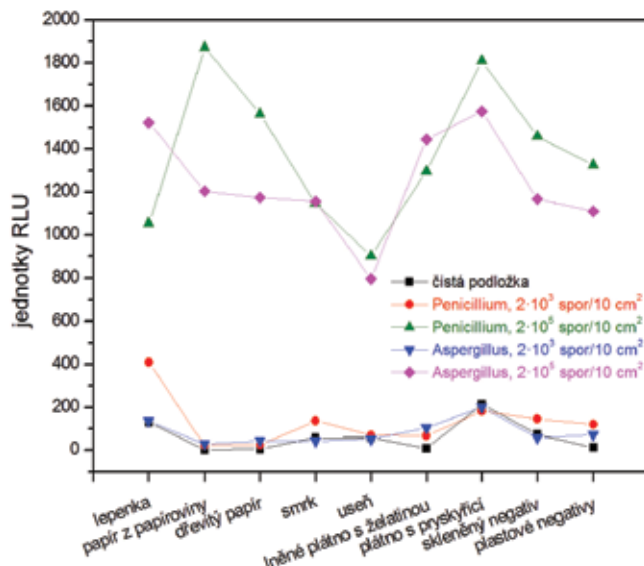
Obr. 1. Kalibrační křivky luminiscence (v jednotkách RLU) plísní *Penicillium sp.* a *Aspergillus brasiliensis* v závislosti na koncentraci jejich spor v suspenzi / *Luminescence calibration curves (in RLU units) of Penicillium sp. and Aspergillus brasiliensis depending on the concentration of their spores in the suspension*

Reálné vzorky

Možnost využití luminometru pro orientační zjištění přítomnosti plísní v muzeích byla testována i na několika reálných vzorcích, u nichž byl předpoklad, že obsahují plísňe (Obr. 3):

- skleněný negativ s želatinovou vrstvou a černým vykrývacím papírem s bílými a žlutými skvrnami/výkvěty
- plastový negativ z nitrocelulózy s želatinovou vrstvou, který prošel povodněmi a poté byl uložen v mrazícím boxu
- desky knížky z lepenky (stopy po provlhnutí a typický plísňový zápach)
- modlitební knížka s deskami potaženými bavlněným sametem s ozdobami, pravděpodobně ze slonoviny (stopy po provlhnutí, typický plísňový zápach a bělavé skvrny v okolí ozdob)

Pro zajištění reprodukovatelnosti měření a možnosti porovnání výsledků měření reálných vzorků s výsledky získanými z modelových vzorků, byly vyhotoveny plastové šablony s okénky nejen o velikosti 2 x 5 cm (stejná plocha, která byla použita pro kalibraci luminometru a čistých podložek), ale i s okénkem o velikosti 2 x 2 cm, které bylo možné použít v případě častějších lokálních výskytů plísní na malých předmětech či hůře dostupných místech. Pro tuto plochu byly proměřeny opět i odezvy čistých podložek, které byly oproti odezvám získaným z plochy 2 x 5 cm přibližně třetinové.

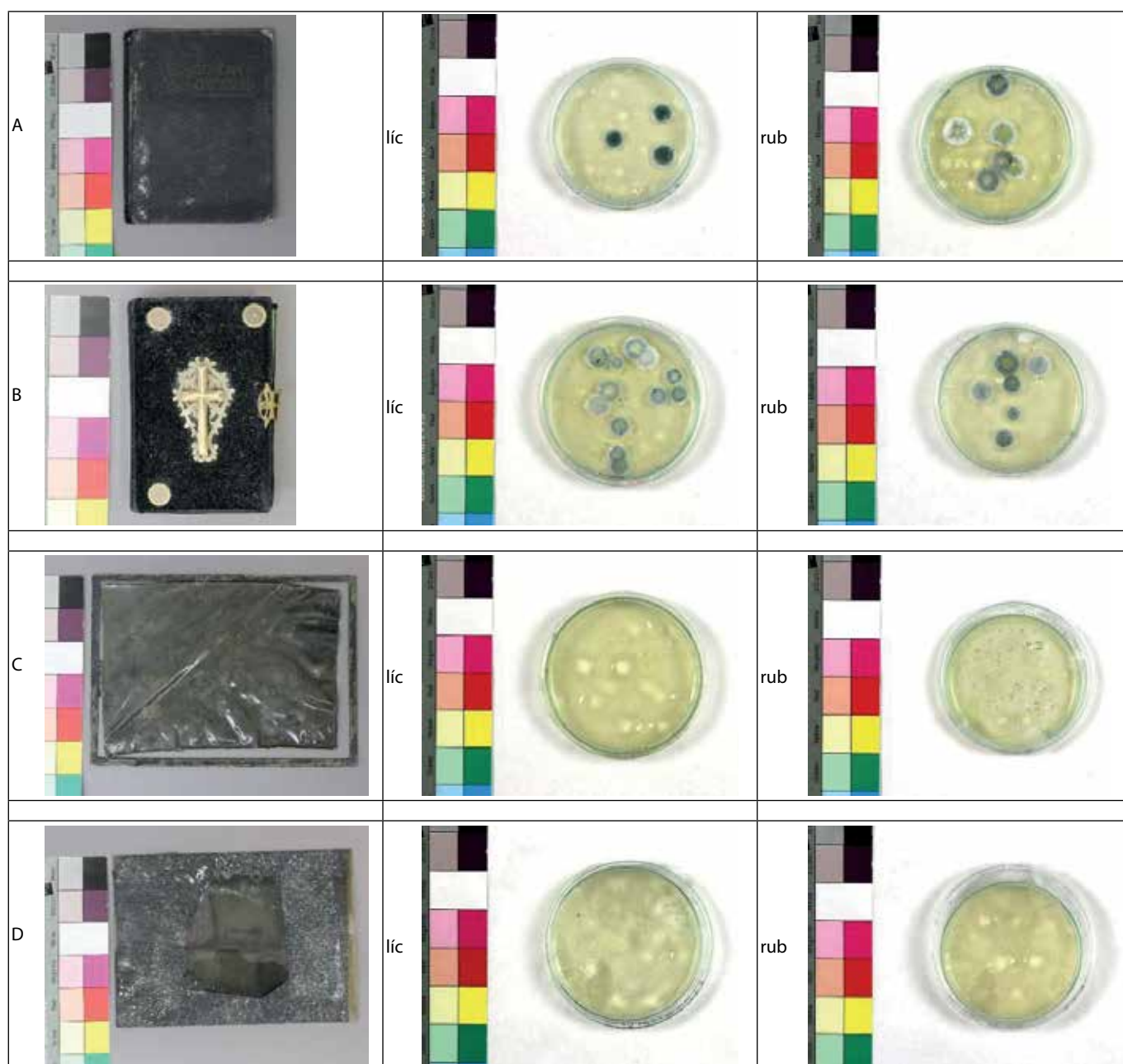


Obr. 2. Luminiscence (v jednotkách RLU) plísní *Penicillium sp.* a *Aspergillus brasiliensis* v závislosti na kontaminaci a druhu materiálu podložky / *Luminescence (in RLU units) of Penicillium sp. and Aspergillus brasiliensis depending on the contamination degree and the type of substrate material*

Z jednotlivých reálných vzorků byly odebrány stěry vlhčenými tyčinkami ATP-Test SuperSnap ze dvou různých velikostí ploch (4 a 10 cm²) a byly proměřeny luminometrem. Souhrn výsledků je uveden v Tab. 1. Pro ověření byly z reálných vzorků odebrány (z lícové a rubové strany) i klasické stěry (bez luminiscenci produkující látky), přeneseny na agar ve skleněných Petriho miskách a kultivovány při teplotě 25 °C po dobu 6 dní. U lepenkové i sametové knižní vazby vykazovala luminiscence odebraných stěr vysoké hodnoty v řádech tisíců jednotek RLU (~ 8000 RLU), které poukázaly na vysoký obsah plísní. Přítomnost plísní se potvrdila i kultivací stěrů na agaru, kde po 6 dnech vyrostla řada kolonií (viz Obr. 3 A–B). Oba předměty pak byly vystaveny parám butanolu po dobu cca 48 hodin [Bacílková, Ďurovič, 2002], mechanicky očištěny a opět proměřeny pomocí luminometru. Luminiscence ATP klesla v případě lepenky na sedminu původní odezvy (~ 1000 RLU), v případě sametové knižní vazby pouze na třetinu původní odezvy (~ 3000 RLU), přičemž v okolí ozdob ze slonoviny se snížila jen o ~ 1000 RLU. Ačkoliv byla modlitební knížka dezinfikována ve svislé poloze s vějířovitě rozevřenými listy, silné desky, potažené bavlněným sametem (velmi hutným s vysokým vlasem) anebo přítomnost odolnějších plísní by pravděpodobně vyžadovala delší dezinfekci. Přítomnost plísní v deskách potažených bavlněným sametem byla ověřena také identifikací proteinu ve FTIR spektru dezinfikované bavlněné sametové knižní vazby (Obr. 4). Modlitební knížka byla proto dezinfikována parami butanolu opakovaně.

materiál	plocha 5 x 2 cm			průměr	plocha 2 x 2 cm			průměr
skleněný negativ s vykrývacím černým papírem – papír	82	28	57	56	168	118	97	128
skleněný negativ s vykrývacím černým papírem – želatina sklo	-	-	-	-	165	229	135	176
plastový negativ z nitrocelulózy – rub	170	124	146	147	89	122	653	288
plastový negativ z nitrocelulózy – želatina	93	587	201	294	803	230	374	469
desky knížky z lepenky	8517	8608	6846	7990	8962	7686	6469	7706
modlitební knížka s deskami potaženými bavlněným sametem s ozdobami ze slonoviny – samet a ozdoby	-	-	-	-	8977	4013	9085	7310
	-	-	-	-	7610	6863	-	
modlitební knížka s deskami potaženými bavlněným sametem s ozdobami ze slonoviny – samet	7906	8581	7355	7947	4590	-	-	4590

Tab. 1. Luminiscence (v jednotkách RLU) stěrů z reálných vzorků, odebraných ze dvou různých ploch / *Luminescence (in RLU) of smears from real samples taken from two different areas*

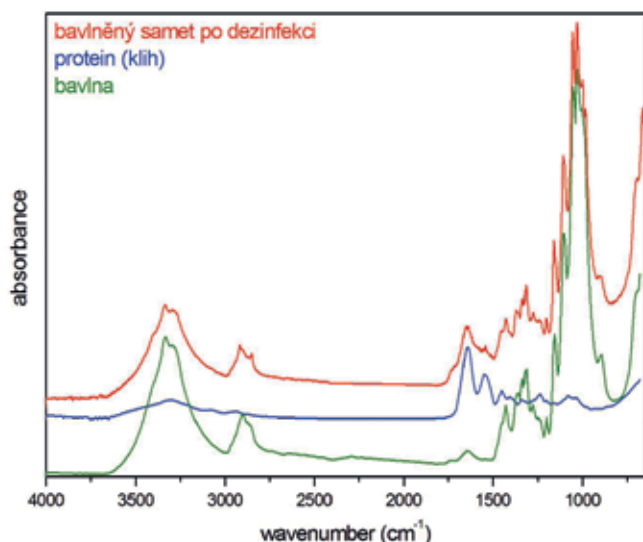


Obr. 3. Snímky reálných vzorků a Petriho misek s narostlými/nevrostlými plísněmi ze stěrů z lícové a rubové strany reálných vzorků po šestidenní kultivaci při 25 °C (foto Jana Háková, 2019). A) desky knižky z lepenky, B) modlitební knížka s deskami potaženými bavlněným sametem s ozdobami ze slonoviny, C) plastový negativ z nitrocelulózy a D) skleněný negativ s vykrývacím černým papírem / Photos of real samples and Petri dishes with grown / unripe moulds from swabs from the face and back of the real samples after six days of cultivation at 25 °C (photo Jana Háková, 2019). A) cardboard boards of book, B) prayer book with cotton velvet covers with ivory decorations, C) nitrocellulose plastic negative and D) glass negative with black blanking paper.

Negativ na plastové podložce (nitrocelulóza) byl vyjmut z mrazícího boxu, aklimatizován na pokojovou teplotu, proměřen z rubové i lícové strany pomocí luminometru a následně vrácen zpět do mrazícího boxu. Odezva luminometru vykazovala z rubové i lícové strany (strana s citlivou želatinovou vrstvou) ve srovnání s luminiscencí čisté podložky mírně zvýšenou luminiscencí, lokálně pak luminiscenci kolem ~ 600 RLU (ze strany želatiny přesáhla luminiscence i hodnotu 800 RLU). I zde byly z rubové i lícové strany odebrány kontrolní stěry, které byly přeneseny na agar, na němž však po šesti dnech kultivace žádná kolonie nevyrostla (Obr. 3 C). Po prodloužení kultivace stěru z lícové strany (strana želatiny) při teplotě 25 °C o dalších šest dní nakonec jedna kolonie vyrostla.

V případě skleněného negativu byly ze strany citlivé vrstvy (želatiny) odebrány stěry pouze z plochy 2 x 2 cm. Jejich luminiscence přibližně odpovídala odezvě čisté podložky (v tomto případě odezvě želatiny na skle, a papíru) a na agaru nevyrostla žádná kolonie ani po 12 dnech inkubace

(Obr. 3 D). Skleněný negativ tak nebylo potřeba dezinfikovat, byl pouze očištěn a vykrývací papír byl (po domluvě s kurátorem) nahrazen novým. Bílé a žlutavé výkvěty na vykrývacím černém papíře byly pozorovány pod mikroskopem a následně analyzovány FTIR a Ramanovou spektrometrií. Výsledky shrnuje Obr. 5 – bílý výkvět je tvořen síranem sodným, který zřejmě vykryštalizoval na povrchu negativu i vykrývacího papíru v důsledku nedokonalého vyprání negativu od ustalovače (tvoří jej směs thiosíranů a siřičitanů, případně i síranů) [Šímková – Šímek, 1973]. Žlutavý výkvět, který v UV světle (v zelené části spektra – za použití ET GFP filtru) vykazuje luminiscenci, je zřejmě tvořen plísněmi, které již pravděpodobně nejsou živé. Ve FTIR spektru byly identifikovány vibrační pásy příslušející proteinům (nejintenzivnější vibrační pásy přísluší tzv. amidu I při ~ 1650 cm⁻¹ a amidu II při ~ 1550 cm⁻¹) [Sokrates, 2001] (ve spektru je pro ukázkou uveden standard kliš) a dále vibrační pásy celulózy (vlákna černého vykrývacího papíru).



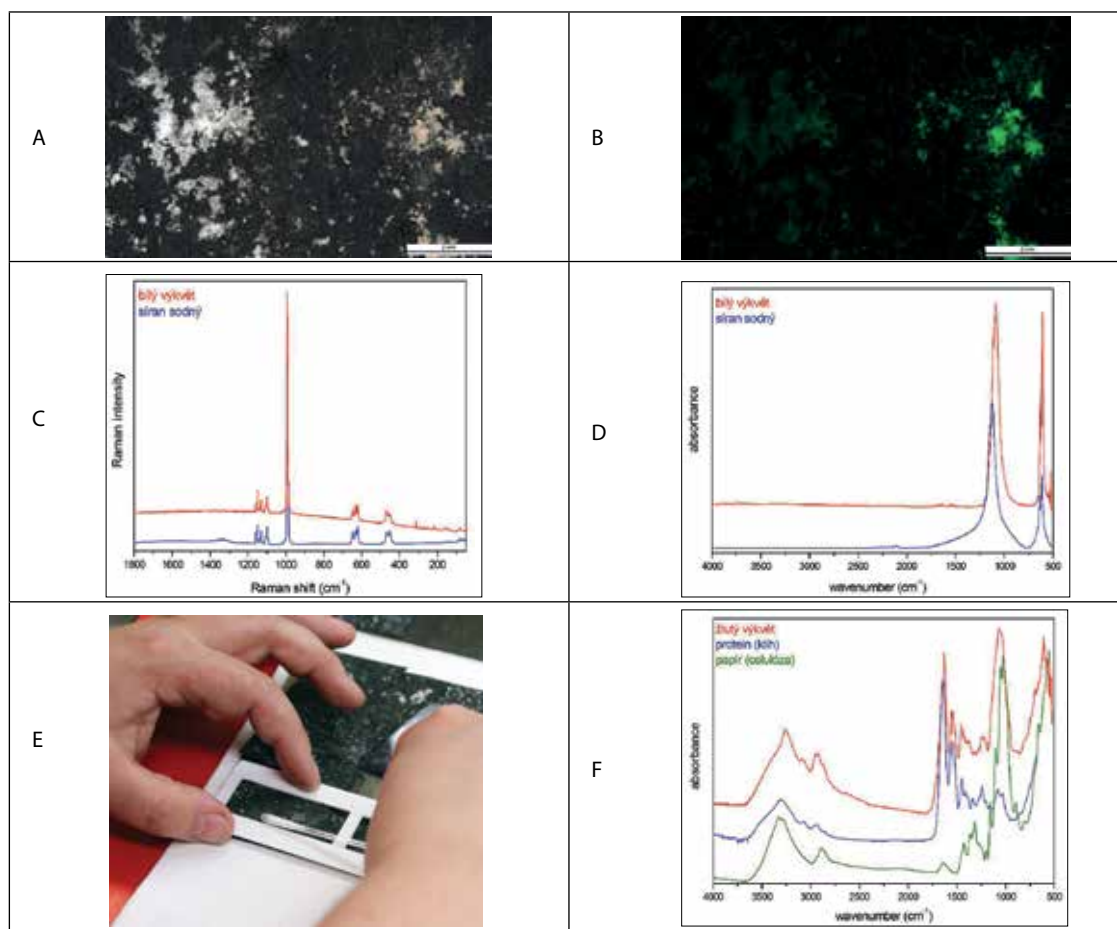
Obr. 4. FTIR spektrum bavlněného sametu knižní vazby po dezinfekci v parách butanolu společně se spektry standardů – ve spektru byla identifikována bavlna a blíže nespecifikovaný protein (pro ukázkou uveden standard klijh) / FTIR spectrum of cotton velvet book covers after disinfection in butyl-alcohol vapor together with standard spectra - cotton and unspecified protein were identified in the spectrum (animal glue standard shown)

ZÁVĚR

Použití luminometru pro hodnocení aktivního biologického napadení organických materiálů neposkytuje konkrétní informaci ani o typu mikroorganismu, ani o množství mikroorganismů, je pouze orientační. Kalibrační křivky pro jednotlivé materiály však mohou být levnější a rychlejší variantou pravidelné kontroly depozitářů, v nichž bude možné odebrat pro kultivaci jen ty vzorky, u kterých bude na základě zjištěných hodnot luminiscence odůvodněné podezření na skutečnou kontaminaci živými mikroorganismy. Mohou být také základním vodítkem při rozhodování, zda je nutné sbírkový předmět dezinfikovat dříve, než s ním bude pracovat konzervátor nebo restaurátor.

PODĚKOVÁNÍ

Autoři děkují kolegyni MgA. Janě Hákové za vyhledání reálných vzorků, jejich dezinfekci a podnětné připomínky při přípravě článku. Předložený článek vznikl za finanční podpory Ministerstva kultury v rámci institucionálního financování na dlouhodobý koncepční rozvoj výzkumné organizace Národní technické muzeum (DKRVO, MK000023299).



Obr. 5. Dokumentace identifikace bílých a žlutavých výkvětů na vykrývacím papíře skleněného negativu – A) mikroskopický snímek pod dopadajícím bílým viditelným světlem, B) mikroskopický snímek v UV světle (v zelené části spektra), C) Ramanovo spektrum bílého výkvětu se spektrem standardu – síranu sodného, D) FTIR spektrum bílého výkvětu se spektrem standardu – síranu sodného, E) ukáзка odběru stěrů pro měření luminometrem a F) FTIR spektrum žlutého výkvětu se spektry standardů – protein (standard klijh) a papír (vlákna celulózy) / Documentation of identification of white and yellowish efflorescence on glass negative blanking paper - A) microscopic image under white visible light, B) UV light microscopic image (green part of spectrum), C) Raman spectrum of white efflorescence with sodium sulphate standard spectrum, D) FTIR spectrum of white efflorescence with sodium sulphate standard spectrum, E) demonstration of swab sampling for luminometer measurements, and F) FTIR spectrum of yellow efflorescence with standard spectra - protein (animal glue standard) and paper (cellulose fibres)

LITERATURA

- BACÍLKOVÁ, B.: *Studium účinků par butanolu a jiných alkoholů na plísně*. dostupné z: <http://www.nacr.cz/wp-content/uploads/2015/11/butanol.pdf> [cit. 14. 3. 2019].
- BERTHOLD, F. – TARKKANEN, V.: Luminometer development in the last four decades: recollections of two entrepreneurs. *Luminescence* 28 (2013) 1–6.
- BOTTARI, B. – SANTARELLI, M. – NEVIANI, E.: Determination of microbial load for different beverages and foodstuff by assessment of intracellular ATP. *Trends in Food Science & Technology* 44 (2015) 36–48.
- BRANCH-ELLIMAN, W. – ROBILLARD, E. – MCCARTHY, G., Jr. – GUPTA, K.: Direct feedback with the ATP luminometer as a process improvement tool for terminal cleaning of patient rooms. *American Journal of Infection Control* 42 (2014) 195–197.
- DE BOER, E. – BEUMER, R. R.: Methodology for detection and typing of foodborne microorganisms. *International Journal of Food Microbiology* 50 (1999) 119–130.
- ĎUROVIČ, M. a kol.: *Restaurování a konzervování archiválií a knih*. Paseka, Praha, 2002. 517 s. ISBN 80-7185-383-6.
- FLOREZ, F. L. E. – HIERS, R. D. – SMART, K. – KRETH, J. – QI, F. – MERRITT, J. – KHAJOTIA, S. S.: Real-time assessment of Streptococcus mutans biofilm metabolism on resin composite. *Dental materials* 32 (2016) 1263–1269.
- HAWRONSKYJ, J.-M. – HOLAHA, J.: ATP: A universal hygiene monitor. *Trends in Food Science & Technology* 8 (1997) 79–84.
- HU, W. – NIU, H. – MURATA, K. – WU, Z. – HU, M. – KOJIMA, T. – ZHANG, D.: Bacteria in atmospheric waters: Detection, characteristics and implications. *Atmospheric Environment* 179 (2018) 201–221.
- HUANG, Y.-S. – CHEN, Y.-C. – CHEN, M.-L. – CHENG, A. – HUNG, I.-C. – WANG, J.-T. – SHENG, W.-H. – CHANG, S.-C.: Comparing visual inspection, aerobic colony counts, and adenosine triphosphate bioluminescence assay for evaluating surface cleanliness at a medical center. *American Journal of Infection Control* 43 (2015) 882–886.
- LUO, J. – LIU, X. – TIAN, Q. – YUE, W. – ZENG, J. – CHEN, G. – CAI, X.: Disposable bioluminescence-based biosensor for detection of bacterial count in food. *Analytical Biochemistry* 394 (2009) 1–6.
- MASEN, L. – SCHEERER, S.: *Mould attack! – Assessment of dry-cleaning methods for the decontamination of leather*. ICOM-CC 17th Triennial Conference Melbourne 2014. dostupné z: <https://www.icom-cc-publications-online.org/publicationDetail.aspx?cid=0ea02dbf-8e25-48d4-b48c-860fc7549f3b> [cit. 8. 3. 2018].
- Norma ČSN 56 9609 Pravidla správné hygienické a výrobní praxe – Mikrobiologická kritéria pro potraviny. Principy stanovení a aplikace.
- OKANOJO, M. – MIYASHITA, N. – TAZAKI, A. – TADA, H. – HAMAZOTO, F. – HISAMATSU, M. – NODA, H.: Attomol-level ATP bioluminometer for detecting single bacterium. *Luminescence* 32 (2017) 751–756.
- PARK, J.-W. – PARK, C. W. – LEE, S. H. – HWANG, J.: Fast Monitoring of Indoor Bioaerosol Concentrations with ATP Bioluminescence Assay Using an Electrostatic Rod-Type Sampler. *PLOS ONE* (2015) 13 stran, DOI:10.1371/journal.pone.0125251.
- PIERCE, J. – HIEBERT, J. B. – MAHONEY, D. – SHEN, Q. – PELTZER, J. – RAHMAN, F. – JOHNSON, S. – PIERCE, J. T.: Development of a point-of-contact technique to measure adenosine triphosphate: A quality improvement study. *Annals of Medicine and Surgery* 41 (2019) 29–32.
- POULIS, J. A. – DE PIJPER, M. – MOSSCL, D. A. A. – DEKKERS, P. PH. A.: Assessment of cleaning and disinfection in the food industry with the rapid ATP-bioluminescence technique combined with the tissue fluid contamination test and a conventional microbiological method. *International Journal of Food Microbiology* 20 (1993) 109–116.
- RAKOTONIRAINY, M. – HANUS, J. – BONASSIES-TERMES, S. – HERAUD, C. – LAVÉDRINE, B.: Detection of fungi and control of disinfection by ATP-bioluminescence assay. *AICCM Bulletin* 38 (2017) 51–52.
- RAKOTONIRAINY, M. – HANUS, J. – MOULIN, M.: Identification of Living Fungi on Archives and Library Materials. In: *Proceedings ICCROM XXII B 18 (2001) – Schimmel: Gefahr für Mensch und Kulturgut durch Mikroorganismen*. Konrad Theiss Verlag, Stuttgart, 2004. s. 48–55. ISBN 3-8062-1925-7.
- SALO, S. – FRIIS, A. – WIRTANEN, G.: Cleaning validation of fermentation tanks. *Food and Bioprocess Technology* 86 (2008) 204–210.
- SMITH, P. W. – GIBBS, S. – SAYLES, H. – HEWLETT, A. – RUPP, M. E. – IWEN, P. C.: Observations on hospital room contamination testing. *Healthcare Infection* 18 (2013) 10–13.
- SOKRATES, G.: *Infrared and Raman Characteristic Group Frequencies*. Wiley, London, 2001. ISBN 0-471-85298-8.
- ŠIMKOVÁ, M. – ŠIMEK, J.: *Kvalifikační příručka fotografa a laboranta*. Práce, Praha, 1973.
- TORRES, N. T. – STEINSBERGER, T. – DROZ-GEORGET, H. – MÜLLER, B. – BRANDL, H. – HAUSER, P. C. – FURRER, G.: A Novel Method to Quantify Bioavailable Elements and Mobile ATP on Rock Surfaces and Lichens. *AIMS Geosciences* 2 (2016) 245–258.
- TRŠAN, M. – SEME, K. – SRČIČ, S.: The environmental monitoring in hospital pharmacy cleanroom and microbiota catalogue preparation. *Saudi Pharmaceutical Journal* 27 (2019) 455–462.
- VASAVADA, P. C.: Rapid Methods and Automation in Dairy Microbiology. *Journal of Dairy Science* 76 (1993) 3101–3113.
- VÁVROVÁ, P. – SOUČKOVÁ, M. (eds.): *Konzervace a restaurování novodobých knihovních fondů*. Národní knihovna České republiky, Praha, 2017. s. 151–156, ISBN 978-80-7050-696-7.
- VIATOR, R. – GRAY, L. – SARVER, R. – STEINER, B. – MOZOLA, M. – RICE, J.: Validation of the AccuPoint Advanced ATP Hygiene Monitoring System for Sanitation Monitoring Through Detection of ATP from Stainless Steel Surfaces. *Journal of AOAC International* 100 (2017) 537–547.
- YAMASHOJI, S. – ASAKAWA, A. – KAWASAKI, S. – KAWAMOTO, S.: Chemiluminescent assay for detection of viable microorganisms. *Analytical Biochemistry* 333 (2004) 303–308.
- YUE, W. – BAI, CH.: Improved design of automatic luminometer for total bacteria number detection based on ATP bioluminescence. *Journal of Food Safety* 33 (2013) 1–7.