The Effect of Temperature, Water Activity, pH and Time on the Growth of Aspergillus niger, Alternaria alternate and Penicillium sp. in the historical papers

Somaieh Mohsenian[1] | Mehrnaz Azadi [2] | Maryam Afsharpour[3] | Farhang Mozafar[4]

GANJINE-YE ASNAD
Historical Research & Archival Studies Quarterly

1. PhD Student, Preservation of Cultural and Historical Artefacts, Isfahan University of Fine Arts, Isfahan, I. R. Iran.
somaieh11@gmail.com
2. Assistant Professor, School of Preservation of Cultural and Historical Artefacts, Isfahan University of Fine Arts, Isfahan, I. R. Iran. (corresponding author); m.azadi@aui.ac.ir
3. Associate Professor, Mineral Chemistry, Iranian Institute for Chemistry & Chemical Engineering, Tehran, I. R. Iran.
afsharpour@ccerci.ac.ir
4. Associate Professor, The School of Architecture and Environmental Design, Iran University of Science and Technology, Tehran, I. R. Iran.
m.mozaffar@aui.ac.ir

Copyright © 2017-2018, NLAI (National Library & Archives of I. R. Iran). This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International, which permits others to download this work, share it with others and adapt the material for any purpose.

Abstract:

Purpose: To examine material the effect of microorganisms responsible for the biodegradation process of old paper.

Method and Research Design: The effect of temperature (5–40 °C), water activity (aw; 0•80-0.99) on Munktel paper 393 (100% cellose) with pH values of 3 to 9 in 168 hour and their interactions with the temporal rates of germination and mycelial growth of three mycotoxigenic strains of Aspergillus niger(PTCC 5251), Alternaria alternate (PTCC: 5224) and Penicillium sp. (PTCC: 5224) in vitro was measured on historical papers. The aw of the media was controlled with glycerol.

Findings and Conclusion: The most important factor influencing the growth of the above mentioned fungi is water activity, then temperature and finally pH. Therefore, the most effective way to prevent biodegradation of papers of art works is to reduce water activity in them. Reducing water activity along with temperature control and deacidification minimizes the process of biodegradation.

C, aw: 0.98 and, pH: 6.5 for Alternaria alternate. C, aw: 0.97 and, pH: 6.5 for Aspergillus niger and T:25 C, aw: 0.99, pH:6 for Penicillium sp., T:30 The optimum growth occurred at T: 25

Keywords:
Historical papers; Biodegradation; Aspergillus niger, Alternaria alternata, Penicillium sp.

Ganjine-Ye Asnad
«111»

Peer-reviewed Journal | National Library & Archives of I. R. Iran, Archival Research Institute

ISSN: 1023-3652 | E-ISSN: 2538-2268

Digital Object Identifier(DOI): 10.22034/ganj.2018.2302

Indexed by ISC, SID & Iran Journal | Vol. 28, No. 3, Autumn 2018 | pp: 166-202(37)

Received: 7, Apr. 2018 | Accepted: 30, Sep. 2018

Archival studies

ارزیابی تأثیر متغیرهای دما، فعالیت آبی، غلظت یون هیدروژن (pH)، و زمان، بر رشد قارچ‌های آسپرژیلوسِ نایجر، پنی‌سیلیوم.sp و آلترناریا آلترناتا در کاغذهای تاریخی

سیده‌سمیه محسنیان[۱] | مهرناز آزادی[۲] | مریم افشارپور[۳] | فرهنگ مظفر[۴]

فصلنامهٔ تحقیقات تاریخی و مطالعات آرشیوی

چکیده:

هدف: ارزیابی تأثیر شرایط محیطی اثرگذار(دما، فعالیت آب(a_w)،pH، زمان) بر رشد قارچ‌هایِ آسپرژیلوسِ نایجر، پنی‌سیلیوم.sp و آلترناریا آلترناتا.

روش/ رویکرد پژوهش: برای گردآوری داده‌هایِ این تحقیق از مطالعات تجربی استفاده شده‌است؛ به‌طوری‌که تأثیر جداگانهٔ دما از ۵ تا ۴۰ درجهٔ سلسیوس، تأثیر فعالیت آبی (نیاز رطوبتی) در مقدارهای a_w: ۰,۸۰، ۰,۸۵، ۰,۹۰، ۰,۹۵، ۰,۹۷، ۰,۹۸، ۰,۹۹، تأثیرغلظت یون هیدروژن(pH)از ۳ تا ۹، و تأثیر زمان به‌مدتِ ۱۶۸ ساعت بر میزان رشد قارچ‌های آسپرژیلوسِ نایجر، پنی‌سیلیوم، و آلترناریا آلترناتا و همچنین اثر متقابل اینِ عوامل برمیزان رشد درشرایط آزمایشگاهی (in vitro)ارزیابی شده‌است. سایر عوامل فرعی مؤثّر در رشد این قارچ‌ها ثابت درنظر گرفته شده‌است. هم‌چنین ازآنجاکه کاغذ تاریخی برای انجام این آزمون‌ها در دسترس نبود، نمونه‌کاغذ صافی مانکتل ۳۹۳ (سلولز خالص) پیرسازی تسریعی شد و از آن برای انجام آزمون‌هااستفاده شد. درضمن تمام آزمون‌ها در محیط کشت سیب‌زمینی دکستروز آگار (PDA) انجام شد. برای تهیهٔ سوسپانسیون استاندارد قارچ آسپرژیلوسِ نایجر، رِقّت تنظیم‌شده$۱۰^{۵}$×۵-۱و$۱۰^{۴}$×۵-۱(CFU/ml)و برای قارچ‌های آلترناریا آلترناتا و پنی‌سیلیوم $۱۰^{۶}$×۱ سلولِ به ازای هر میلی‌لیتر سوسپانسیون قارچی ($۱۰^{۶}$×۱CFU/ml)است.

یافته‌ها و نتیجه‌گیری: یافته‌های این تحقیق نشان داد که وضعیت مطلوب برای رشد قارچ آسپرژیلوسِ نایجر دمای ۳۰ درجهٔ سانتی‌گراد، فعالیت آبی (نیاز رطوبتی): ۰,۹۷ =a_w، و اسیدیته: ۶,۵=pH است و وضعیت مطلوب برای رشد قارچ آلترناریا آلترناتا دمای ۲۵ درجهٔ سانتی‌گراد،۰,۹۸ =a_w ، و ۶,۵=pH است و وضعیت مطلوب برای رشد قارچ پنی‌سیلیوم دمای ۲۵ درجهٔ سانتی‌گراد، ۰,۹۹ =a_w، و۶ =pH است. دیگر نتیجهٔ این تحقیق آن است که عامل فعالیت آبی بیشترین تأثیر را بر میزان رشد شعاعی قارچ‌های موردمطالعه داشت؛بعدازآن دما و در آخر pH از عوامل مؤثّر بر رشد این قارچ‌ها بودند. ازاین‌رو بهترین و مؤثرترین راه پیشگیری از فرسایش بیولوژیکی در آثار کاغذی، کاهش فعالیت آبی در آن‌هاست. هم‌چنین اگر کاهش فعالیت آبی در کاغذهای تاریخی با کنترل دما واسیدزدایی همراه شود، روند فرسایش بیولوژیکی ناشی از فعالیت قارچ‌های مورد مطالعه به کمترین میزان کاهش می‌یابد.

کلیدواژه‌ها:
کاغذ تاریخی؛ آسیب بیولوژیک؛ دما؛ فعالیت آبی (a_w)؛ غلظت یون هیدروژن (pH)؛ زمان؛ آسپرژیلوسِ نایجر؛ آلترناریا آلترناتا؛ پنی‌سیلیوم

۱. دانشجوی دکتری حفاظت و مرمت اشیاء تاریخی-فرهنگی، دانشگاه هنر اصفهان، اصفهان، ایران.
somaieh11@gmail.com
۲. استادیار، عضو هیئت‌علمی دانشکدهٔ مرمت، دانشگاه هنر اصفهان، اصفهان، ایران،(نویسندهٔ مسئول).
m.azadi@aui.ac.ir
۳. دانشیار، عضو هیئت‌علمی پژوهشگاه شیمی و مهندسی شیمی ایران، تهران، ایران.
afsharpour@ccerci.ac.ir
۴. دانشیار، عضو هیئت‌علمی دانشکدهٔ معماری و شهرسازی، دانشگاه علم و صنعت، تهران، ایران.
m.mozaffar@aui.ac.ir

گنجینهٔ اسناد
«۱۱۱»
فصلنامهٔ علمی- پژوهشی | سازمان اسناد و کتابخانهٔ ملی ج.ا.ایران -پژوهشکدهٔ اسناد
شاپا(چاپی): ۳۶۵۲-۱۰۲۳ | شاپا(الکترونیکی): ۲۲۶۸-۲۵۳۸
شناسانهٔ برنمود رقمی (DOI): 10.22034/ganj.2018.2302
نمایه در ISC، SID و ایران ژورنال | http://ganjineh.nlai.ir
سال ۲۸، دفتر۳، پاییز ۱۳۹۷ | صص: ۱۶۶-۲۰۲(۳۷)
تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱/۱۸ | تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۷/۸
مطالعات آرشیوی

مقدمه

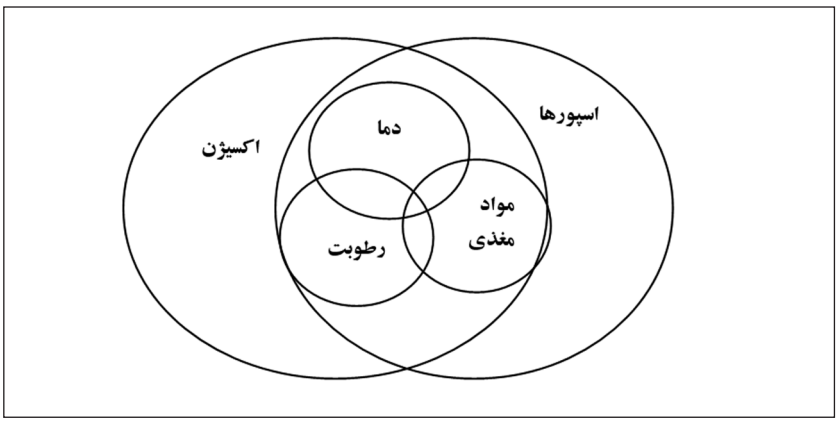
طی قرون متمادی بخش عمده‌ای از میراث فرهنگی به اَشکال مختلف بر روی کاغذ ثبت شده‌است و این کاغذها درمعرض آسیب‌های بیولوژیک به‌ویژه آسیب‌های ناشی از فعالیت قارچ‌ها قرار دارند (Floian, 2004; Michaelsen et al., 2013; Rakotonirainy et al., 2007; Zotti and Ferroni, 2008; Mesquita et al., 2009). قارچ‌ها و باکتری‌ها بیشترین عوامل آسیب‌رسان به مواد آلی در موزه‌ها، آرشیوها و کتابخانه‌ها هستند(Zajic et al., 1982; Konkolet al., 2010). کتاب‌ها به‌طور ویژه‌ای برای رشد میکروارگانیسم‌ها مساعدند؛ زیرا علاوه‌بر سلولز، مواد آلی دیگری مانند نشاسته و چرم نیز در آن‌ها به‌کار رفته‌است که می‌تواند به‌وسیلهٔ قارچ‌ها استفاده شود.

اسپورهای فعال و غیرفعال قارچ‌ها در همه‌جا وجود دارند. این اسپورها بر روی آثار و در هوا معلق‌اند (Florian,2004). اندازهٔ اسپور کپک‌ها بین ۳–۶۰ میکرومتر متفاوت است و می‌تواند برای سال‌هایِ سال بارور باقی بماند. برای نمونه اسپور برخی از قارچ‌ها از جمله آسپرژیلوس[1] و پنی‌سیلیوم[2] بیش‌از ۱۲ سال دوام می‌آورد. درضمن با رشد قارچ‌های کپکی میلیون‌ها اسپور –بسته به وضعیت‌های متفاوت– تولید می‌شوند که با مساعدشدن وضعیت محیطی، فعالیت و رشد خود را آغاز می‌کنند (Martens, 2012). قارچ‌ها قدرت تولیدمثل سریع و فعالیت فیزیولوژیکی زیادی دارند و به همین علت، به‌راحتی خود را با محیط‌های گوناگون سازگار می‌کنند و با سرعت روی بسترهای گوناگون تکثیر می‌شوند(Haines and Kohler, 1986; Parker, 1988; Raquel Neves et al., 2009; Kowalik, 1980). به‌طور معمول آسیب ناشی از آلودگی‌های قارچی به‌میزان بسیار کم شروع می‌شود و سپس عوامل نامناسب محیطی (مانند دما و رطوبت نسبی) به آن شتاب می‌بخشد (Szczepanowska and Moomaw, 1994; Ljaljević et al., 2008). طی فرسایش ناشی از قارچ‌ها، بافت میسلیوم قارچ روی لایهٔ بیرونی اثر را می‌پوشاند و به آن می‌چسبد (Pinzari et al., 2006; Borrego et al., 2010; Zotti et al., 2011). حملهٔ قارچ‌ها به الیاف سلولزی سبب تضعیف این الیاف (کاهش استحکام ساختاری) و تغییرات رنگی بر روی آن‌ها می‌شود (Florian, 2004; Zotti et al., 2008; Abe, 2010; Borrego et al., 2010; Gutarowska et al., 2012). این تغییرات بر سطح آثار کاغذی به‌شکل لکه‌های رنگی گوناگون است. برای نمونه قارچ‌ها سبب ایجاد فاکسینگ و یا بی‌رنگ‌شدن –باختگی– و یا ایجاد لکه‌های زردرنگ در آثار کاغذی می‌شوند (Berovic, 2003). هم‌چنین لکه‌های رنگی قارچ بر روی دست‌نوشته‌ها علاوه‌بر اختلال در خوانایی نوشته، ارزش‌های زیبایی‌شناختی اثر را نیز تهدید می‌کند. (Florian, 2004; Pinzari et al., 2006; Hidalgo and Borrego, 2006; Michaelsen et al., 2012).

1. Aspergillus sp.
2. Penicillum sp.

درضمن رسوب قارچ‌های موجود در هوای کتابخانه‌ها بر روی کتاب‌ها وقفسه‌ها موجب تماس افراد با تعداد زیادی از اسپورهای قارچی می‌شود که می‌تواند سبب واکنش‌های حساسیتی زیادی بشود. تماس با کپک‌ها هم‌چنین می‌تواند منجر به عوارضی نظیر آزار غشاهای مخاطی، سردرد، اختلال در توجه و حتی عوارض مزمنی نظیر سرطان در اشخاص شود (Florian, 1997; Schleibinger et al., 2008; ReisMenezes et al., 2011).

برای کنترل آسیب‌های ناشی از فعالیت و رشد قارچ‌ها، بررسی عوامل محیطی مؤثّر در رشد قارچ‌ها اهمیتی فراوان دارد. رشد قارچ‌ها متأثر از بسیاری عوامل نظیر: رطوبت نسبی، فعالیت آبی (a_w) [پی‌نوشت ۱]، دما، نور، زمان، میزان pH، اکسیژن، میزان نمک، اسپور قارچ‌ها در محیط و مواد مغذی (EC, 1994) است. طبق گفتهٔ برخی محققان از بین عوامل مذکورفعالیت آبی، دما، pH، و زمان از مهم‌ترین عوامل مؤثّر در رشد قارچ‌ها محسوب می‌شوند (AbdelHadiand Naresh, 2009; Nguyen Van Long et al., 2017). عده‌ای از پژوهشگران بیان می‌کنند که اغلب pH اسیدی، محرکی در رشد قارچ‌هاست (Nitterus, 2000).گروهی دیگر بر این اعتقادند که pH، نقشی مهم در جوانه‌زنی و تشکیل سموم قارچ دارد.



تصویر ۱

عوامل اصلی تاثیرگذار برای رشد و فعالیت قارچ‌های کپکی (Ontario) (Association of Architects, 2003

در بین قارچ‌های کپکی، گونه‌های آسپرژیلوس، پنی‌سیلیوم، آلترناریا[1]، کلادوسپوریوم[2]، فوزاریوم[3]، وکاتمیوم[4] قادرند سلولز را تجزیه کنند (Ponce-Jimenez et al., 2002)؛ هم‌چنین در بین این گونه‌های قارچی، به‌ترتیب آسپرژیلوس نایجر[5] [پی‌نوشت ۲]، پنی‌سیلیوم [پی‌نوشت ۳] و آلترناریا آلترناتا[6] [پی‌نوشت ۴] بیشترین آسیب را به آثار کاغذی وارد می‌کنند؛ آثاری که اغلب با مواد کتابخانه‌ای در ارتباط‌اند (قهری، ۱۳۸۵)؛ (Sidhu, 2002; Shamsian et al., 2006;

1. Alternaria sp.
2. Cladosporium sp.
3. Fusariumsp.
4. Chaetomium sp.
5. Aspergillus niger
6. Alternaria alternata

Rakotonirainy et al., 2007; Zotti et al., 2008). هم‌چنین این قارچ‌ها به‌دلیل ظرفیت زیادشان در رشدونمو در شرایط مناسب رشد قارچ‌ها (ازجمله: محیط‌های کشت گوناگون مثل مواد مغذی متفاوت (کاغذ، چوب، پارچه و...)، pH پایین، a_w پایین و دمای پایین) در محیط بسیار گسترده‌اند(Atanda et al., 2011). چون این قارچ‌ها آسیب‌هایی جدی و برگشت‌ناپذیر به کاغذهای تاریخی وارد می‌کنند و از عوامل اصلی در ایجاد بیماری‌های قارچی در انسان‌ها نیز به‌شمار می‌آیند، برای انجام تحقیق پیش‌رو انتخاب شدند. در تحقیق پیش‌رو تأثیر عوامل دما، فعالیت آبی (a_w)، pH، و زمان بر رشد قارچ‌های آسپرژیلوس نایجر، پنی‌سیلیوم، و آلترناریا آلترناتا در کاغذهای تاریخی ازطریق مطالعات تجربی بررسی شد. تاکنون تحقیقی دربارهٔ میزان رشد قارچ‌های آسپرژیلوس نایجر، پنی‌سیلیوم، و آلترناریا آلترناتا براثر متغیرهای دما، فعالیت آبی (a_w)، pH، و زمان، در بستر کاغذ انجام نشده‌است.

البته محققان بسیاری تأثیر عوامل محیطی را بر رشد قارچ‌ها بررسی کرده‌اند، ولی اغلب این مطالعات در حوزهٔ صنایع غذایی (Gock et al., 2003; Plaza et al., 2003; Magan and Lacey,1984; Marı´n et al. 1996)؛ و حوزهٔ مواد و مصالح ساختمانی (Viitanen and Bjurman, 1995;Pasanen et al., 2000;Nielsen et al., 2004) انجام شده‌است. مطالعات انجام‌شده در این دو حوزه، تأثیرهریک از متغیرهای دما، فعالیت آبی (a_w)، pH، و زمان را بر رشد و جوانه‌زنی قارچ‌های کپکی ازجمله آسپرژیلوس نایجرو آلترناریا آلترناتا بررسی کرده‌اند. برخی از این مطالعات یکی از این متغیرها و برخی دو متغیر و برخی متغیرهای دما، فعالیت آبی، pH، و زمان را در کنار هم بررسی کرده‌اند؛ ولی هیچ‌یک از این مطالعات به تأثیر دما، فعالیت آبی، pH، و زمان بر رشد قارچ‌های آسپرژیلوس نایجر، پنی‌سیلیوم، و آلترناریا آلترناتا در کاغذ و هم‌چنین کاغذهای تاریخی اشاره‌ای نکرده‌اند.

تحقیق حاضر به‌دنبال پاسخ به این مسئله است که برای پیشگیری از رشد قارچ‌ها در کاغذهای تاریخی چه تمهید ویژه‌ای باید براساس نوع و گونهٔ قارچ درنظر گرفته شود؟ و یا درصورتی‌که کاغذ دچار آلودگی قارچی شد، بدون توجه به نوع و گونهٔ قارچ چه تمهید عمومی‌ای باید برای کنترل رشد قارچ‌ها مدنظر قرارگیرد؟

پرسش تحقیق

کدام‌یک از متغیرهای تأثیرگذار بر رشد و فعالیت قارچ‌ها (دما، فعالیت آبی، pH، و زمان) بیشترین اثر را بر رشد قارچ‌های آسپرژیلوس نایجر، پنی‌سیلیوم، و آلترناریا آلترناتا در کاغذ دارد؟

به‌عبارت‌دیگر با برهم‌زدن کدام‌یک از عوامل مؤثّر بر رشد قارچ‌ها ازجمله دما،

فعالیت آبی، pH، و زمان، وتا چه اندازه‌ای می‌توان آسیب‌های ناشی از فعالیت قارچ‌های آسپرژیلوسِ نایجر، پنی‌سیلیوم و آلترناریا آلترناتا را در کاغذ کنترل کرد؟

یافته‌هایِ این تحقیق می‌تواند پایه‌ای برای مطالعاتِ حوزهٔ حفاظت و نگهداری کاغذهای تاریخی باشد؛ هم‌چنین این یافته‌ها برای کنترل روند فرسایش بیولوژیکی ناشی از فعالیت قارچ‌های آسپرژیلوسِ نایجر، پنی‌سیلیوم، و آلترناریاآلترناتا در کاغذ حیاتی‌اند. درضمن از این یافته‌ها برای مدل‌سازی ریاضیِ پیش‌بینی خطر رشد این قارچ‌ها در کاغذهای تاریخی استفاده خواهد شد؛ این موضوع از اهداف بعدی نگارندگان است.

مواد و روش‌ها

مطالعات تجربیِ این تحقیق در آزمایشگاه فوق تخصصیِ میکروبیولوژی و پری‌بیوتیک از مجموعه آزمایشگاه‌هایِ جامع علمی‌تحقیقاتیِ دانشگاه شهید بهشتی در دو مرحلهٔ زیر انجام شده‌است:

مرحلهٔ اول: آماده‌سازی نمونه‌ها

- **تهیهٔ نمونه‌های کاغذی**

به‌دلیل دسترسی نداشتن به کاغذهای تاریخی، برای مطالعات تجربی از کاغذ فیلتر آزمایشگاهی مانکتل ۳۹۳ [پی‌نوشت ۵]، به‌عنوان کاغذهای نمونهٔ آزمایشگاهی (به‌دلیل محتوای سلولز w/w ۱۰۰٪) استفاده شد. هم‌چنین برای دست‌یابی به نتایج دقیق‌تر، با پیرسازی تسریعی دما–رطوبتِ [پی‌نوشت ۶]این کاغذها سعی شد تا وضعیت این کاغذها به وضعیت کاغذهای تاریخی نزدیک شود.

- **پیرسازی تسریعی دما-رطوبت نمونه‌های کاغذ**

ابتدا نمونه‌کاغذهای مانکتل به‌شکل دایره با قطر ۲۰ میلی‌متر آماده شد و برای نزدیک‌کردن وضعیت نمونه‌ها به وضعیت کاغذهای تاریخی، نمونه‌کاغذها، پیرسازی تسریعی شدند. بدین‌منظور ابتدا کاغذها برای انجام آزمون، طبق استاندارد ISIRI: 133 نمونه‌برداری شدند. در ادامه آزمونه‌های مشروط‌شدهٔ کاغذ طبق استاندارد شمارهٔ ISIRI: 106-A1 انجام شد. سپس نمونه‌های مشروط‌شدهٔ کاغذ به‌مدتِ ۲۴۰ ساعت در دمای ۸۰ درجهٔ سلسیوس و رطوبت نسبی ۶۵ درصد براساس استاندارد شمارهٔ ISIRI: 4706برای پیرسازی تسریعی دما–رطوبت در دستگاه اِیجینگ(Binder KBF1150695712) قرار گرفتند.

• سترون‌کردن (استریل‌کردن)

– ابزار آزمایشگاهی

تمام ابزارهای آزمایشگاهی طبق استاندارد ملی ISIRI: 9597، در دمای ۱۲۱ درجهٔ سلسیوس و فشار ۱۵ پوند بر اینچ مربع به‌مدتِ ۱۵ دقیقه با دستگاه اتوکلاو استریل شدند.

– نمونه‌کاغذهای پیرسازی‌شده

برای استریل‌کردن نمونه‌کاغذهای پیرسازی‌شده، ابتدا سطح این کاغذها با فیلدوپلاتینِ استریل خراش داده شد، سپس کاغذها در شیشهٔ دردار قرار داده شد و طبق استاندارد ملی ISIRI: 9597،در دمای ۱۲۱ درجهٔ سلسیوس و فشار۱۵ پوند بر اینچ مربع به‌مدتِ ۱۵ دقیقه با دستگاه اتوکلاو استریل شد.

– محیط کشت

محیط کشت نیز پس‌از آماده‌سازی، طبق استاندارد ملی ISIRI: 9597 استریل شد.

• آماده‌سازی محیط کشت(PDA(Potato Dextrose Agar

پس‌از تهیهٔ محیط کشتِ سیب‌زمینی دکستروز آگار[1](Merck 110130)، ۳۹ گرم از این ماده در یک لیتر (۱۰۰۰ میلی‌لیتر) آب مقطر حل شد. پس‌ازحل‌شدن کامل آن با آب مقطر، محلول در لوله‌های درپیچ‌دار ۱۶×۱۶۰ میلی‌لیتری تقسیم شد و با استفاده از اتوکلاو در دمای ۱۲۱ درجهٔ سلسیوس با فشار ۱۵ پوند بر اینچ مربع به‌مدتِ ۱۵ دقیقه استریل شد. سپس لوله‌های حاوی محیط کشت PDA به‌مدتِ ۷ روز در دمای ۲۵ درجهٔ سلسیوس انکوبه شدند و سپس در یخچال با دمای ۴ درجهٔ سلسیوس نگهداری شدند. برای جلوگیری از کاهش فعالیت سوش و آلودگی‌های احتمالی، هرماه یک‌بار اِسلنت‌های جدیدی از آن تهیه شد.

البته برای تنظیم میزان فعالیت آبی (a_w) و غلظت یون هیدروژن (pH) برای بررسی این عوامل بر رشد هریک از قارچ‌های آسپرژیلوسِ نایجر، آلترناریا آلترناتا و پنی‌سیلیوم از روش ترکیب مواد موردنیازبرای تنظیم این دو عامل با محیط کشت استفاده شد (در ادامهٔ مقاله به‌طور کامل شرح داده شده‌است).

برای تهیهٔ سوسپانسیون استاندارد از قارچ‌های آسپرژیلوسِ نایجر، آلترناریا آلترناتا، وپنی‌سیلیوم طبق استاندارد (M38-P, v. 18, no. 13, Nov. 1998) از حاشیهٔ تازه‌روییدهٔ کلنی قارچ‌های آسپرژیلوسِ نایجر، آلترناریا آلترناتا، و پنی‌سیلیوم–که روی محیط PDA کشت داده شده بودند (کشت هفت‌روزه)–استفاده شد. برای این کار، براساس توصیهٔ آراجو و همکاران[2] (۲۰۰۴) به کمک آنس استریل از سطح کلنی رشدکرده در محیط PDA اسپور برداشته شد و برای تنظیم فعالیت آبی با ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطرِ استریلِ محتوی ۰/۰۵٪

1. Potato dextrose agar (PDA)
2. Araujo and Rodrigues and Pina-Vaz, 2004

قطرهٔ توئین ۸۰(Merck KGaA, 817061) [پی‌نوشت ۸] و گلیسرول[1] ۸۷٪(Merck 4094) مخلوط شد (Araujo and Rodrigues and Pina-Vaz, 2004)؛ هم‌چنین برای پیشگیری از آلودگی محیط کشت،سوسپانسیون قارچ‌ها در زیر هودِ میکروب‌شناسی تهیه شد (میزان رِقَّت[2]هریک از گونه‌های قارچی آسپرژیلوسِ نایجر، پنی‌سیلیوم، و آلترناریاآلترناتا در زیر شرح داده شده‌است).پس‌از همگن‌شدن سوسپانسیون، برای استانداردکردن سوسپانسیون مقدار ۱۰ میکرولیتر سوسپانسیون مذکور روی لامِ نئوبار[3] (لام شمارش سلول‌های خونی) قرار داده شد و تعداد اسپورهای قارچی در خانه‌های شمارش گلبول‌های سفید درزیرمیکروسکوپ شمارش شد (Araujo and Rodrigues and Pina-Vaz, 2004) و عدد حاصل در ضریب ۱۰ (فاصلهٔ لام از لامل) و ۱۰۰ (برای به‌دست‌آوردن تعداد سلول‌ها در میلی‌لیتر) ضرب شد (امیدی تبریزی، ۱۳۸۳). مطابق با توصیهٔ Paule-Marina Nanguy و همکاران (۲۰۱۰)، برای به‌حداقل‌رساندن تأثیر بالقوهٔ تغییر فعالیت آبی (a_w) بر سوسپانسیون قارچی و رشد قارچ‌ها، سوسپانسیون قارچی تهیه‌شده به‌سرعت (کمتر از ۵ دقیقه) برای تلقیح محیط‌های کشت استفاده شد. در مرحلهٔ آخر، هریک از پلیت‌های حاوی محیط کشت (نمونه‌های کاغذ) شماره‌گذاری شد. سپس سطح کاغذهای نمونه که در ظرف‌های کشت قرار گرفته بودند، با سوسپانسیون قارچ‌های تهیه‌شده، تلقیح شدند. در این راستا ۵۰ میکرولیتر از هریک از سوسپانسیون‌های آماده‌شده، با سمپلر به روش تلقیح نقطه‌ای به مرکز پلیت منتقل شد. پس‌از تلقیح، برای حفظ رطوبت پتری‌دیش‌ها(کم‌آب‌نشدن)تمام ظرف‌ها با پارافیلم[4] مهروموم شدند و در انکوباتور به‌مدتِ ۴ هفته قرار گرفتند.

قارچ آسپرژیلوسِ نایجر

رِقَّت حاصل برای قارچ آسپرژیلوسِ نایجر به‌صورتی تهیه شد که تعداد سلول‌های موجود در آن ۱×۱۰^{۶} سلول به ازای هر میلی‌لیتر سوسپانسیون قارچی (۱×۱۰^{۶} CFU[5]/ml) است(Petrikkou et al., 2001; Dagnas and Onno and Membré, 2014).

قارچ پنی‌سیلیوم و آلترناریا آلترناتا

برای قارچ پنی‌سیلیوم و آلترناریا آلترناتا رِقَّت حاصل به‌صورتی تهیه شد که تعداد سلول‌های موجود در آن ۵۱×۱۰^{۵} و ۵۱×۱۰^{۴}(CFU/ml)است.

1. Glycerol
2. dilution: رقیق‌شدگی
3. Neubauer's chamber (haemocytometer)
4. Prafilm
5. Colony-Forming Unit

مرحلهٔ دوم: طراحی آزمون‌ها برای بررسی تأثیر دما، فعالیت آبی (a_w)، pH ، و زمان بر رشد قارچ‌ها

روند رشد قارچ‌های آسپرژیلوس نایجر(PTCC: 5012)، آلترناریا آلترناتا(PTCC: 5224)، و پنی‌سیلیوم(PTCC: 5251)تحت‌تأثیر دماهای مختلف (۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۲۵، ۳۰، ۳۵، و ۴۰ درجهٔ سلسیوس) و فعالیت آبی[پی‌نوشت ۹] (۰٫۸۰، ۰٫۸۵، ۰٫۹۰، ۰٫۹۵، ۰٫۹۷، ۰٫۹۸، ۰٫۹۹) و pH (۳، ۴، ۵، ۶، ۷، ۸، ۹) ازطریق میزان رشد شعاعی بررسی شد. هم‌چنین برای بررسی تأثیر متغیر زمان، میزان رشد این قارچ‌ها در وضعیت مطلوب (دما، فعالیت آبی، و pH مطلوب) به‌مدتِ ۱۶۸ ساعت بررسی شد. سایر عوامل تأثیرگذار فرعی بر رشد این قارچ‌ها ازجمله شدت نور هم ثابت درنظر گرفته شد (تمام آزمون‌ها در تاریکی انجام شد). تمامی آزمایش‌ها برای افزایش صحت و دقت ۴بار انجام شد؛ آنالیزها هم با نرم‌افزارSPSS 22 انجام شد.

گفتنی است که برای تنظیم فعالیت آبیِ(a_w) محیط کشت، با هدف بررسی تأثیر فعالیت آبی بر رشد قارچ‌های آسپرژیلوسِ نایجر، آلترناریا آلترناتا و پنی‌سیلیوم، براساس توصیه‌های پیت و هاکینگ(۱۹۷۷) و دِیلِن[1] (۱۹۷۸) از گلیسرول ۸۷٪ به‌دلیل ماهیت هیگروسکوپی و نقش آن به‌عنوان پلاستی‌سایزر (تأثیرگلیسرول در جذب رطوبت) استفاده شد. بدین‌منظور هنگام آماده‌سازی محیط کشت PDA، محلول گلیسرول و آب مقطر به آن اضافه شد(Pitt and Hocking, 1977; Dallyn, 1978). سپس از a_wمتر (aw meter, Testo 400) [پی‌نوشت ۱۰] برای اندازه‌گیری و کنترل فعالیت آبی موردنظر استفاده شد.

برای تنظیم فعالیت آبی محیط کشت از جدول زیر استفاده شد:

میزان گلیسرول ۸۷٪ برحسب گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب	فعالیت آبی (a_w)
(۲۵٫۶)	۰٫۹۰
۱۶٫۳	۰٫۹۵
۶٫۷	۰٫۹۷
۵	۰٫۹۸
بدون افزودن گلیسرول	۰٫۹۹۵

1. Dallyn

جدول ۱

میزان استفاده از گلیسرول ۸۷٪ برای تنظیم فعالیت آبی محیط کشت PDA

برای تنظیم pH محیط کشت هم از ترکیبات اسیدی و بازی ضعیف استفاده شد تابافت کاغذ را به‌هم نریزد. البته این کار بعداز استریل‌شدن و خنک‌شدن محیط کشت (تا دمای۲۵°C) انجام شد ومقدار pH در حد موردنظر (۰/۲ ±) تنظیم شد. بدین‌ترتیب که ترکیبات شیمیایی مختلفی برای تنظیم pH به محیط کشت اضافه شد و بعداز ۶ روز میزان pH محیط کشت برای حصول اطمینان با pH متر Jenway 3305(مجهز به الکترود شیشه‌ای) اندازه‌گیری و کنترل شد (Gorski and Ritzert1977; ISO 65881: 2005).

در این راستا برای تنظیم pH۲، ۳، ۴ و ۵ از سیترات سدیم[1] یا اسیدسیتریک[2]، و برای تنظیم pH ۹-۶ از مونوپتاسیم فسفات[3] استفاده شد.

جدول ۲

محلول‌های بافر استاندارد برای تنظیم pH محیط کشت
(PDAGorski and Ritzert, 1977).

Table 1 Buffer systems used to adjust pH

Measured pH	Buffer A (*x* ml) (mol l^{-1})		Buffer B (*y* ml) (mol l^{-1})		pH value after 6-day incubation
3·1	0·2 Na_2HPO_4	20·4	0·1 citric acid	82	3·0
3·7	0·1 sodium citrate	68	0·1 citric acid	39	3·6
4	0·1 sodium acetate	30	0·1 acetic acid	80	4·0
4·3	0·2 sodium citrate	38	0·1 citric acid	100	4·2
4·9	0·1 sodium citrate	30	0·1 citric acid	61	4·7
5·1	0·2 sodium citrate	90	0·1 citric acid	70	5·1
5	0·1 sodium acetate	74	0·1 acetic acid	100	5·0
6	0·25 KH_2PO_4	100	0·25 NaOH	24	5·9
7	0·2 Na_2HPO_4	16·5	0·1 citric acid	3·5	6·9
7·655	0·2 Na_2HPO_4	19·45	0·1 citric acid	0·55	7·6
8	0·1 Tris aminomethane hydroxymethyl	100	0·1 HCl	58·4	8·0
9	0·1 Tris aminomethane hydroxymethyl	100	0·1 HCl	11·4	9·0
9	0·025 $Na_2B_4O_7{\cdot}10H_2O$	100	0·1 HCl	9·2	9·0
10	0·025 $Na_2B_4O_7{\cdot}10H_2O$	100	0·1 NaOH	36·6	10·0
10	0·05 $NaHCO_3$	100	0·1 NaOH	21·4	10·0
11	0·05 $NaHCO_3$	100	0·1 NaOH	45·4	11·0
11	0·05 $NaHPO_4$	100	0·1 NaOH	8·2	11·0

گفتنی است که اغلب قارچ‌ها در pH ۸-۴بهترین فعالیت را دارند؛ بنابراین برای بررسی تأثیر دما و فعالیت آبی بر میزان رشد قارچ‌های موردمطالعه، pH محیط کشت ۶ (میانگین ۴-۸) درنظر گرفته شد.

اندازه‌گیری میزان رشد شعاعی(Radial growth rate)

برای اندازه‌گیری میزان رشد شعاعی، پتری‌دیش‌های حاوی محیط کشت قارچ‌های انتخاب‌شده، در دما، فعالیت آبی، وpH های متفاوت در انکوباتور نگهداری شدند. پس‌از ۴ هفته انکوبه‌شدن، از ابتدای هفتهٔ پنجم به‌مدتِ یک هفته و به‌صورت روزانه قطر پرگنه در هر تیمار دمایی، فعالیت آبی (a_w)، pH، و زمان با کولیس اندازه‌گیری شد و درنهایت میزان رشد شعاعی روزانهٔ کلنی در هر تیمار دمایی، فعالیت آبی و pH، و زمان، برای قارچ‌های انتخاب‌شده به‌دست آمد (Goldfarb et al. 1989).

1. Sodium Citrate ($NaC_6H_5O_7$)
2. Citric acid ($C_6H_8O_7$)
3. Monopotassiumphosphate (KH_2PO_4)

یافته‌ها

بررسی تأثیر دما بر رشد قارچ‌های آسپرژیلوسِ نایجر، آلترناریاآلترناتا، و پنی‌سیلیوم در نمونه‌کاغذهای آماده‌شده

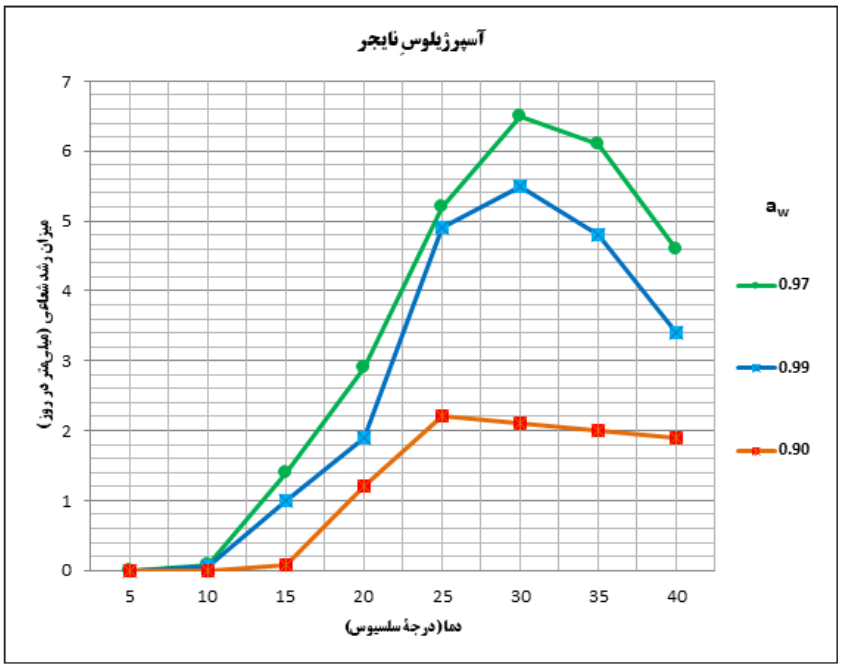
برای بررسی تأثیر دما بر میزان رشد قارچ‌های آسپرژیلوسِ نایجر، آلترناریا آلترناتا و پنی‌سیلیوم، با سمپلر ۵۰ میکرولیتر از سوسپانسیون تهیه‌شده از هرکدام از قارچ‌ها، بر روی نمونه‌کاغذهای آماده‌شده (در پتری‌دیش‌ها)تلقیح شد. پتری‌دیش‌ها در دماهای ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۲۵، ۳۰، ۳۵،و ۴۰ درجهٔ سلسیوس و درفعالیت آبی(a_w) ۰,۹۹؛ ۰,۹۰؛ ۰,۹۷و در pH ۶ به‌مدتِ ۴ هفته در تاریکی انکوبه شدند. پس‌از ۴ هفته،از ابتدای هفتهٔ پنجم به‌مدت یک هفته و به‌صورت روزانه قطر کلنی پتری‌دیش‌ها اندازه‌گیری شد. البته پس‌از بررسی نتایج آزمایش‌ها در مرحلهٔ بعدی –یعنی بررسی تعیین میزان مطلوب فعالیت آبی برای هریک از گونه‌های قارچی و مشخص‌شدن میزان مطلوب فعالیت آبی برای رشد قارچ آلترناریا آلترناتا علاوه‌بر موارد ذکرشده، میزان تأثیر فعالیت آبی ۰,۹۸ هم در رشد قارچ آلترناریا آلترناتا در دماهای مختلف بررسی شد.

انواع گونهٔ قارچ	دما (°c)					
	جوانه‌زنی‌اسپور			رشدمیسلیوم		
	حداقل	مطلوب	حداکثر	حداقل	مطلوب	حداکثر
آسپرژیلوسِ‌نایجر	۱۰	۳۵	۴۰	۵	۳۰	۴۰
آلترناریاآلترناتا	۵	۳۵	۴۰	۵	۲۵	۳۰
پنی‌سیلیوم.sp	۵	۲۵	۳۵	۵	۲۵	۳۵

جدول ۳

میزان حداقل، حداکثر، و مطلوب دمابرای رشد و جوانه‌زنی قارچ‌های آسپرژیلوسِ نایجر)،آلترناریا آلترناتا و پنی‌سیلیوم در فعالیت آبی مطلوب برای هریک از گونه‌های قارچی و pH ۶

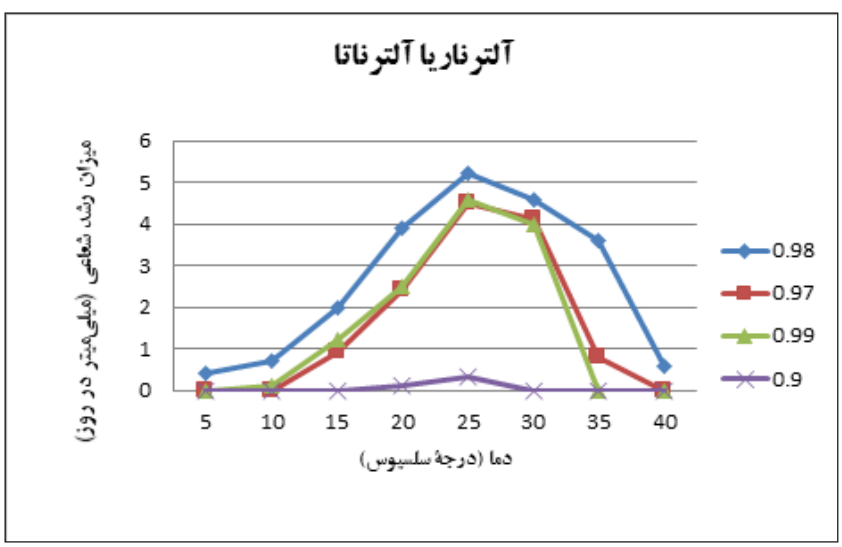
آسپرژیلوسِ نایجر



تصویر ۲

تأثیر دماهای مختلف بر رشد آسپرژیلوسِ نایجر در a_w ۰٫۹۰؛ ۰٫۹۹ و a_w مطلوبِ ۰٫۹۷ در pH۶، پس از ۴ هفته

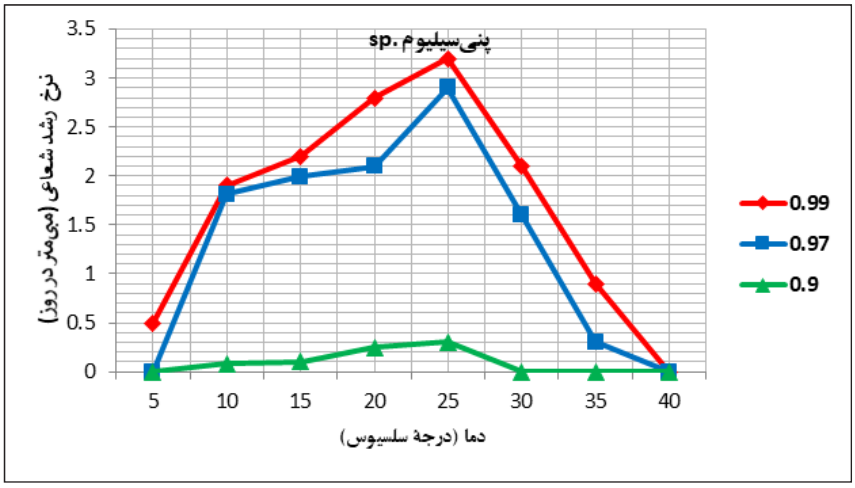
آلترناریا آلترناتا



تصویر ۳

تأثیر دماهای مختلفبر رشد آلترناریا آلترناتا در a_w ۰٫۹۰؛ ۰٫۹۹؛۰٫۹۷ و a_w مطلوبِ ۰٫۹۸ در pH ۶، پس از ۴ هفته

پنی‌سیلیوم.sp



تصویر ۴

تأثیر دماهای مختلف بر رشد پنی‌سیلیوم .sp در a_w ۰٫۹۷،۰٫۹۰ و a_w مطلوب ۰٫۹۹ در pH ۶ پس‌از ۴ هفته

بررسی تأثیر فعالیت آبی بر رشد قارچ‌های آسپرژیلوسِ نایجر، آلترناریا آلترناتا و پنی‌سیلیوم در نمونه‌کاغذهای آماده شده

برای بررسی تأثیرفعالیت آبی بر میزان رشد قارچ‌های آسپرژیلوسِ نایجر، آلترناریا آلترناتا و پنی‌سیلیوم، با سمپلر ۵۰ میکرولیتر از سوسپانسیون تهیه شده از هرکدام از قارچ‌ها بر روی نمونه‌کاغذهای آماده‌شده (در پتری‌دیش‌ها)تلقیح شد. پتری‌دیش‌ها در دماهای، ۱۵، ۲۰، و۲۵درجهٔ سلسیوس و فعالیت آبی(۰٫۸۰، ۰٫۸۵، ۰٫۹۰، ۰٫۹۵، ۰٫۹۷، ۰٫۹۸، ۰٫۹۹) وpH ۶ به‌مدتِ ۴ هفته در تاریکی انکوبه شدند. پس‌از ۴ هفته،از ابتدای هفتهٔ پنجم به‌مدت یک هفته و به‌صورت روزانه قطر کلنی پتری‌دیش‌ها اندازه‌گیری شد.

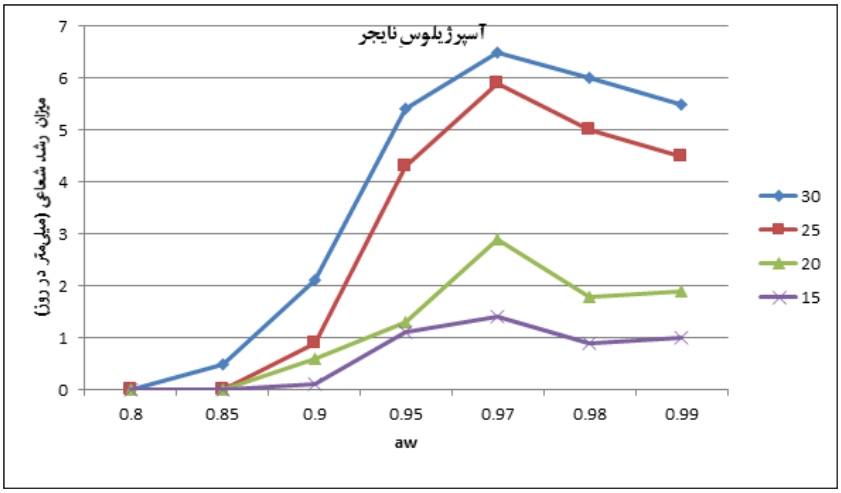
گفتنی است چون دمای مطلوب برای رشد قارچ آسپرژیلوسِ نایجر ۳۰درجهٔ سلسیوس است، در بازه‌های مختلف فعالیت آبی برای این قارچ دمای ۳۰ درجه هم بررسی شد.

انواع گونهٔ قارچ	فعالیت آبی (a_w)			
	جوانه‌زنی اسپور		رشدمیسلیوم	
	حداقل	مطلوب	حداقل	مطلوب
آسپرژیلوسِ نایجر(دمای ۳۰°c)	۰٫۸۰	۰٫۹۷	۰٫۸۵	۰٫۹۷
آلترناریا آلترناتا(دمای ۲۵°c)	۰٫۸۵	۰٫۹۸	۰٫۸۵	۰٫۹۸
پنی‌سیلیوم.sp(دمای ۲۵°c)	۰٫۸۵	۰٫۹۹	۰٫۸۵	۰٫۹۹

جدول ۴

میزان حداقل و مطلوب فعالیت آبی برای رشد میسلیوم و جوانه‌زنی قارچ‌های آسپرژیلوسِ نایجر، آلترناریاآلترناتا، و پنی‌سیلیوم؛ در دمای مطلوب برای هریک از گونه‌ها و pH ۶

آسپرژیلوسِ نایجر



تصویر ۵

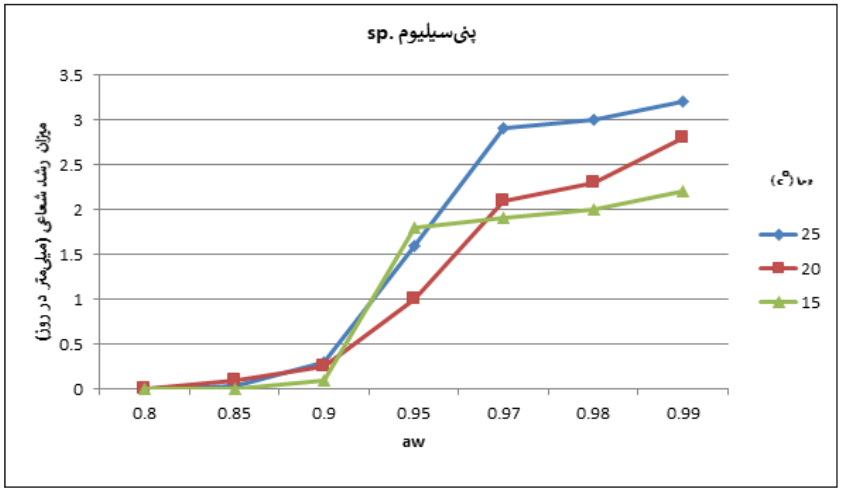
تأثیر a_wهای گوناگون در میزان رشد شعاعی قارچ آسپرژیلوسِ نایجر در دمای ۱۵، ۲۰، ۲۵ و دمای مطلوب ۳۰ درجهٔ سلسیوس و pH۶ (همان‌طورکه مشاهده می‌شود رشد قارچ آسپرژیلوسِ نایجر در دمای ۳۰ درجهٔ سلسیوس و a_w ۰٫۹۷ تشدید شده‌است).

آلترناریا آلترناتا

تصویر ۶

تأثیر a_wهای گوناگون در میزان رشد شعاعی قارچ آلترناریا آلترناتا در دمای ۱۵، ۲۰ و دمای مطلوب ۲۵ درجهٔ سلسیوس در pH ۶. (همان‌طورکه مشاهده می‌شود رشد قارچ آلترناریا آلترناتا در دمای ۲۵ درجهٔ سلسیوس و a_w ۰٫۹۸ تشدید شده‌است).

پنی‌سیلیوم .sp



تصویر ۷

تأثیر a_wهای گوناگون در میزان رشد شعاعی قارچ پنی‌سیلیوم .sp در دمای ۱۵، ۲۰ و دمای مطلوب ۲۵ درجهٔ سلسیوس و pH۶ (همان‌طورکه مشاهده می‌شود رشد قارچ پنی‌سیلیوم در دمای ۲۵ درجهٔ سلسیوس و a_w ۰,۹۹ تشدید شده‌است).

بررسی تأثیر غلظت یون هیدروژن (pH) در رشد قارچ‌های آسپرژیلوسِ نایجر، آلترناریا آلترناتا و پنی‌سیلیوم در نمونه کاغذهای آماده‌شده

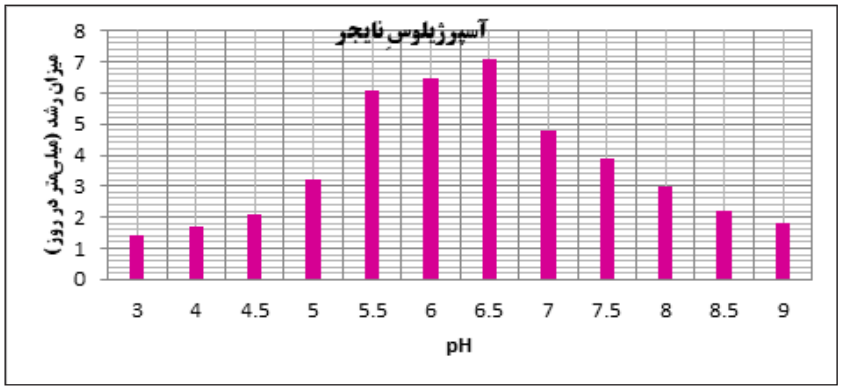
برای بررسی تأثیرغلظت یون هیدروژن (pH) برمیزان رشد قارچ‌های آسپرژیلوس نایجر، آلترناریا آلترناتا، وپنی‌سیلیوم با سمپلر ۵۰ میکرولیتر از سوسپانسیون تهیه‌شده ازهرکدام از قارچ‌ها بر روی محیط کشت تلقیح شد. محیط کشت در دما و فعالیت آبی مطلوب- براساس نتایج آزمایش‌های انجام‌شده-برای هریک از گونهٔ قارچ‌ها درنظر گرفته شد. ازاین‌رو برای بررسی تأثیر غلظت یون هیدروژن در میزان رشد شعاعی قارچ آسپرژیلوس نایجر، فعالیت آبی (a_w: ۰,۹۷) و دما ۳۰ درجهٔ سلسیوس و برای قارچ آلترناریا آلترناتا، فعالیت آبی (a_w: ۰,۹۸) و دما ۲۵ درجهٔ سلسیوس و برای قارچ پنی‌سیلیوم، فعالیت آبی (a_w: ۰,۹۹) و دما ۲۵ درجهٔ سلسیوس مقدارهای pH ۳، ۴، ۴,۵، ۵، ۵,۵، ۶، ۶,۵، ۷، ۷,۵، ۸، ۸,۵ و ۹ تنظیم شد و پس‌از ۴ هفته انکوبه‌شدن، از ابتدای هفتهٔ پنجم به‌مدت یک هفته و به‌صورت روزانه قطر کلنی پتری‌دیش‌ها اندازه‌گیری شد.

انواع گونهٔ قارچ	میزان pH جوانه‌زنی اسپور- رشد میسلیوم		
	حداقل	مطلوب	حداکثر
آسپرژیلوسِ نایجر	≤۳	۶٫۵	≤۹
آلترناریا آلترناتا	≤۳	۶٫۵	≤۹
پنی‌سیلیوم sp.	≤۳	۶	≤۹

جدول ۵

میزان حداقل، حداکثر، و مطلوب pH برای قارچ‌های آسپرژیلوسِ نایجر، آلترناریا آلترناتا، و پنی‌سیلیوم در دماها و فعالیت آبی مطلوب برای هریک از گونه‌های قارچ

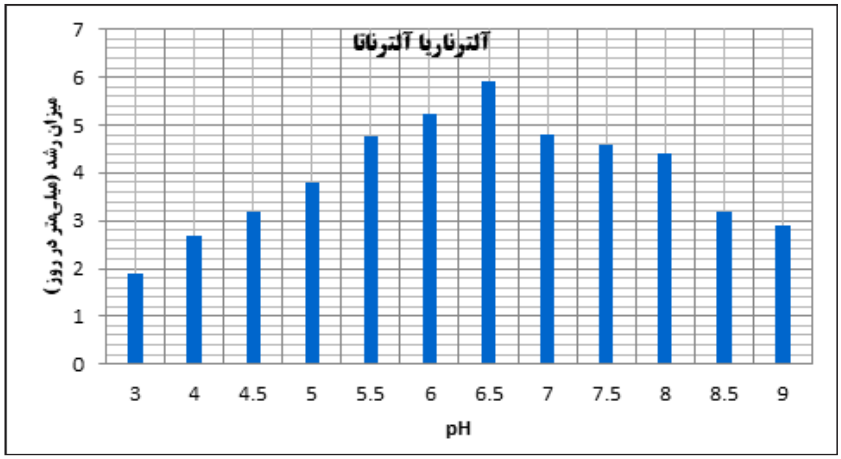
آسپرژیلوسِ نایجر



تصویر ۸

اثر pH در میزان رشد میسلیوم قارچ آسپرژیلوسِ نایجر در دمای ۳۰ درجهٔ سلسیوس و a_w ۰٫۹۷ (همان‌طورکه مشاهده می‌شود pH مطلوب برای رشد قارچ آسپرژیلوسِ نایجر ۶٫۵ است).

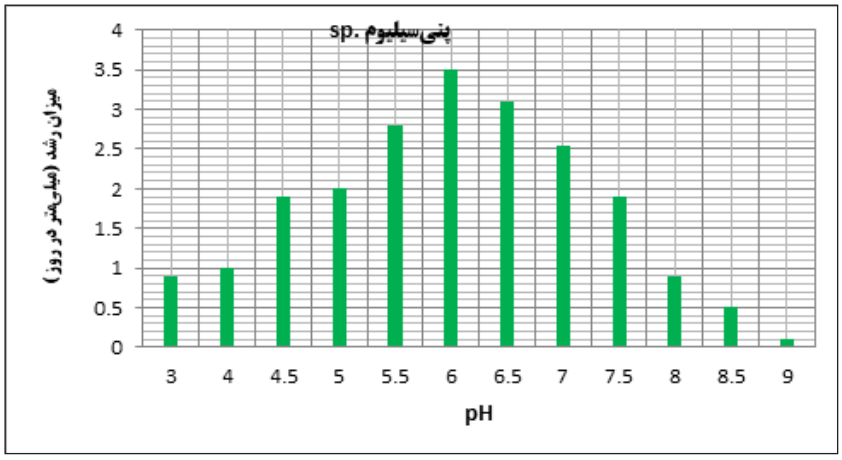
آلترناریا آلترناتا



تصویر ۹

اثر pH درمیزان رشد میسلیوم قارچ آلترناریا آلترناتا در دمای ۲۵ درجهٔ سلسیوس و a_w ۰٫۹۸ (همان‌طورکه مشاهده می‌شود pH مطلوب برای رشد قارچ آلترناریا آلترناتا ۶٫۵ است).

پنی‌سیلیوم.sp



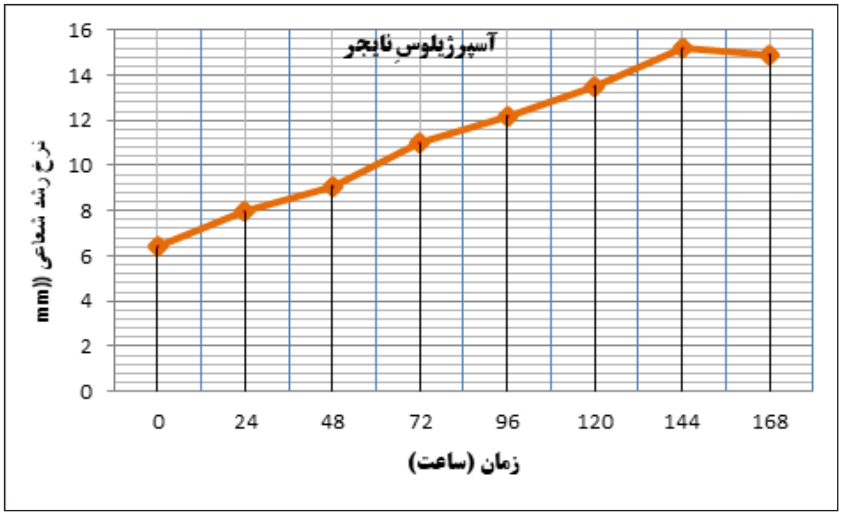
تصویر ۱۰

اثرpH در میزان رشد میسلیوم قارچ پنی‌سیلیوم .sp در دمای ۲۵ درجهٔ سلسیوس و a_w ۰٫۹۹ (همان‌طورکه مشاهده می‌شود pH مطلوب برای رشد قارچ پنی‌سیلیوم۶ است).

بررسی تأثیر متغیر زمان بر رشد قارچ‌های آسپرژیلوسِ نایجر، آلترناریا آلترناتا، و پنی‌سیلیوم

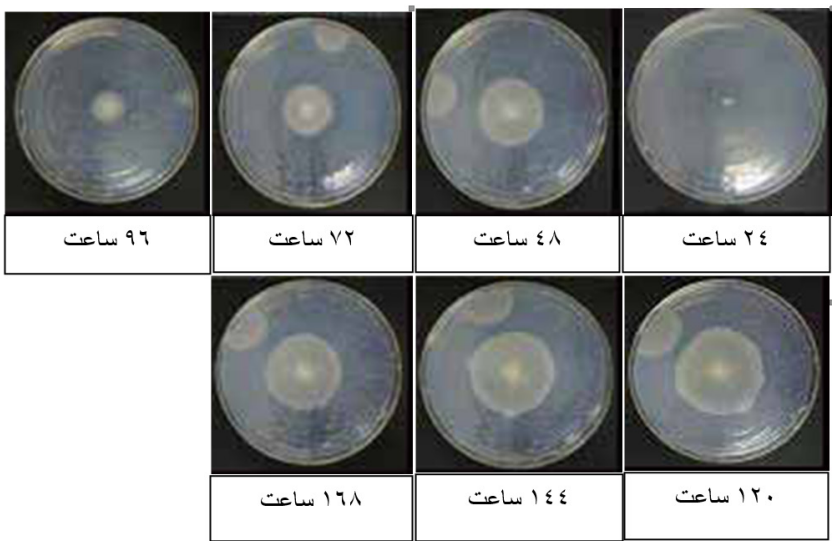
برای بررسی تأثیر متغیر زمان بر میزان رشد قارچ‌های آسپرژیلوسِ نایجر،آلترناریا آلترناتا، و پنی‌سیلیوم با سمپلر ۵۰ میکرولیتر از سوسپانسیون تهیه‌شده از هرکدام از قارچ‌ها بر روی نمونه‌کاغذهای آماده‌شده (در پتری‌دیش‌ها)تلقیح شد. پتری‌دیش‌ها در دما،فعالیت آبی، و pH مطلوب برای هرکدام از گونه‌های قارچ، به‌مدتِ ۴ هفته در تاریکی انکوبه شدند. پس‌از ۴ هفته، از ابتدای هفتهٔ پنجم به‌مدت ۱۶۸ ساعت (۷ روز) به‌صورت روزانه (هر ۲۴ ساعت یک‌بار) قطر کلنی برحسب واحد میلی‌متراندازه‌گیری شد.

آسپرژیلوسِ نایجر



تصویر ۱۱

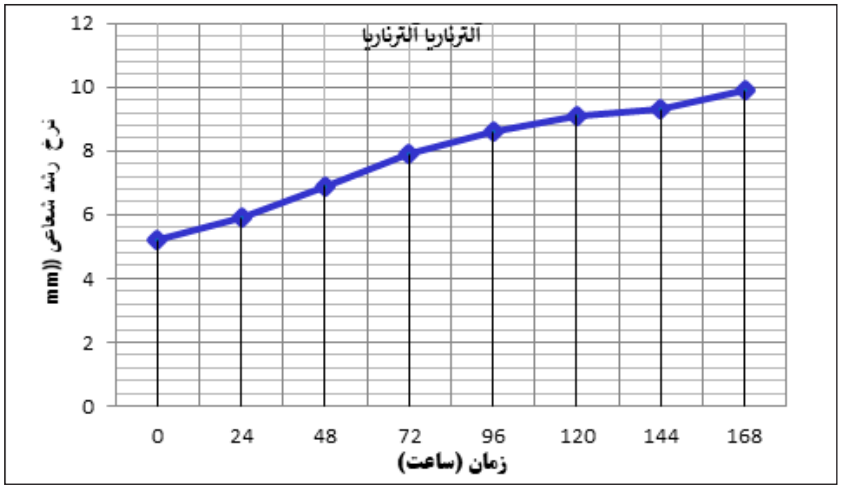
نرخ رشد شعاعی آسپرژیلوس نایجر در هفتهٔ پنجم کشت (بعداز ۴ هفته انکوبه‌شدن در دمای ۳۰ درجهٔ سلسیوس و a_w ۰٫۹۷ در PH۶٫۵). همان‌طورکه مشاهده می‌شود با گذشت زمان، روند رشد قارچ در وضعیت مطلوب تا ۱۴۴ ساعت صعودی است؛ ولی بعداز ۱۴۴ ساعت روند رشد کند می‌شود و تاحدودی کاهش می‌یابد. میزان رشد این قارچ در مدت محاسبه‌شده حدود ۲ میلی‌متر در روز بوده‌است.



تصاویر ۱۲ تا ۱۸

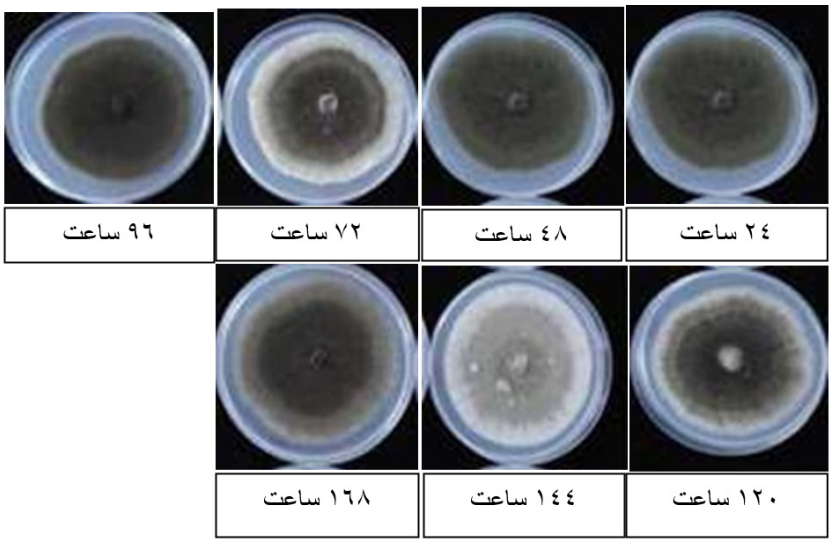
میزان رشد قارچ آسپرژیلوسِ نایجر در طول هفتهٔ پنجم کشت

آلترناریاآلترناتا



تصویر ۱۹

نرخ رشد شعاعی آلترناریا آلترناتا در هفتهٔ پنجم کشت(بعداز۴ هفته انکوبه‌شدن در دمای ۲۵ درجه سلسیوس و a_w ۰٫۹۸ و pH۶٫۵).
همان‌طورکه مشاهده می‌شود با گذشت زمان روند رشد این قارچ در وضعیت مطلوب تا ۱۶۸ ساعت صعودی است.
میزان رشد این قارچ در مدت محاسبه‌شده حدود ۱ میلی‌متر در روز بوده‌است.



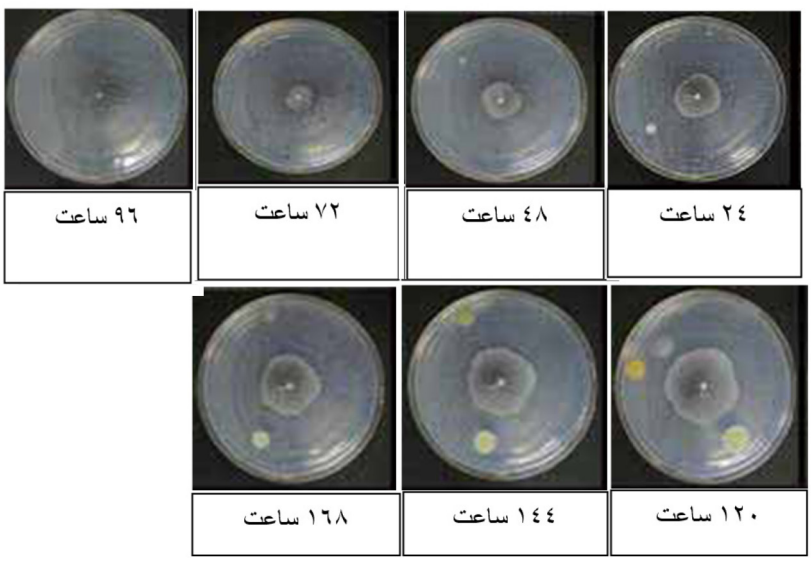
تصاویر ۲۰ تا۲۶

میزان رشد قارچ آلترناریا آلترناتا در طول هفتهٔ پنجم کشت

پنی‌سیلیوم .sp

تصویر ۲۷

نرخ رشد شعاعی پنی‌سیلیوم در طول هفتهٔ پنجم کشت (بعداز ۴ هفته انکوبه‌شدن در دمای ۲۵ درجه سلسیوس و a_w ۰,۹۹ در pH ۶).
همان‌طورکه مشاهده می‌شود با گذشت زمان روند رشد این قارچ در وضعیت مطلوب تا ۱۶۸ ساعت صعودی است.
به‌طور کلی میزان رشد این قارچ با گذشت زمان از الگوی معینی پیروی نمی‌کند.



تصاویر۲۸ تا۳۴

میزان رشد قارچ پنی‌سیلیوم .sp در طول هفتهٔ پنجم کشت که هر ۲۴ ساعت یک‌بار با کولیس برحسب میلی‌متر اندازه‌گیری شده‌است.

بحث و جمع‌بندی

در این تحقیق اثر عوامل فیزیک وشیمیایی بر میزان رشد قارچ‌های آسپرژیلوسِ نایجر، آلترناریا آلترناتا، و پنی‌سیلیوم در کاغذهای تاریخی بررسی شد. بررسی اثر عواملی مانند PH، دما، و فعالیت آبی بر میزان رشد این قارچ‌ها در مقیاس ماکروسکوپی می‌تواند به‌عنوان ابزاری برای ارزیابی خطر آسیب‌های بیولوژیک ناشی از فعالیت این قارچ‌ها در کاغذهای

تاریخی استفاده شود. در ادامه به تأثیرهریک از عوامل بررسی‌شده در این تحقیق –براساس نتایج مطالعات تجربی– اشاره شده‌است:

تأثیر دما بر رشد قارچ‌های آسپرژیلوسِ نایجر، آلترناریا آلترناتا، و پنی‌سیلیوم

باتوجه‌به جدول ۳ و تصاویر ۲ تا ۴ مشخص شد که میزان دمای مطلوب برای رشد قارچ آسپرژیلوسِ نایجر ۳۰ درجه، آلترناریا آلترناتا ۲۵ درجه وپنی‌سیلیوم هم ۲۵درجهٔ سلسیوس است؛ زیرا رشد حداکثری این قارچ‌ها در این دماها رخ داده‌است.مقدار رشد هریک از قارچ‌های مذکور در دمای بالاتر از ۳۰ درجه کاهش می‌یابد. اثر متقابل دما و فعالیت آبی در رشد هریک از این قارچ‌ها نیز معنی‌دار است؛ به‌طوری‌که در هر دمایی با کاهش فعالیت آبی، قابلیت رشد قارچ‌های موردمطالعه هم کم می‌شود. در دمای ۳۰ °C، pH ۶,۵ و a_w ۰,۹۷ میزان رشد قارچ آسپرژیلوسِ نایجر به حداکثر خود می‌رسد و در دمای pH۶,۵،۲۵°C و a_w ۰,۹۸ میزان رشد قارچ آلترناریا آلترناتا به حداکثر خود می‌رسد؛ میزان رشد قارچ پنی‌سیلیوم هم در دمای pH۶،۲۰ °C و a_w ۰,۹۹، به حداکثر خود می‌رسد.

تأثیر فعالیت آبی بر رشد قارچ‌های آسپرژیلوسِ نایجر، آلترناریا آلترناتا، و پنی‌سیلیوم

باتوجه‌به جدول ۴ و تصاویر ۵ تا ۷ مشخص شد که میزان فعالیت آبی مطلوب برای رشد قارچ آسپرژیلوسِ نایجر ۰,۹۷، آلترناریا آلترناتا ۰,۹۸ و پنی‌سیلیوم۰,۹۹ است؛ زیرا رشد حداکثری این قارچ‌ها در این مقدارها واقع شده‌است. البته این عامل هنگامی بهترین نقطهٔ رشد را نشان می‌دهد که سایر عوامل مؤثّر بر رشد این قارچ‌ها نیز در وضعیت مطلوب باشد. میزان رشد قارچ‌های مذکور با افزایش میزان گلیسرول (کاهش فعالیت آبی) کاهش داشت؛ چون با کاهش a_w در کاغذ میزان آب قابل‌دسترسی قارچ‌ها هم کاهش می‌یابد و در نتیجهٔ آن، رشد قارچ‌های موردمطالعه به تأخیر می‌افتد و فرسایشِ کاغذ به حداقل کاهش می‌یابد. با تعیین فعالیت آبیِ کاغذ می‌توان پیش‌بینی کرد که کدام‌یک از قارچ‌ها عامل بالقوه و منشأ فرسایش بیولوژیکی کاغذ خواهند بود؛چون هریک از گونه‌های قارچی فعالیت آبی متفاوتی دارند. همچنین با تعیین فعالیت آبی کاغذ و مقایسهٔ آن با حد بحرانی می‌توان مقدار مقاومت کاغذهای تاریخی را دربرابرعوامل بیولوژیک (میکروارگانیسم‌ها) مشخص کرد.

تأثیرpH بر رشد قارچ‌های آسپرژیلوسِ نایجر، آلترناریا آلترناتا، و پنی‌سیلیوم

باتوجه‌به جدول ۵ و تصاویر ۸ تا ۱۰ مشخص شد که میزان pH مطلوب برای رشد قارچ آسپرژیلوسِ نایجر ۶٫۵، آلترناریا آلترناتا ۶٫۵، وپنی‌سیلیوم ۶ است؛ چون رشد حداکثری این قارچ‌ها در این مقدارها رخ می‌دهد. البته این عامل هنگامی بهترین نقطهٔ رشد را نشان می‌دهد که سایر عوامل مؤثّر بر رشد این قارچ‌ها نیز در وضعیت مطلوب باشد.

قارچ‌های آسپرژیلوسِ نایجر و آلترناریا آلترناتا در pH قلیایی اندکی مقاومت بیشتر از پنی‌سیلیوم از خود نشان دادند؛ولیقارچ پنی‌سیلیوم در pH اسیدی تحمل بیشتری از خود نشان داد.

تأثیر متغیر زمان بر رشد قارچ‌های آسپرژیلوسِ نایجر، آلترناریا آلترناتا، و پنی‌سیلیوم

باتوجه‌به تصاویر ۱۱ تا ۳۴ مشخص شد که دو قارچ پنی‌سیلیوم و آلترناریا آلترناتا با گذشت زمان رشد صعودی دارند؛ ولی رشد قارچ آسپرژیلوسِ نایجر بعداز ۱۴۴ ساعت (۶ روز) کمی کُند می‌شود و تاحدودی کاهش می‌یابد.

نتیجه‌گیری

کاغذهای تاریخی به‌مرورزمان دچار فرسایش بیولوژیکی می‌شوند. باتوجه‌به ارزش کاغذهای تاریخی به‌عنوان میراث مکتوب همواره سعی بر آن است که بهترین وضعیت برای حفظ و نگهداری آن‌ها فراهم شود تا فرسایش آن‌ها به حداقل برسد. روش‌های نوین حفاظت در صورتی می‌تواند کارآمد باشد و روند فرسایش را کنترل یا کُند کند که اطلاعاتی جامع از عوامل آسیب‌رسان وجود داشته باشد. با دسترسی به اطلاعات جامع از شرایط رشد قارچ‌ها، می‌توان با برهم‌زدن این شرایط، رشد قارچ‌ها را تا حدود زیادی کُند و حتی متوقف کرد. توصیف رفتار و عوامل مؤثّر بر رشد قارچ‌های آسپرژیلوسِ نایجر، آلترناریا آلترناتا، و پنی‌سیلیوم در میکروبیولوژی و صنایع غذایی به‌طور گسترده مطالعه شده‌است؛ ولی برای اولین‌بار است که رفتار رشد این قارچ‌ها در کاغذ بررسی می‌شود. نتایج این مطالعه نشان داد که دما، فعالیت آبی،pH، و زمان از عوامل مؤثّر در رشد قارچ‌های مذکورهستند؛ ولی در بین این عوامل، فعالیت آبی مهم‌ترین عامل تأثیرگذار است.

این مطالعه آگاهی خوبی دربارهٔ نحوهٔ رشد این قارچ‌ها بر روی کاغذ، فراهم کرده‌است؛ به‌ویژه دربارهٔ تأثیر عامل فعالیت آبی؛ زیرا پیش‌ازاین، بررسی جامعی دربارهٔ تأثیر این عامل بر رشد قارچ‌های مذکور در کاغذ، انجام نشده بود. هم‌چنین تأثیر عامل pH نیز در رشد این قارچ‌ها ضعیف گزارش شده بود؛ بنابراین این مطالعه ازطریق ارزیابی عوامل مؤثّر بر رشد

قارچ‌های موردمطالعه، تعیین فرایند فرسایش بیولوژیکی در کاغذهای تاریخی را فراهم کرده‌است. داده‌های حاصل‌از این تحقیق در کنترل آسیب ناشی از قارچ‌های آسپرژیلوسِ نایجر، آلترناریا آلترناتا، و پنی‌سیلیوم بسیار مفید است. گفتنی است که کاهش فعالیتِ آبی در کاغذهای تاریخی همراه با کنترل دما و اسیدزدایی، فرسایش بیولوژیکی ناشی از فعالیت قارچ‌های مذکور را به کمترین مقدار کاهش می‌دهد. مطابق با نتیجهٔ این تحقیق، فعالیت آبی (a_w)شاخصی مناسب برای ارزیابی پایداری میکروبیولوژی کاغذهای تاریخی محسوب می‌شود؛ به‌عبارت‌دیگر مهم‌ترین نشانهٔ استحکام و مقاومت آثار کاغذی در مقابل فرسایش بیولوژیکی، میزان فعالیت آبی است؛ که می‌توان با کنترل آن،علاوه‌بر افزایش عمر آثار کاغذی، استحکام کاغذ را هم به‌میزان زیادی افزایش داد. با کاهش فعالیت آبی تا حد استاندارد مطلوب و کنترل آن می‌توان کاغذ را در مقابل فرسایش بیولوژیکی –حتی در محیطی با رطوبت نسبی زیاد هم– حفظ کرد. اگر فعالیت آبی از حدی کم‌تر باشد، میکروارگانیسم‌ها قادر نیستند رشد کنند و تکثیر شوند؛ بنابراین بهترین و مؤثرترین راه جلوگیری از فرسایش بیولوژیکی در آثار کاغذی، کاهش فعالیت آبی در آن‌هاست. کاهش فعالیت آبی در کاغذهای تاریخی یک مرحلهٔ کُشتن[1] نیست، بلکه مرحله‌ای کنترلی است. ازاین‌رومی‌توان با استفاده از روش‌های علمی و فنی در تولید و به‌کارگیری مواد اولیه و کمکی و افزودنی‌های مجاز در تولید کاغذ و یا فرآیند حفاظت و مرمت کاغذهای تاریخی، میزان فعالیت آبی کاغذ را به پایین‌تر از حد بحرانی رساند و بدین‌ترتیب مقاومت آن را در مقابل عوامل بیولوژیکی افزایش داد. البته نوع و گونهٔ قارچ نیز در تعیین میزان کاهش فعالیت آبی بسیار مهم است که باید مدنظر مرمتگر قرار گیرد؛ بدین‌منظور پیشنهاد می‌شود که دربارهٔ‌تأثیرمتغیّر فعالیت آبی در رشد سایر میکروارگانیسم‌هایِ عامل فرسایش کاغذهای تاریخی و هم‌چنین روش‌های کاهش فعالیت آبی در کاغذهای تاریخی تحقیقات جامعی انجام شود.

در این تحقیق به‌دلیلِ محدودیت، فقط به ۴ عامل اصلی تأثیرگذار بر رشد قارچ‌های آسپرژیلوسِ نایجر، آلترناریا آلترناتا، و پنی‌سیلیوم اشاره شد وتأثیر سایر متغیرهای تأثیرگذار بر رشد قارچ‌های موردمطالعه ثابت درنظر گرفته شد؛ ازاین‌رو بهتر است تا برای گرفتن نتیجهٔ مطلوب‌تر، سایر عوامل تأثیرگذار بر رشد این قارچ‌ها (ازجمله مواد متشکلهٔ کاغذ، نور، غلظت ذرات زیستی، و...)هم، در محیط آزمایشگاهی و در شرایط کنترل‌شده بررسی شوند.

۱. یعنی یک مرحلهٔ نابودی نیست، مثل ضدعفونی یا استفاده از مواد ضدقارچ که باعث‌کشته‌شدن‌قارچ‌هامی‌شوند.

پی‌نوشت‌ها

۱. نیاز میکروارگانیسم‌ها به آب ضروری است و آن‌ها بدون آب هیچ رشدی ندارند. آب موردنیاز برای میکروارگانیسم‌هابا عنوان آب قابل‌دسترسی یا فعالیت آبی [water activity (a_w)] بیان می‌شود. فعالیت آبی یک محیط عبارت است از: نسبت فشار بخار آب موجود در بستر به فشار بخار آب خالص پس‌از رسیدن به حالت تعادل رطوبتی در همان درجه‌حرارت (ISO 18787: 2017)؛ بنابراین بیشترین میزان فعالیت آبی مربوط به آب خالص و برابر با یک است و برای سایر محیط‌ها کمتر از یک خواهد بود (Florian, 1997).

نکته: رطوبت نسبی در حالت تعادل، ۱۰۰ برابر فعالیت آبی است: $ERH = a_w \times 100$

۲. قارچ آسپرژیلوسِ نایجر اغلب در کاغذ ظاهر می‌شود و در حضور گلوکز سبب کاهش فراوان مقاومت مادهٔ سلولزی می‌شود؛ کلنی‌های این قارچ در روی کاغذ، کوچک و سیاه‌رنگ‌اند (قهری، ۱۳۹۱).

۳. قارچ پنی‌سیلیوم.sp، یکی از شایع‌ترین قارچ‌های ساپروفیت موجود در طبیعت است که به‌آسانی در خاک و مواد گیاهی و غذایی درحال فساد رشد می‌کند. این قارچ بر روی الیاف سلولزی، پارچه، و کاغذ رشد می‌کند و با تولید آنزیم‌هایی از دستهٔ آمیلازها و اسیدهای آلی مانند اسیدلاکتیک، اثر تخریبی بر الیاف باقی می‌گذارد (قهری، ۱۳۹۱).

۴. قارچ آلترناریا آلترناتا در انواع مختلف کاغذ سبب آسیب‌های شدید می‌شود؛ به‌نحوی‌که لکه‌های سیاه، قهوه‌ای متمایل به سیاه، و قهوه‌ای متمایل به سبز ایجاد می‌کند (قهری، ۱۳۹۱).

۵. کاغذ فیلتر مانکتل ۳۹۳ (Munktell 393) با مشخصات: سلولز ۱۰۰٪ حجم خاکستر کمتر از ۰٫۰۱٪؛ وزن مخصوص $100 g/m^2$؛ و مقاومت کششی خیسِ $KPa>20$

6. پیرسازی تسریعی دما–رطوبت نمونه‌ها: برای پیرسازی، نمونه‌های کاغذ در وضعیتی قرار می‌گیرند که آسیب وارده به کاغذ (تخریب سلولز) به‌دلیلِ دریافت انرژی زیاد در مدت‌زمان کوتاه، شدت یابد. مهم‌ترین فرآیندهایِ مسبب تخریب کاغذ، هیدرولیز و اکسیداسیون سلولز است. البته نمی‌توان به‌طور قطع گفت که روش پیرسازی تسریع‌شده همانند فرآیندی است که در پیرشدن طبیعی روی می‌دهد؛ مطمئناً تفاوت‌هایی وجود دارد (Feller,1994).

۷. پیرسازی تسریعی، در آزمایشگاه شیمی اداره‌کل حفاظت و مرمتِ سازمان اسناد و کتابخانهٔ ملی با دستگاه ایجینگ (aging) انجام شد.

۸. Tween 80: توئین ۸۰ سبب کاهش جذب سطحی اسپورها و جلوگیری از تجمع اسپورها در سوسپانسیون قارچ می‌شود؛ هم‌چنین در یکنواخت‌ترشدن سوسپانسیون مؤثّر است (Araujo and Rodrigues and Pina-Vaz, 2004; Dantigny et al., 2006).

۹. چون بیشتر قارچ‌های رشته‌ای توانایی رشد در فعالیت آبیِ زیر ۰٫۹۰ را نیز دارند (Pitt and Hocking 1997)، در این تحقیق فعالیت آبی ۰٫۸۰ و ۰٫۸۵ نیز بررسی شد.

۱۰. اندازه‌گیری فعالیت آبی با استفاده از دستگاه سنجش فعالیت آبی مدلِ(aw meter, Testo ۴۰۰) وطبق دستورالعمل دستگاه مذکورانجام شد.

منابع

کتاب

قهری، محمد. (۱۳۹۱). ***عوامل میکروبی آسیب‌رسان به مواد آرشیوی و کتابخانه‌ای***. تهران: سازمان اسناد و کتابخانهٔ ملی جمهوری اسلامی ایران.

مقاله

قهری، محمد. (۱۳۸۵). «مروری بر عوامل قارچی مخرب کاغذ، آسیب‌شناسی و راه‌های پیشگیری و مقابله». مجلهٔ***مرمت و پژوهش***،شمارهٔ ۱، پاییز و زمستان ۱۳۸۵، صص ۲۷-۴۲.

پایان‌نامه

امیدی تبریزی، نسیم. (۱۳۸۳). «ارزیابی اثرات ضدقارچی برگ اوکالیپتوس بر روی چند گونهٔ شایع درماتوفیت و مقایسهٔ آن با گریزئوفولین در شرایط in vitro»،پایان‌نامهٔ کارشناسی ارشد در رشتهٔ قارچ‌شناسی پزشکی. شمارهٔ ۱۲۷۰۳. دانشگاه علوم پزشکی ایران.

استاندارد

مؤسسهٔ استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران. (۱۳۸۲). استانداردشمارهٔISIRI:106-A1: «شرایط محیطی استاندارد مشروط‌کردن، مراحل نظارت بر شرایط محیطی و مشروط‌کردن و آزمون نمونه‌های آزمونی خمیر کاغذ، کاغذ و مقوا (اصلاحیهٔ شمارهٔ ۱)». چاپ ۱.

مؤسسهٔ استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران. (۱۳۷۴).استانداردشمارهٔISIRI:133:«روش نمونه‌برداری از کاغذ و مقوا برای آزمون». تجدیدنظر ۱.چاپ ۲.

مؤسسهٔ استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران. (۱۳۷۸). استاندارد شمارهٔ ISIRI: 4706: «روش تسریع در کهنه‌شدن کاغذ و مقوا در دمای ۸۰ درجهٔ سلسیوس و رطوبت ۶۵ درصد».

مؤسسهٔ استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران. (۱۳۸۶). استاندارد شمارهٔISIRI 9597:«میکروبیولوژی روش‌های سترون‌سازی محیط کشت و وسایل آزمایشگاهی-آیین کار».

منابع لاتین

AbdelHadi, Ahmed; Naresh,Magan. (2009). “Influence ofphysiological factors on growth, sporulation and ochratoxinA/B production of new Aspergillus ochraceus

grouping".***World Mycotoxin Journal***, 2(4): pp 429-434.

AbdelKareem, Omar.(2010). "Monitoring, controlling and prevention of the fungal deterioration of textile artifacts in the museum of Jordanian heritage". ***Mediterranean Archaeology and Archaeometry***, 10(2), PP 85-96.

Abe, K. (2010). "Assessment of the environmental conditions in a museum storehouse by use of a fungal index".***International Biodeterioration & Biodegradation***, 64, pp 32–40.

Araujo, Ricardo; Rodrigues, Acacio G; Pina-Vaz, Cidalia. (2004). "A fast, practical and reproducible procedure for thestandardization of the cell density of an Aspergillus suspension". ***Journal of Medical Microbiology***, 53, pp 783-786.

Atanda, S.A.; Pessu, P.O.; Agoda, S.; Isong, I.U.; Adekalu, O.A.; Echendu, M.A.; Falade, T.C. (2011). "Fungi and mycotoxins in stored foods". ***African Journal of Microbiology Research***, 5(25), pp 4373-4382.

Ayerst, G. (1969). "The effects of moisture and temperature on growth and spore germination in some fungi". ***Journal of Stored ProductsResearch***, 5(2), pp 127-141.

Berovic, M. (2003). "Biodeterioration studies on pastels and oil-based paintings". In: ***Art, Biology, and Conservation: Biodeterioration of Works of Art***.Koestler, Robert. J.; Koestler, Victoria. H.; Charola, A. Elena.; Nieto-Fernandez, Fernando. E. (Eds.). Metropolitan Museum of Art, New York, USA, pp 50–59.

Borrego, S.; Guiamet, P.; Gómez de Saravia, S.; Batistini, P.; Garcia, M.; Lavin, P.; Perdomo, I. (2010). "The quality of air at archives and the biodeterioration of photographs". ***International Biodeterioration & Biodegradation***, 64(2),pp 139-145. https://www.researchgate.net/publication/248436861_The_quality_of_air_at_archives_and_the_biodeterioration_of_photographs.

CLSI. (2002)."Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Filamentous Fungi"; Approved Standard.CLSI document M38-A [ISBN 1-56238-470-8]. CLSI, Pennsylvania, USA 2002.

Dagnas,S.; Onno, B.; Membré, J.M. (2014). "Modeling growth of three bakery product spoilage molds as a function of water activity, temperature and pH". ***International Journal of Food Microbiology***,1(186),pp 95-104.

Dallyn, H. (1978). "Effect of substrate water activity on growth of certain xerophilic fungi". Ph.D. thesis. South Bank University, London.

Dantigny, Philippe; Bensoussan, Maurice; Vasseur, Valerie; Lebrihi, Ahmed; Buchet, Claude; Ismaili-Alaoui, Mustapha; Devlieghere, Frank; Roussos, Sevastianos. (2006). "Standardisation of methods for assessing mould germination: a workshop report". ***International Journal of Food Microbiology***, 108(2), pp 286291.

EC, European Commission. (1994). ***Mycotoxins in human nutrition and health***. Agroindustrial research division of the European Commission Directorate-General XII for scientific research and development, 36.

Feller, R. L. (1994). "Accelerated aging: Photochemical and thermal aspects". ***Getty Conservation Institute***.

Florian, M. L. (1997). ***Heritage Eaters: Insects and Fungi in Heritage Collections.*** James and James (Scientific Publishers) Ltd, London.

Florian, Mary-Lou. E. (2004). ***Fungal Facts: Solving Fungal Problems in Heritage Collections.*** Archetype Publications, Great Britain. pp 90-97.

Gock, Melissa. A.; Hocking, Ailsa.D.;Pitt, John.I.; Poulos, Peter.G. (2003). "Influence of temperature, water activity and pH ongrowth of some xerophilic fungi". ***International Journal of Food Microbiology,*** 81(1),pp 11-19.

Goldfarb, Barry; Nelson, Earl. E; Hansen, Everett. M. (1989)."Trichoderma spp.: growth rates and antagonism to Phellinus weirii in vitro". ***Mycologia***, 81(3), pp 375–381.

Gorski, Theodore. W; Ritzert, Roger. W. (1977)."pH Measurements of Agar Culture Media by Using a Flat-Bottom Electrode". ***Applied and Environmental Microbiology,*** 34(2), pp 242–243.

Gutarowska, Beata; Rembisz, Daria; Pietrzak, Katarzyna; Skóra, Justyna; Szynkowska, Malgorzata; Gliściński, Eulalia; Koziróg, Anna. (2012). "Optimization and application of the misting method with silver nanoparticles for disinfection of the historical objects".***International Biodeterioration & Biodegradation***, 75, pp 167-175.

Haines, John. H.; Kohler, Stuart. A. (1986). "An Evaluation of Ortho-Phenyl Phenol as a Fungicidal Fumigant for Archives and Libraries". ***Journal of the American Institute for Conservation***, 25(1), pp 49-55.

Hidalgo, Yahumila; Borrego, Sofía. (2006). "Aislamiento y caracterización de hongos en documentos de la Biblioteca Nacional "José Martí". ***Bibliotecas***, online at: http://revistas.bnjm.cu/index.php/anales/article/view/194.Accessed: 11/08/2013.

Hocking, Ailsa. D.; Pitt, John.I. (1979). "Water relations of some penicillium species

at 25 degrees Celsius". ***Transactions of the British Mycological Society,*** 73(1),pp 141-145.

ISO 6588-1. (2005). "Paper, board and pulps -- Determination of pH of aqueous extracts -- Part 1: Cold extraction".https://www.iso.org/standard/41368.html

ISO 18787. (2017). "Foodstuffs - Determination of water activity". https://www.iso.org/standard/63379.html

Konkol, Nick; J McNamara, Christopher; Mitchell, Ralph. (2010). "Fluorometric detection and estimation of fungal biomass on cultural heritage materials". ***Journal of Microbiological Methods,*** 80(2), pp 178182.

Kowalik,Romuald. (1980). "Microbiodeterioration of library materials". Part 1, chapters 1-3. ***Restaurator,*** 4, pp 99-114.

Ljaljević Grbić, Milica;Vukojević, Jelena;Stupar,Miloš.(2008). "Fungal colonization of air-conditioning systems". ***Archives of Biological Sciences***,60(2), PP 201-206.

Magan, N.; Lacey, J. (1984). "Effect of water activity, temperature and substrate on interactions between field and storage fungi". ***Transactions of the British Mycological Society(Trans Br Mycol Soc)***, 82(1), PP 83-93.

Marı´n, Sonia; Sanchis, V.; Teixido´, A.; Saenz, R.; Ramos, AntonioJ; Vin˜as, Immaculada; Magan, Naresh. (1996)."Water and temperature relations and microconidial germination of Fusarium moniliforme and Fusarium proliferatum from maize". ***Canadian Journal of Microbiology,*** 42(10), PP 1045–1050.

Martens, M.H. J. (2012). ***Climate risk assessment in museums: degradation risks determined from temperature and relative humidity data.*** Eindhoven: Technische Universiteit Eindhoven. 51-53.

Mesquita, Nuno; Portugal, António;Rodrigues Videira, Sandra Isabel; Rodríguez-Echeverría, Susana; Bandeira, A.M.L; Santos, M.J.A; Freitas, Helena. (2009). "Fungal diversity in ancient documents: a case study on the Archive of the University of Coimbra". ***International Biodeterioration and Biodegradation***, 63(5), pp 626-629.

Michaelsen, Astrid; Pinzari, Flavia; Barbabietola, Nicoletta; Piñar, Guadalupe. (2013). "Monitoring the effects of different conservation treatments on paper-infecting fungi". ***International Biodeterioration & Biodegradation***, 84,pp 333-341.

National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). (1998). "Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of conidium-forming

filamentous fungi: proposed standard". M38-P, v. 18, no. 13 (Nov. 1998), Wayne, Pa.

Nguyen Van Long, Nicolas; Rigalma, Karim; Coroller, Louis; Dadure, Robin; Debaets, Stella; Mounier, Jerome; Vasseur, Valérie. (2017). "Modelling the effect of water activity reduction by sodium chloride or glycerol on conidial germination and radial growth of filamentous fungi encountered in dairy foods". ***International journal of food microbiology***, 68, pp 7-15.

Nielsen, Kristian; Holm, G; P. Uttrup, L; Nielsen, P.A. (2004). "Mould growth on building materials under low water activities. Influence of humidity and temperature on fungal growth and secondary metabolism". ***International Biodeterioration & Biodegradation***, 54(4), pp 325-336.

Nitterus, M. (2000)."Fungi in archives and libraries".***Restaurator***, 21(1), pp 25-40

Ontario Association of Architects. (2003). OAA Mould Control Practice Guide. Ontario.

Parker,Thomas. A.(1988). "Study on integrated pest management for libraries and archives". volume PGI-88/WS/20. United Nations Educational, Scientific and Cultural Organization (UNESCO), Paris.

Pasanen, Pertti; Kasanen, Jukka-Pekka; Rautiala, Sirpa; Ikäheimo, Marko; Rantamäki, Jouko; Kääriäinen, Hannu; Kalliokoski, Pentti. (2000). "Fungal growth and survival in building materials under fluctuating moisture and temperature conditions". ***International Biodeterioration & Biodegradation***, 46(2), pp 117-127.

Paule-Marina Nanguy, Sidjè; Perrier-Cornet, Jean-Marie; Bensoussan, Maurice; Dantigny, Philippe. (2010). "Impact of water activityof diverse media on spore germination of Aspergillus and Penicillium species". ***International journal of food microbiology***, 142(12), pp 273-276.

Petrikkou, Eva; Rodriguez-Tudela, Juan; Cuenca-Estrella, Manuel; Gómez, Alicia; Molleja, Ana; Mellado, Emilia. (2001). "Inoculum Standardization for Antifungal Susceptibility Testing of Filamentous Fungi Pathogenic for Humans". ***Journal of Clinical Microbiology***, 39(4),pp 1345-1347.

Pinzari, Flavia; Pasquariello, Giovanna; De Mico, Antonella. (2006). "Biodeterioration of paper: a SEM study of fungal spoilage reproduced under controlled conditions". ***Macromolecular Symposia***. 238(1), pp 57–66.

Pitt, John. I.; Hocking, Ailsa. D. (1977). "Influence of solute and hydrogen ion con-

centration on the water relations of some xerophilic fungi". ***Journal of General Microbiology***, 101, pp 35–40.

Plaza, Pilar; Usall, Josep; Teixidó, Neus; Vinas, Immaculada. (2003). "Effect of water activity and temperature on germination and growth of Penicillium digitatum, P. italicum and Geotrichum candidum". ***Journal of Applied Microbiology***, 94(4), pp 549-554.

Rakotonirainy, Malalanirina; Juchauld, Frederique; Gillet, Martine; Othman-Choulak, Monzer; Lavédrine, Bertrand. (2007). "The Effect of Linalool Vapour on Silver-Gelatine Photographs and Bookbinding Leathers". ***Restaurator***, 28(2), pp 95-111.

Raquel Neves, Eva; Schäfer, Stephan; Phillips, Alan; Canejo, João; Macedo, Maria. (2009)."Antifungal effect of different methyl and propyl paraben mixtures on the treatment of paper biodeterioration". ***International Biodeterioration & Biodegradation***, 63(3), pp 267-272.

Reis-Menezes, A.A.; Gambale, W.; Giudice, M.C.; Shirakawa, M.A. (2011). "Accelerated testing of mold growth on traditional and recycled book paper". ***International Biodeterioration & Biodegradation***, 65, pp 423-428.

Schleibinger, Hans; Laussmann, D; Bornehag, C-G; Eis, D; Rueden, H. (2008). "Microbial volatile organic compounds in the air of mold and mold-free indoor environments". ***Indoor Air***, 18(2), pp 113-124.

Shamsian, A.; Fatah, Abdolmajid; Mohajeri, Masood; Ghazvini, Kiarash. (2006). "Fungal contaminations in historical manuscripts at Astan Quds Museum Library, Mashhad, Iran". International Journal of Agriculture & Biology, 8(3), pp 420-422.

Sidhu,G.S.(2002). "Mycotoxin Genetics and Gene Clusters". ***European journal of Plant Pathology***, 108(7), PP 705-711.

Strzelczyk, Alicja.B. (2004). "Observations on aesthetic and structural changes induced in Polish historic objects by microorganisms". ***International Biodeterioration and Biodegradation***, 53(3), PP 151-156.

Viitanen, H.A.; Bjurman, J. (1995). "Mould growth on wood under fluctuating humidity conditions". ***Material und Organismen***, 29(1), PP 27-46.

Zajic, J. E.; Inculet, I. I.; Martin, P. (1982). "Basic concepts in microbial aerosols". In: ***Space and terrestrial biotechnology***. vol 22, Fiechter A, (editor). Berlin: Akademie-Verlag.PP 51-91.

Zotti, Mirca; Ferroni, Alice; Calvini, P. (2008). "Microfungal biodeterioration of historic paper: preliminary FTIR and microbiological analysis". ***International Biodeterioration & Biodegradation***, 62(2), PP 186-194.

Zotti, Mirca; Ferroni, Alice; Calvini, P., (2011). "Mycological and FTIR analysis of biotic foxing on paper substrates". ***International Biodeterioration and Biodegradation***, 65(4), PP 569-578. (in Polish). In: Zyska, B., Zakowska, Z. (Eds.), ***Microbiology of Materials. Polytechnic of Lodz***, Lodz.

Resource English translation

AbdelHadi, Ahmed; Naresh,Magan. (2009). "Influence of physiological factors on growth, sporulation and ochratoxin A/B production of new Aspergillus ochraceus grouping". ***World Mycotoxin Journal***, 2(4): pp 429-434.

AbdelKareem, Omar. (2010). "Monitoring, controlling and prevention of the fungal deterioration of textile artifacts in the museum of Jordanian heritage". ***Mediterranean Archaeology and Archaeometry***, 10(2), PP 85-96.

Abe, K. (2010). "Assessment of the environmental conditions in a museum storehouse by use of a fungal index". ***International Biodeterioration & Biodegradation***, 64, pp 32–40.

Araujo, Ricardo; Rodrigues, Acacio G; Pina-Vaz, Cidalia. (2004). "A fast, practical and reproducible procedure for thestandardization of the cell density of an Aspergillus suspension". ***Journal of Medical Microbiology***, 53, pp 783-786.

Atanda, S. A.; Pessu, P. O.; Agoda, S.; Isong, I. U.; Adekalu, O. A.; Echendu, M. A.; Falade, T. C. (2011). "Fungi and mycotoxins in stored foods". ***African Journal of Microbiology Research***, 5(25), pp 4373-4382.

Ayerst, G. (1969). "The effects of moisture and temperature on growth and spore germination in some fungi". ***Journal of Stored Products Research***, 5(2), pp 127-141.

Berovic, M. (2003). "Biodeterioration studies on pastels and oil-based paintings". In: ***Art, Biology, and Conservation: Biodeterioration of Works of Art***. Koestler, Robert. J.; Koestler, Victoria. H.; Charola, A. Elena.; Nieto-Fernandez, Fernando. E. (Eds.). Metropolitan Museum of Art, New York, USA, pp 50–59.

Borrego, S.; Guiamet, P.; Gómez de Saravia, S.; Batistini, P.; Garcia, M.; Lavin, P.; Perdomo, I. (2010). "The quality of air at archives and the biodeterioration of pho-

tographs". ***International Biodeterioration & Biodegradation***, 64(2), pp 139-145. https://www.researchgate.net/publication/248436861_The_quality_of_air_at_archives_and_the_biodeterioration_of_photographs.

CLSI. (2002). "Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Filamentous Fungi"; Approved Standard. CLSI document M38-A [ISBN 1-56238-470-8]. CLSI, Pennsylvania, USA 2002.

Dagnas, S.; Onno, B.; Membré, J. M. (2014). "Modeling growth of three bakery product spoilage molds as a function of water activity, temperature and pH". ***International Journal of Food Microbiology***, 1(186), pp 95-104.

Dallyn, H. (1978). "Effect of substrate water activity on growth of certain xerophilic fungi". Ph.D. thesis. South Bank University, London.

Dantigny, Philippe; Bensoussan, Maurice; Vasseur, Valerie; Lebrihi, Ahmed; Buchet, Claude; Ismaili-Alaoui, Mustapha; Devlieghere, Frank; Roussos, Sevastianos. (2006). "Standardisation of methods for assessing mould germination: a workshop report". ***International Journal of Food Microbiology***, 108(2), pp 286291.

EC, European Commission. (1994). ***Mycotoxins in human nutrition and health***. Agroindustrial research division of the European Commission Directorate-General XII for scientific research and development, 36.

Feller, R. L. (1994). "Accelerated aging: Photochemical and thermal aspects". ***Getty Conservation Institute***.

Florian, M. L. (1997). ***Heritage Eaters: Insects and Fungi in Heritage Collections***. James and James (Scientific Publishers) Ltd, London.

Florian, Mary-Lou. E. (2004). ***Fungal Facts: Solving Fungal Problems in Heritage Collections***. Archetype Publications, Great Britain. pp 90-97.

Ghahri, Mohammad. (1391/2012). ***Avāmel-e mikrobi-ye āsib-resān be mavād-e āršivi va ketābxāne-'i*** (Damaging germ-carrying elements in archives and library). Tehran: Sāzmān-e Asnād va Ketābxāne-ye Melli-ye Irān.

Ghahri, Mohammad. (1385/2007). " Moruri bar avāmel-e qārči-ye moxareb-e kāqaz, āsib-šenāsi va rāh-hā-ye pišgiri va moqābele (A review of fungal elements decaying paper, its pathology and prevention)". ***Maremat & pežuheš*** (Maremat & pezhouhesh). autumn and winter (1), pp. 27-42.

Gock, Melissa. A.; Hocking, Ailsa. D.; Pitt, John. I.; Poulos, Peter. G. (2003). "Influence of

temperature, water activity and pH on growth of some xerophilic fungi". ***International Journal of Food Microbiology***, 81(1), pp 11-19.

Goldfarb, Barry; Nelson, Earl. E; Hansen, Everett. M. (1989). "Trichoderma spp.: growth rates and antagonism to Phellinus weirii in vitro". ***Mycologia***, 81(3), pp 375–381.

Gorski, Theodore. W; Ritzert, Roger. W. (1977). "pH Measurements of Agar Culture Media by Using a Flat-Bottom Electrode". ***Applied and Environmental Microbiology***, 34(2), pp 242–243.

Gutarowska, Beata; Rembisz, Daria; Pietrzak, Katarzyna; Skóra, Justyna; Szynkowska, Malgorzata; GliŚciŃska, Eulalia; Koziróg, Anna. (2012). "Optimization and application of the misting method with silver nanoparticles for disinfection of the historical objects". ***International Biodeterioration & Biodegradation***, 75, pp 167-175.

Haines, John. H.; Kohler, Stuart. A. (1986). "An Evaluation of Ortho-Phenyl Phenol as a Fungicidal Fumigant for Archives and Libraries". ***Journal of the American Institute for Conservation***, 25(1), pp 49-55.

Hidalgo, Yahumila; Borrego, Sofía. (2006). "Aislamiento y caracterización de hongos en documentos de la Biblioteca Nacional "José Martí". ***Bibliotecas***, online at: http://revistas.bnjm.cu/index.php/anales/article/view/194.Accessed: 11/08/2013.

Hocking, Ailsa. D.; Pitt, John. I. (1979). "Water relations of some penicillium species at 25 degrees Celsius". ***Transactions of the British Mycological Society***, 73(1), pp 141-145.

ISO 6588-1. (2005). "Paper, board and pulps -- Determination of pH of aqueous extracts -- Part 1: Cold extraction". https://www.iso.org/standard/41368.html

ISO 18787. (2017). "Foodstuffs - Determination of water activity". https://www.iso.org/standard/63379.html

Konkol, Nick; J McNamara, Christopher; Mitchell, Ralph. (2010). "Fluorometric detection and estimation of fungal biomass on cultural heritage materials". ***Journal of Microbiological Methods***, 80(2), pp 178182.

Kowalik, Romuald. (1980). "Microbiodeterioration of library materials". Part 1, chapters 1-3. Restaurator, 4, pp 99-114.

Ljaljević Grbić, Milica;Vukojević, Jelena;Stupar,Miloš. (2008). "Fungal colonization of air-conditioning systems". ***Archives of Biological Sciences***, 60(2), PP 201-206.

Magan, N.; Lacey, J. (1984). "Effect of water activity, temperature and substrate on inter-

actions between field and storage fungi". ***Transactions of the British Mycological Society(Trans Br Mycol Soc)***, 82(1), PP 83-93.

Marı´n, Sonia; Sanchis, V.; Teixido´, A.; Saenz, R.; Ramos, Antonio J; Vin˜as, Immaculada; Magan, Naresh. (1996). "Water and temperature relations and microconidial germination of Fusarium moniliforme and Fusarium proliferatum from maize". ***Canadian Journal of Microbiology***, 42(10), PP 1045–1050.

Martens, M. H. J. (2012). ***Climate risk assessment in museums: degradation risks determined from temperature and relative humidity data***. Eindhoven: Technische Universiteit Eindhoven. 51-53.

Mesquita, Nuno; Portugal, António; Rodrigues Videira, Sandra Isabel; Rodríguez-Echeverría, Susana; Bandeira, A.M.L; Santos, M.J.A; Freitas, Helena. (2009). "Fungal diversity in ancient documents: a case study on the Archive of the University of Coimbra". ***International Biodeterioration and Biodegradation***, 63(5), pp 626-629.

Michaelsen, Astrid; Pinzari, Flavia; Barbabietola, Nicoletta; Piñar, Guadalupe. (2013). "Monitoring the effects of different conservation treatments on paper-infecting fungi". ***International Biodeterioration & Biodegradation***, 84, pp 333-341.

Mo'assese-ye 'Estāndārd va Tahqiqāt-e San'ati-ye Irān (Iran National Standards Organiztion). (1374/1995). Standard no. ISIRI: 133: "Raveš-e nemune-bardāri az kāqaz va moqavā barāye āzmun (The method of biopsy of paper and cardboard for test)", 1st revision. 2nd impression.

Mo'assese-ye 'Estāndārd va Tahqiqāt-e San'ati-ye Irān (Iran National Standards Organiztion). (1378/1999). Standard no. ISIRI: 4706: "Raveš-e tasri' dar kohne šodan-e kāqaz va moqāva dar damā-ye 80 daraje-ye selsiyus va rotubat-e 65 dar-sad (The method of expediting in the process of paper and cardboard getting old in 80 Celsius and 65% humidity)".

Mo'assese-ye 'Estāndārd va Tahqiqāt-e San'ati-ye Irān (Iran National Standards Organiztion). (1382/2004). Standard no. ISIRI: 106-A1: "Šarāyet-e mohiti-ye 'estāndārd-e mašrut kardan, marāhel-e nezārat bar šarāyet-e mohiti va mašrut kardan va āzmun-e nemune-hā-ye āzmuni-ye xamir-e kāqaz,kāqaz va moqavā(Environmental condition of conditioning standard, steps of control over environmental condition, conditioning and test the tesable samples of paper dough, paper and cardboard)". 1st impression.

Mo'assese-ye 'Estāndārd va Tahqiqāt-e San'ati-ye Irān (Iran National Standards Organiztion). (1386/2008). Standard no. ISIRI 9597: "Mikrobiološi-ye raveš-hā-ye setarvan-sāzi-ye mohit-e kešt va vasāyel-e āzmāyešgāhi-āy'in- kār (The microbiology of the methods of the sterilization of cultivating environment and lab instuments-codes of conduct)".

National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). (1998). "Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of conidium-forming filamentous fungi: proposed standard". M38-P, v. 18, no. 13 (Nov. 1998), Wayne, Pa.

Nguyen Van Long, Nicolas; Rigalma, Karim; Coroller, Louis; Dadure, Robin; Debaets, Stella; Mounier, Jerome; Vasseur, Valérie. (2017). "Modelling the effect of water activity reduction by sodium chloride or glycerol on conidial germination and radial growth of filamentous fungi encountered in dairy foods". ***International journal of food microbiology***, 68, pp 7-15.

Nielsen, Kristian; Holm, G; P. Uttrup, L; Nielsen, P. A. (2004). "Mould growth on building materials under low water activities. Influence of humidity and temperature on fungal growth and secondary metabolism". ***International Biodeterioration & Biodegradation***, 54(4), pp 325-336.

Nitterus, M. (2000)."Fungi in archives and libraries".***Restaurator***, 21(1), pp 25-40

Ontario Association of Architects. (2003). ***OAA Mould Control Practice Guide***. Ontario.

Parker, Thomas. A. (1988). "Study on integrated pest management for libraries and archives". volume PGI-88/WS/20. United Nations Educational, Scientific and Cultural Organization (UNESCO), Paris.

Pasanen, Pertti; Kasanen, Jukka-Pekka; Rautiala, Sirpa; Ikäheimo, Marko; Rantamäki, Jouko; Kääriäinen, Hannu; Kalliokoski, Pentti. (2000). "Fungal growth and survival in building materials under fluctuating moisture and temperature conditions". ***International Biodeterioration & Biodegradation***, 46(2), pp 117-127.

Paule-Marina Nanguy, Sidjè; Perrier-Cornet, Jean-Marie; Bensoussan, Maurice; Dantigny, Philippe. (2010). "Impact of water activity of diverse media on spore germination of Aspergillus and Penicillium species". ***International journal of food microbiology***, 142(12), pp 273-276.

Petrikkou, Eva; Rodriguez-Tudela, Juan; Cuenca-Estrella, Manuel; Gómez, Alicia; Molleja, Ana; Mellado, Emilia. (2001). "Inoculum Standardization for Antifungal

Susceptibility Testing of Filamentous Fungi Pathogenic for Humans". ***Journal of Clinical Microbiology***, 39(4), pp 1345-1347.

Omidi Tabrizi, Nasim. (1383/2005). "Arzyābi-ye asarāt-e zed-qārči-ye barg-e okāliptus bar ruye Čand gyne-ye šāye'-e dermātofit va moqāyese-ye ān bā grizeofulin dar šarāyet-e in vitro (Assessment of the antifungal affects of eucalyptus leaf on some common dermatophytes and comparing that with griseofulvin in vitro condition)". Master dissertation of medical fungology, Iran University of Medical Sciences, document no. 12703.

Pinzari, Flavia; Pasquariello, Giovanna; De Mico, Antonella. (2006). "Biodeterioration of paper: a SEM study of fungal spoilage reproduced under controlled conditions". ***Macromolecular Symposia***. 238(1), pp 57–66.

Pitt, John. I.; Hocking, Ailsa. D. (1977). "Influence of solute and hydrogen ion concentration on the water relations of some xerophilic fungi". ***Journal of General Microbiology***, 101, pp 35–40.

Plaza, Pilar; Usall, Josep; Teixidó, Neus; Vinas, Immaculada. (2003). "Effect of water activity and temperature on germination and growth of Penicillium digitatum, P. italicum and Geotrichum candidum". ***Journal of Applied Microbiology***, 94(4), pp 549-554.

Rakotonirainy, Malalanirina; Juchauld, Frederique; Gillet, Martine; Othman-Choulak, Monzer; Lavédrine, Bertrand. (2007). "The Effect of Linalool Vapour on Silver-Gelatine Photographs and Bookbinding Leathers". ***Restaurator***, 28(2), pp 95-111.

Raquel Neves, Eva; Schäfer, Stephan; Phillips, Alan; Canejo, João; Macedo, Maria. (2009). "Antifungal effect of different methyl and propyl paraben mixtures on the treatment of paper biodeterioration". ***International Biodeterioration & Biodegradation***, 63(3), pp 267-272.

Reis-Menezes, A. A.; Gambale, W.; Giudice, M. C.; Shirakawa, M. A. (2011). "Accelerated testing of mold growth on traditional and recycled book paper". ***International Biodeterioration & Biodegradation***, 65, pp 423-428.

Schleibinger, Hans; Laussmann, D; Bornehag, C-G; Eis, D; Rueden, H. (2008). "Microbial volatile organic compounds in the air of mold and mold-free indoor environments". ***Indoor Air***, 18(2), pp 113-124.

Shamsian, A.; Fatah, Abdolmajid; Mohajeri, Masood; Ghazvini, Kiarash. (2006). "Fun-

gal contaminations in historical manuscripts at Astan Quds Museum Library, Mashhad, Iran". ***International Journal of Agriculture & Biology***, 8(3), pp 420-422.

Sidhu, G. S. (2002). "Mycotoxin Genetics and Gene Clusters". ***European journal of Plant Pathology***, 108(7), PP 705-711.

Strzelczyk, Alicja. B. (2004). "Observations on aesthetic and structural changes induced in Polish historic objects by microorganisms". ***International Biodeterioration and Biodegradation***, 53(3), PP 151-156.

Viitanen, H. A.; Bjurman, J. (1995). "Mould growth on wood under fluctuating humidity conditions". ***Material und Organismen***, 29(1), PP 27-46.

Zajic, J. E.; Inculet, I. I.; Martin, P. (1982). "Basic concepts in microbial aerosols". In: Space and terrestrial biotechnology. vol 22, Fiechter A, (editor). Berlin: Akademie-Verlag. PP 51-91.

Zotti, Mirca; Ferroni, Alice; Calvini, P. (2008). "Microfungal biodeterioration of historic paper: preliminary FTIR and microbiological analysis". ***International Biodeterioration & Biodegradation***, 62(2), PP 186-194.

Zotti, Mirca; Ferroni, Alice; Calvini, P., (2011). "Mycological and FTIR analysis of biotic foxing on paper substrates". ***International Biodeterioration and Biodegradation***, 65(4), PP 569-578. (in Polish). In: Zyska, B., Zakowska, Z. (Eds.), ***Microbiology of Materials. Polytechnic of Lodz***, Lodz.