

Mirna Šantić-Petričević

**Otpornost fungalnih kolonizatora papira na
gama zračenje**

DIPLOMSKI RAD

Predan Sveučilištu u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskom fakultetu

Zagreb, 2018 .

Ovaj diplomski rad je prijavljen na kolegiju Mikrobiologija s parazitologijom Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta izrađenog na Zavodu za mikrobiologiju pod stručnim vodstvom prof. dr. sc. Maje Šegvić Klarić.

Zahvaljujem prof. dr. sc. Maji Šegvić Klarić na prihvaćanju mentorstva i ustrajnom vođenju i razumijevanju; dr. sc. Branki Mihaljević voditeljici Laboratorija za radijacijsku kemiju i dozimetriju na Zavodu za kemiju materijala pri Institutu Ruđer Bošković i Igoru Sajko na pomoći kod izvođenja eksperimentalnog dijela diplomskog rada.

SADRŽAJ

1.	UVOD	1
1.1.	PLIJESNI I GLJIVICE - BIODETERIORACIJA KULTURNE BAŠTINE	1
1.2.	ANTIMIKROBNE METODE U OČUVANJU KULTURNE BAŠTINE	2
1.3.	GAMA ZRAČENJE - PRIMJENA, PREDNOSTI I NEDOSTACI	2
1.4.	BIOCIDNO DJELOVANJE GAMA ZRAČENJA	3
1.5.	OČUVANJE KULTURNE BAŠTINE PRIMJENOM GAMA ZRAČENJA	4
2.	OBRAZLOŽENJE TEME	5
3.	MATERIJALI I METODE	7
3.1.	MIKROBIOLOŠKA OBRADA UZORKA METODOM RAZRJEĐENJA	7
3.2.	OBRADA UZORKA	9
4.	REZULTATI I RASPRAVA	10
5.	ZAKLJUČCI	24
6.	LITERATURA	25
7.	SAŽETAK/SUMMARY.....	27
8.	TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA/BASIC DOCUMENTATION CARD	

1. UVOD

1.1. PLIJESNI I GLJIVICE - BIODETERIORACIJA KULTURNE BAŠTINE

Kulturnu baštinu čine pokretna i nepokretna kulturna dobra od umjetničkoga, povijesnoga, paleontološkog, arheološkoga, antropološkog i znanstvenog značenja (www.min-kulture.hr). Kulturna baština prezentira povijest naroda, sudjeluje u izgradnji njegovog identiteta, te je njezina vrijednost neprocjenjiva; dijelimo je na materijalnu (katedrala sv. Jakova u Šibeniku, Dioklecijanova palača u Splitu) i nematerijalnu (Sinjska alka, čipkarstvo) .

Naslijedili smo je iz prošlosti, živimo je danas, a kako bismo je mogli predati budućim naraštajima, dužni smo je zaštititi od daljnje degradacije, neovisno radi li se o biološkim, fizikalnim ili kemijskim uzrocima. Veliki broj predmeta kulturne baštine izrađen je od kože, drva, tekstila ili papira. Navedeni materijali su biopolimeri i osjetljivi su na vanjske uvjete. Na njihovu postojanost osim atmosferskih uvjeta (npr. razina relativne vlažnosti zraka, temperatura), utječe i prisustvo biodeteriogenata poput mikroorganizama i/ili insekata. Biodeterioraciju možemo definirati kao *svaku neželjenu promjenu materijala, uzrokovanu metabolizmom mikroorganizama* (Allsopp, 2011.). Brojna oštećenja kulturne baštine posljedica su nekolicine faktora poput: kemijskog sastava i prirode samog materijala, klimatskih uvjeta i izloženosti predmeta, ne zaboravljajući uz to održavanje površina . Zbog široke rasprostranjenosti biodeteriogenata biodeterioracija je neizbježan proces. Tako gljivice, bakterije i lišajevi možemo pronaći na crkvenim muralima, špiljskim crtežima (Lascaux), u katakombama (Sterflinger i Piñar, 2013). Gljivice i bakterije nisu samo estetski nepoželjne na umjetninama i drugim povijesnim artefaktima, već mehanički oštećuju materijale, što uz kiselinsku koroziju i enzimatsku razgradnju naposljetku dovodi do uništenja predmeta. Gljive su eukariotski jednostanični ili višestanični organizmi. Razmnožavaju se spolno i nespolno. Mogu biti prisutne u obliku kvasaca i plijesni. Kvasac je jednostanična gljiva (blastokonidija). Plijesan je višestanična gljiva. Stanice plijesni su izdužene i tvore hifu . Rastom i grananjem hifa nastaje micelij (splet hifa). Razlikujemo bazalni (vegetativni) i zračni (reproduktivni) micelij. Obje vrste micelija zajedno čine tijelo gljive ili talus. Hife mogu biti bezbojne ili obojane. Spolnim razmnožavanjem gljiva nastaju spore. Nespolnim razmnožavanjem gljiva nastaju konidije. Konidije mogu biti jednostanične ili višestanične (Kalenić i sur., 2001.). Kada se spore nađu na pogodnom supstratu, nakon određenog perioda

mirovanja dođe do klijanja. Novonastale hife penetriraju u supstrat i razgrađuju celulozu. U enzimskoj hidrolizi celuloze sinergistički sudjeluju celulaza, egzoglukanaze, endoglukanaze i beta-glukozidaze (Kumar i sur., 2008.). Među najznačajnije celulolitičke gljivice ubrajamo gljivice iz rodova *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Trichoderma*.

1.2. ANTIMIKROBNE METODE U OČUVANJU KULTURNE BAŠTINE

Kako bi spriječili daljnji raspad djela velikog kulturnog značenja i/ili očuvali zdravlje njegovog vlasnika, potrebno je provesti dezinfekciju kulturnog dobra. U tu svrhu mogu se koristiti metode različitih mehanizama djelovanja, poput tradicionalnih dezinfekcijskih tehnika (“posuđenih” iz medicine i agronomije) primjerice fumigacija etilen-oksikom, fumigacija metil-bromidom, freeze-drying (liofilizacija), stvaranje anoksične atmosfere, ... ili ih možemo sterilizirati zračenjem, vodeći pritom računa da ne dođe do promjene vizualnih svojstava predmeta obrade. No, primjena nekih metoda je ograničena, štoviše i zabranjena zbog štetnog utjecaja kemikalija kako na zdravlje ljudi (restauratora, konzervatora, kustosa, vlasnika), tako i na okoliš. Izbor primjerenih biocida definirala je Direktiva 98/8/EC Europske unije i Vijeća Europe (ww.ec.europa.eu), tako je fumigacija etilen-oksikom zabranjena u brojnim zemljama, usprkos visokoj učinkovitosti postupka (Sterflinger i Piñar, 2013.). Zbog svojih brojnih pozitivnih karakteristika, danas se kod antimikrobne obrade djela kulturne baštine najčešće koristi metoda zračenja predmeta gama zrakama.

1.3. GAMA ZRAČENJE - PRIMJENA, PREDNOSTI I NEDOSTACI

Biocidni potencijal zračenja uočen je na početku dvadesetog stoljeća, tada su se soli radija dodavale u masti i primjenjivale u lokalnoj terapiji dermatomikoza, no ubrzo su uočene neželjene posljedice terapije (Ponta i sur., 2017.). Šezdesetih godina počela su se vršiti ispitivanja radio-osjetljivosti gljivica, kontaminanata kulturnih djela (Belyakova, 1960.). Zračenje se također koristi i kod sterilizacije medicinske opreme.

Obrada kulturnih dobara gama zračenjem temelji se na saznanjima dobivenim radijacijskom obradom farmaceutika, kozmetičkih i medicinskih materijala. Gama zračenje je

visoko-energetsko elektromagnetsko zračenje, koje emitira radioaktivna jezgra (^{60}Co ili ^{137}Cs). Primjenom gama zračenja dolazi do zaustavljanja biodegradacije, te se može koristiti kod konzerviranja (Pucić, 2011.). Postupak dekontaminacije zračenjem provodi se u sigurnim i kontroliranim uvjetima, a po završetku postupka ne zaostaju aktivne rezidue, odnosno nema rizika za zdravlje konzervatora, restauratora, kustosa, operatera niti ugroze okoliša, stoga bi ovu metodu mogli nazvati neškodljivom. Dobra moć penetracije (predmete možemo ozračiti unutar pakiranja) i mogućnost kontroliranja biocidnog učinka bilježenjem primijenjene doze u postupku, odlikuju ovu metodu visokom učinkovitošću. Učinkovitost metode ne ovisi o materijalu na koji se primjenjuje. Nadalje, ovisnost učinkovitosti dekontaminacije o primijenjenoj dozi zračenja čini ovu metodu pouzdanom. S druge pak strane po primjeni gama zračenja neizbježne su promjene mehaničko-fizikalnih svojstava papira, uočene su karakteristike ubrzanog starenja papira, te on postaje krhkiji. Kod opetovanih primjena visokih doza gama zračenja može doći do kumulativne depolimerizacije celuloze u papiru (Michaelsen i sur., 2012.). Također, ovu metodu ne možemo koristiti u obradi staklenih i drugih transparentnih materijala (promjena boje), keramičkih i mramornih predmeta.

1.4. BIOCIDNO DJELOVANJE GAMA ZRAČENJA

Prijenosom energije gama zračenja na papir, dolazi do mijenjanja kemijskih svojstava i biodeteriogeni i artefakta. Biocidni efekt zračenja posljedica je izmijenjenih kemijskih procesa unutar organizma, jer uzrokuje promjene organskih molekula nužnih za život. Utjecaj na makromolekulu DNA najviše doprinosi biocidnom učinku gama zračenja. Zračenje najčešće uzrokuje promjene purinskih i pirimidinskih baza u molekuli DNA, jer su međusobno povezane vrlo osjetljivim kemijskim vezama. Ukoliko dođe do značajnije promjene DNA zaustavlja se stanična replikacija. Također, i povišenje temperature dovodi do promjene strukture DNA, to se svojstvo koristi kod sterilizacije toplinom.

Ionizirajuće zračenje utječe na mikroorganizme i indirektnim putem, stvaranjem slobodnih radikala koji nastaju radiolizom vode. Hidroksilni radikali su najzaslužniji za oštećenje DNA molekule.

1.5. OČUVANJE KULTURNE BAŠTINE PRIMJENOM GAMA ZRAČENJA

Prije primjene gama zračenja moramo ispitati kojim je mikrobiološkim vrstama kontaminiran predmet, kako bi mogli utvrditi dozu zračenja, koja će efikasno ukloniti mikrobiološku prijetnju i pri tome ne uzrokovati značajnije promjene predmeta. Ista doza zračenja različito djeluje na različite mikroorganizme, stoga je osim detektiranja prisutnih vrsta bitna i njihova radioosjetljivost, koja pomaže pri odabiru učinkovite doze zračenja i tako smanjuje broj ponavljanja postupka zračenja. No, radioosjetljivost nije lako odrediti jer svaki mikroorganizam ima različite životne oblike, koji nisu jednako osjetljivi na primijenjenu dozu, a čiji opstanak predstavlja opasnost za budućnost djela. Za dezinsekciju predmeta kulturne baštine koriste se doze 0,5-2 kGy, dok doze od 2-10 kGy suzbijaju gljivice, a vrijednosti od 5-20 kGy suzbijaju bakterije na drvenim, papirnatim i tekstilnim materijalima. Iz navedenih doza možemo zaključiti da su jednostavniji životni oblici, poput bakterija i gljivica otporniji na djelovanje ionizirajućeg zračenja, te je kod dezinfestacije potrebno primijeniti veću dozu zračenja, riskirajući pri tome strukturalne promjene samog materijala. Efikasnost metode možemo ispitati : kultivacijom na pogodnom laboratorijskom mediju (brojanje kolonija), molekularnim metodama procjenjujemo mikrobiološku raznolikost uzorka, a za proučavanje fiziološke aktivnosti prisutnih mikroorganizama kao indikatore koristimo stvoreni CO_2 i ATP . Pomoću navedenih značajki dobiva se bolje razumijevanje procesa deterioracije, prati se djelotvornost i učinkovitost postupka, te se može pridonijeti nastanku novih netoksičnih metoda za očuvanje djela (razvoj posebnog koncepta klimatizacije djela, kako bi se spriječilo ili usporilo degradacijsko djelovanje mikroorganizama).

2. OBRAZLOŽENJE TEME

Danas znamo da mikroorganizmi imaju važnu ulogu u procesu biodeterioracije. Prema biodeteriogenom potencijalu gljivice možemo podijeliti na dvije skupine :

- 1) oportunističke gljivice koje rastu na svim materijalima uz prisustvo dovoljne količine vlage u zraku, one nisu sposobne enzimima razgraditi materijal i koristiti ga kao izvor ugljika, poput gljivica iz roda *Stachybotrys*, *Chaetomium*, *Aspergillus*, *Penicillium* i *Ulocladium* (Dedesko i Siegel, 2015);
- 2) prave ‘materijalne’ patogene, koji su specifični prema supstratu poput celulolitičkih (papir) ili keratinolitičkih (pergament) gljivica iz rodova *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Microsporium* i *Trichoderma* (Čalin i sur., 2017).

U okoliš, pa tako i na djela kulturne baštine gljivice dospijevaju nošene zrakom, u obliku hidrofobnih spora i konidija. Spore gljivica su ubikvitarnе i materijali su stalno izloženi kontaminaciji gljivicama. Nastanak kolonija ovisi o kemijskom sastavu samog materijala, te o okolišnim faktorima (temperatura, vlažnost zraka, prašina). Povijesni artefakti zbog specifičnosti izrade, koja je nerijetko uključivala primjenu organskih komponenti primjerice žumanjka kao učvršćivača mineralnog pigmenta, nude povoljne uvjete za rast i razvoj gljivica. Kod pohranjivanja/izlaganja djela važno je održavati udio relativne vlažnosti zraka ispod 55%, jer je to granična vrijednost vlažnosti zraka pri kojoj je moguć rast gljivica.

Gama zračenje je fizikalna metoda koja se koristi za dekontaminaciju inficiranih umjetničkih djela. Metoda je djelotvorna u uklanjanju gljivica i njihovih spora. No, potrebno je uzeti u obzir jačinu primijenjene doze, kako bi se spriječilo ubrzano starenje ozračenog materijala.

Ciljevi ovog rada uključuju :

- 1) Analizu prirodne mikrobiote (tzv. točkasta kontaminacija) papira
- 2) Mikobicidni učinak gama zračenja doza 2, 7, 20 i 50 kGy apliciranih pri dvije različite brzine od 0,1 Gy/s, odnosno 9,8 Gy/s.
- 3) Mikobicidni učinak gama zračenja primijenjenog u spomenutim dozama i brzinama doza na papir koji je prethodno bio inkubiran 7 dana pri sobnoj temperaturi uz udio relativne vlažnosti od 70-80% .

3. MATERIJALI I METODE

3.1. MIKROBIOLOŠKA OBRADA UZORAKA METODOM RAZRJEĐENJA

Pripremljeni su kvadratići papira (Vergè - trajni beskiselinski papir, gramature 120 g/m², dimenzija: 70 x 100 cm, žućkaste boje) duljine stranica 3,5 centimetara, koje su ostavljeni da se homogeniziraju u zatvorenoj, sterilnoj plastičnoj vrećici, pri sobnoj temperaturi. Stavljanjem papira u sterilnu plastičnu vrećicu, izbjegnuta je kontaminacija uzorka zrakom nošenim sporama. Nakon nekoliko dana izvagano je deset nasumično odabranih papirića i izračunata je srednja masa jednog papirića ($\bar{m} = 0,14$ g).

Postupku zračenja određenom dozom pri određenoj brzini podvrgnuta su tri papirića odjednom (svi su se nalazili u istoj, sterilnoj Petrijevoj zdjelici-plitka plastična cilindrična zdjelica s pokrovom). Pri ispitivanju prirodne kontaminacije uzorka korištena je destruktivna metoda, jer su prijašnja istraživanja dokazala da su rezultati dobiveni ovom metodom vjerodostojniji (Nunes i sur., 2013), u odnosu na rezultate dobivene uzimanjem brisa s površine materijala.

Pripremljeni kvadratić papira stavi se, pomoću pincete, u sterilnu falkonicu (konusna epruveta sa čepom) i dodaju se tri mililitra peptonske vode. Zatvorenu falkonicu stavi se nakratko u vorteks (Tehtnica, NV 100), kako bi došlo do homogenizacije uzorka. Zatim se otpipetira 1ml peptonske vode u ependorficu (polipropilenska epruveta sa zatvaračem), sadržaj te 'prve' ependorfice predstavlja razrjeđenje 10^{-1} , daljnjim pipetiranjem 100 μ L sadržaja prve ependorfice i dodavanjem 900 μ l 'čiste' peptonske vode u drugu ependorficu dobivamo razrjeđenje 10^{-2} . Postupak razrjeđivanja još jednom se ponavlja na opisani način, jer se za dani materijal provodilo ispitivanje porasta broja kolonija u serijalnom nizu razrjeđenja od 10^{-1} do 10^{-3} , tako da se iz tri navedene ependorfice otpipetiralo i na MEA (Malt Extract Agar, Oxoid) pomoću staklenog L štapića ravnomjerno distribuiralo 100 μ L uzorka. Uzorci su se inkubirali tjedan dana na 25°C. Postupak serijalnog razrjeđivanja i nasađivanja proveden je pojedinačno za sva tri papirića. Tijekom izvođenja opisanog postupka poduzele su se mjere sprječavanja nenamjerne kontaminacije uzorka (sterilizacija pincete i L-štapića plamenom, autoklaviranje hranjive podloge (MEA) i peptonske vode, brzo

nanošenje uzorka u polutklopljenoj Petrijevoj zdjelici- kako bi se spriječila sedimentacija mikroorganizama iz zraka), sve zbog izbjegavanja lažno pozitivnih rezultata.

Porasle kolonije se broje nakon završetka perioda inkubacije, izostavljajući pri tome ploče na kojima je naraslo > 150 kolonija.

Broj plijesni po gramu materijala (CFU/g) računa se pomoću formule :

$$CFU/g = \frac{\Sigma C}{V(n1 + 0,1n2)d}$$

CFU - colony forming unit; jedinica kojom se iskazuje broj prisutnih mikroorganizama na površini uzorka, ovisno o vrsti ispitivanog uzorka može se iskazati kao broj nastalih kolonija po jedinici mase, površine ili volumena.

ΣC - zbroj kolonija plijesni izbrojenih na svim pločama

V - volumen inokuluma u mililitrima, stavljen na svaku hranjivu podlogu

n1- broj ploča zadržanih za brojanje kod prvog razrjeđenja

n2 - broj ploča zadržanih za brojanje kod drugog razrjeđenja

d - razrjeđenje iz kojeg su dobiveni prvi brojevi

3.2. OBRADA UZORAKA

Za potrebe ovog diplomskog rada provedena su dva pokusa. U prvom pokusu ispitan je utjecaj gama zračenja na uzorcima papira, koji su prije zračenja bili inkubirani 7 dana pri temperaturi 25°C i relativnoj vlažnosti zraka od 75% , dok je drugim pokusom ispitan utjecaj gama zračenja na uzorke, koji nisu bili inkubirani u vlažnim uvjetima (suha inkubacija). Korišteni su kontrolni uzorci , oni su prošli sve faze postupka obrade ispitivanih uzoraka, osim posljednje - postupka zračenja, te se usporedbom porasta broja i vrste kolonija kontrolnih i tretiranih uzoraka, može donijeti zaključak o djelotvornosti metode i radioosjetljivosti pojedine vrste.

Uzorci su zračeni na Institutu Ruđer Bošković, u Laboratoriju za radijacijsku kemiju i dozimetriju Zavoda za kemiju materijala. Zračenje je izvršeno u panoramskom uređaju, koji kao izvor gama zračenja koristi ^{60}Co , pri temperaturi od 18°C. Ovo je jedini uređaj te vrste u Republici Hrvatskoj i susjednim zemljama. Radijacijska komora na IRB izgrađena je 1963., dok je svoj puni kapacitet razvila 1983., i tako stvorila temelje za djelatnosti koje se danas obavljaju u Laboratoriju - sterilizacija, pasterizacija, dekontaminacija i dezinfestacija raznih materijala (medicinske opreme, ljekovitih i kozmetičkih pripravaka, higijenskih potrepština, hrane) (Katušin-Ražem i sur.,2017). Topografija radijacijskog polja unutar komore mjeri se pomoću dozimetra na bazi etanol-klorbenzena (Ražem, 2004). Pripremljeni uzorci ozračeni su dozama od 2,7,20 i 50 kGy pri brzinama od 0,1 Gy/s, odnosno 9,8 Gy/s, te su analizirani metodom razrjeđenja 0., 7., 14. i 28. dan po ozračivanju. Rezultati vijabilnosti plijesni prije i nakon provedenog postupka prikazani su kao srednja vrijednost CFU/g, što je opisano u poglavlju 3.1.

4. REZULTATI I RASPRAVA

Prije početka provođenja pokusa, napravljen je screening test prirodne mikrobiote ispitivanog uzorka (Vergè papir), tako su dobiveni podaci o prisustvu određenih vrsta gljiva. Korelacija dobivenih podataka sa spoznajom o radioosjetljivosti navedenih vrsta, bitna je za određivanje učinkovite doze zračenja. Ovisnost mikrobicidnog učinka zračenja o vrsti mikroorganizma iskazuje se pomoću D_{10} vrijednosti, to je znanstveno utvrđena veličina, koja ukazuje na dozu zračenja koju je potrebno primijeniti kako bi došlo do smanjenja broja mikroorganizama za jednu logaritamsku jedinicu (Trandafir i sur., 2014). D_{10} je recipročna vrijednost nagiba pravca eksponencijalnog dijela krivulje preživljenja, također je možemo dobiti izvodom iz jednadžbe:

$$D_{10} = \frac{\text{doza zračenja}}{\log_{10}(X_0 - X)}$$

X_0 - početni broj mikroorganizama

X - broj preživjelih organizama

D_{10} vrijednost većine mikroorganizama (bakterija i gljivica) pronađenih na hrani, medicinskim uređajima i djelima kulturnog nasljeđa iznosi 0,1-1 kGy (Ponta i sur.,2017).

Tablica 1. Prikaz rezultata screening ispitivanja prirodne kontaminacije Vergè papira

Uzorak	CFU/g	Mikobiota
A	363,64	<i>Aspergillus</i> spp. - 100%
B	363,64	<i>Aspergillus</i> spp. - 100% bijela plijesan - 50%
C	636,36	<i>Aspergillus</i> spp. - 100% <i>Cladosporium</i> spp.- 100%
D	90 000	<i>Aspergillus</i> spp. - 100% <i>Cladosporium</i> spp.- 100%
E	454,55	<i>Cladosporium</i> spp.- 50% <i>Penicillium</i> spp.- 100%
F	400	<i>Cladosporium</i> spp.- 100%

Najzastupljenije vrste su *Aspergillus* iz sekcije *Nigri* i *Cladosporium* spp., prisutne su na 66% uzoraka, slijede ih bijela plijesan i *Penicillium* spp. sa 16% pojavnosti. Navedene vrste često su izolirane sa starih dokumenata (Coronado-Ruiz i sur., 2018.).

Važnost udjela vlage u zraku na rast gljivica, vidljiv je usporedbom broja kolonija neozračenih kontrolnih uzoraka, gdje je rast značajniji kod kontrolnih uzoraka koji su bili vlažno inkubirani, iako u danim podacima postoje određene varijabilnosti. Također je vidljivo da vlažniji uvjeti pogoduju rastu bijele plijesni.

Tablica 2. Prikaz porasta kolonija neozračenih vlažno inkubiranih uzoraka

Broj uzorka	CFU/g	Mikrobiota
1	818,18	bijela plijesan - 100%
2	272,73	bijela plijesan - 50%
3	454,55	bijela plijesan - 100%
4	545,45	bijela plijesan - 100%
5	454,55	bijela plijesan - 50%
6	636,36	<i>Aspergillus</i> spp. - 50% bijela plijesan - 50%

Tablica 3. Prikaz porasta kolonija na neozračenim, suhoinkubiranim kontrolnim uzorcima

Broj uzorka	CFU/g	Mikrobiota
1	300	<i>Cladosporium</i> spp. - 50% ostale 50%
2	200	<i>Cladosporium</i> spp. - 50% ostale - 50%
3	bez porasta nakon 1 mj.	
4	200	<i>Penicillium</i> spp. - 50% ostale - 50%
5	100	bijela plijesan- 50%
6	10 000	bijela plijesan- 50%

Usporedbom tablica 4 i 5, možemo zaključiti da zračenje dozom od 2 kGy neovisno o primijenjenoj brzini nije pokazalo antifungalni učinak. Naime, porast bijele plijesni bilježimo na svim obrađenim uzorcima, neovisno o danu nasađivanja, dozi i brzini zračenja, te uvjetima inkubacije. Došlo je do porasta novih vrsta koje nisu uočene tijekom „screening“ ispitivanja (*Cladosporium* spp.), što se može pripisati tzv. točkastoj kontaminaciji.

Tablica 4. Prikaz porasta broja i vrste kolonija na prethodno vlažno inkubiranim uzorcima ozračenim dozom gama zračenja od 2 kGy, pri brzinama od 0,1 Gy/s i 9,8 Gy/s

Jačina doze	2 kGy			
Brzina doze	0.1 Gy s ⁻¹		9.8 Gy s ⁻¹	
Dan	CFU/g	Mikrobiota	CFU/g	Mikrobiota
0.	757,58	bijela plijesan - 67% <i>Penicillium</i> spp. - 67% kvasac - 33% ostale - 33%	696,97	bijela plijesan - 100% <i>Penicillium</i> spp. - 67%
7.	727,27	<i>Aspergillus fumigatus</i> -100% <i>Aspergillus nigri</i> - 67% bijela plijesan- 67% <i>Penicillium</i> spp. - 67% <i>Aspergillus terreus</i> - 33% <i>Aspergillus versicolores</i> -33% siva plijesan - 33%	606,06	bijela plijesan- 100% <i>Penicillium</i> spp. - 100% kvasac - 33%
14.	303,03	bijela plijesan - 100% <i>Penicillium</i> spp. - 33% kvasac - 33%	393,94	bijela plijesan- 67% <i>Penicillium</i> spp. - 67% <i>Aspergillus fumigatus</i> - 33% kvasac - 33%
28.	60,61	ostale - 100% bijela plijesan - 33%	333,33	bijela plijesan- 100% <i>Penicillium</i> spp. - 67% <i>Aspergillus fumigatus</i> - 33% ostale - 33%

Tablica 5. Prikaz porasta broja i vrste kolonija na uzorcima ozračenim dozom gama zračenja od 2 kGy, pri brzinama od 0,1 Gy/s i 9,8 Gy/s

Jačina doze	2 kGy			
Brzina doze	0.1 Gy s ⁻¹		9.8 Gy s ⁻¹	
Dan	CFU/g	Mikrobiota	CFU/g	Mikrobiota
0.	6733,33	<i>Cladosporium</i> spp. - 33% bijela plijesan- 67%	2727,27	<i>Cladosporium</i> spp. - 33% bijela plijesan- 100% <i>Penicillium</i> spp. - 33% ostale - 100 % kvasci - 100%
7.	978,79	<i>Cladosporium</i> spp. - 67 bijela plijesan- 100% kvasci - 33% ostale - 67 %	787,88	<i>Cladosporium</i> spp. - 100% bijela plijesan- 67% <i>Penicillium</i> spp. - 33% ostale - 100 %
14.	515,15	bijela plijesan- 100% kvasci - 67% ostale - 67 %	303,03	<i>Cladosporium</i> spp. - 100% bijela plijesan- 33% <i>Neospora</i> spp.- 67% ostale - 33 %
28.	212,12	<i>Cladosporium</i> spp.- 33% bijela plijesan - 67% <i>Penicillium</i> spp. - 33% ostale - 33 %	424,25	<i>Aspergillus nigri</i> - 33% <i>Cladosporium</i> spp. - 33% bijela plijesan- 67% <i>Neurospora</i> spp. - 33% <i>Penicillium</i> spp. - 33% ostale - 67 % <i>Trichoderma</i> spp. - 33%

Tablice 6 i 7 prikazuju porast mikrobiote nakon ozračivanja dozom od 7 kGy pri dvjema brzinama (0,1 i 9,8 Gy/s). Veća doza primijenjenog zračenja uzrokovala je smanjenje broja kolonija, no pojedine vrste poput bijele plijesni, penicilija i kladosporija i dalje su prisutne na većini uzoraka.

Tablica 6. Prikaz porasta broja i vrste kolonija na prethodno vlažno inkubiranim uzorcima ozračenim dozom gama zračenja od 7 kGy, pri brzinama od 0,1 Gy/s i 9,8 Gy/s

Jačina doze	7 kGy			
Brzina doze	0.1 Gy s ⁻¹		9.8 Gy s ⁻¹	
Dan	CFU/g	Mikrobiota	CFU/g	Mikrobiota
0.	545,45	bijela plijesan- 100% <i>Penicillium</i> spp. - 100% ostale - 33%	730,30	bijela plijesan - 100% <i>Penicillium</i> spp. - 67%
7.	375,76	bijela plijesan - 100% <i>Penicillium</i> spp. - 33% ostale - 33%	606,06	bijela plijesan- 100% <i>Aspergillus fumigatus</i> -33% kvasci - 33% ostale - 33%
14.	2363,64	bijela plijesan- 100% kvasci - 100% <i>Aspergillus nigri</i> - 67%	363,64	bijela plijesan- 67% <i>Aspergillus nigri</i> - 33% ostale - 33%
28.	400	ostale - 100% <i>Aspergillus fumigatus</i> -67% bijela plijesan- 33%	242,43	bijela plijesan- 67% <i>Penicillium</i> spp. - 67% ostale - 33%

Tablica 7. Prikaz porasta broja i vrste kolonija na uzorcima
ozračenim dozom gama zračenja od 7 kGy, pri brzinama od 0,1 Gy/s i 9,8 Gy/s

Jačina doze	7 kGy			
Brzina doze	0.1 Gy s ⁻¹		9.8 Gy s ⁻¹	
Dan	CFU/g	Mikrobiota	CFU/g	Mikrobiota
0.	Kontaminacija		909,09	<i>Aspergillus nigri</i> - 33% <i>Cladosporium</i> spp.-67% bijela plijesan- 100% <i>Penicillium</i> spp. - 33% kvasci- 67% ostale - 100%
7.	454,55	<i>Alternaria</i> spp. - 67 % bijela plijesan- 67 % <i>Penicillium</i> spp. - 33 % kvasac - 33 % ostale - 67 %	6939,4	<i>Cladosporium</i> spp.-67% bijela plijesan- 33% <i>Neurospora</i> spp.- 33% <i>Penicillium</i> spp. - 100% ostale - 67%
14.	496,97	<i>Cladosporium</i> spp. - 33% bijela plijesan- 67% kvasci - 100% <i>Penicillium</i> - 100% Phoma - 33 % ostale - 67 %	333,33	<i>Cladosporium</i> spp.-67% bijela plijesan- 33% <i>Penicillium</i> spp. - 33% kvasci- 33% ostale - 67%
28.	248,49	<i>Cladosporium</i> spp.- 33% bijela plijesan- 33 % <i>Penicillium</i> spp. - 33 % ostale - 100 %	424,24	<i>Cladosporium</i> spp.-33% bijela plijesan- 100% <i>Neurospora</i> spp.- 67% <i>Penicillium</i> spp. - 33% ostale - 33%

Značajniji utjecaj na smanjenje broja plijesni imala je doza zračenja od 20 kGy primijenjena brzinom 0,1 Gy/s, no bijele plijesni su bile radiorezistentne i na ovu dozu.

Tablica 8. Prikaz porasta broja i vrste kolonija na prethodno vlažno inkubiranim uzorcima ozračenim dozom gama zračenja od 20 kGy, pri brzinama od 0,1 Gy/s i 9,8 Gy/s

Jačina doze	20 kGy			
Brzina doze	0.1 Gy s ⁻¹		9.8 Gy s ⁻¹	
Dan	CFU/g	Mikrobiota	CFU/g	Mikrobiota
0.	200	bijela plijesan- 100%	66,67	bijela plijesan- 33% <i>Penicillium</i> spp. - 33%
7.	33,33	bijela plijesan- 33%	400	bijela plijesan- 100% ostale - 67% <i>Aspergillus fumigatus</i> - 33%
14.	66,67	kvasac - 33% <i>Penicillium</i> spp. - 33%	100	bijela plijesan- 100%
28.	*zagađenje	sluzave kolonije srasle u masu	133,33	bijela plijesan- 67% <i>Penicillium</i> spp. - 33%

Tablica 9. Prikaz porasta broja i vrste kolonija na uzorcima ozračenim dozom gama zračenja od 20 kGy, pri brzinama od 0,1 Gy/s i 9,8 Gy/s

Jačina doze	20 kGy			
Brzina doze	0.1 Gy s ⁻¹		9.8 Gy s ⁻¹	
Dan	CFU/g	Mikrobiota	CFU/g	Mikrobiota
0.	433,33	bijela plijesan- 100% <i>Penicillium</i> spp. - 33% ostale - 33%	366,67	<i>Cladosporium</i> spp.-67% bijela plijesan- 100% <i>Penicillium</i> spp. - 33% ostale - 67%
7.	366,67	<i>Cladosporium</i> spp.-33% bijela plijesan- 100% ostale - 33%	133,33	<i>Cladosporium</i> spp.-33% kvasac - 33% ostale - 67%
14.	333,33	<i>Cladosporium</i> spp. -33% bijela plijesan- 100% ostale- 33% <i>Penicillium</i> spp. - 33%	100	<i>Neurospora</i> spp. - 33% ostale - 67%
28.	200	bijela plijesan- 33% ostale - 67%	333,33	<i>Cladosporium</i> spp.-67% bijela plijesan- 67% <i>Penicillium</i> spp. - 33% kvasci- 33% ostale - 67%

Primjena doze od 50 kGy dovela je do značajnog smanjenja porasta broja plijesni, taj učinak je vidljiviji ukoliko se navedena doza primjenjuje pri nižoj brzini.

Tablica 10. Prikaz porasta broja i vrste kolonija na prethodno vlažno inkubiranim uzorcima ozračenim dozom gama zračenja od 50 kGy, pri brzinama od 0,1 Gy/s i 9,8 Gy/s

Jačina doze	50 kGy			
Brzina doze	0.1 Gy s ⁻¹		9.8 Gy s ⁻¹	
Dan	CFU/g	Mikrobiota	CFU/g	Mikrobiota
0.	300	<i>Aspergillus fumigatus</i> - 33% bijela plijesan- 100%	233,33	bijela plijesan- 100% <i>Penicillium</i> spp. - 33%
7.	66,67	bijela plijesan- 67%	233,33	bijela plijesan- 100% <i>Aspergillus nigri</i> - 33% <i>Cladosporium</i> spp. - 33% <i>Penicillium</i> spp. - 33%
14.	33,33	kvasci - 33%	166,67	bijela plijesan - 100% <i>Aspergillus calidoustus</i> -33%
28.	33,33	<i>Penicillium</i> - 33%	166,67	bijela plijesan- 67% <i>Penicillium</i> spp. - 33% ostale - 33%

Tablica 11. Prikaz porasta broja i vrste kolonija na uzorcima ozračenim dozom gama zračenja od 50 kGy, pri brzinama od 0,1 Gy/s i 9,8 Gy/s

Jačina doze	50 kGy			
Brzina doze	0.1 Gy s ⁻¹		9.8 Gy s ⁻¹	
Dan	CFU/g	Mikrobiota	CFU/g	Mikrobiota
0.	300	bijela plijesan - 100%	233,33	bijela plijesan- 100% <i>Penicillium</i> spp. - 33% ostale - 33%
7.	233,33	<i>Cladosporium</i> spp. - 33% bijela plijesan- 100% <i>Aspergillus versicolores</i> -33%	133,33	bijela plijesan- 67% <i>Cladosporium</i> spp. - 33% <i>Penicillium</i> spp. - 33%
14.	500	<i>Cladosporium</i> spp. - 100% bijela plijesan- 67% <i>Penicillium</i> spp. - 33% ostale - 67%	133,33	bijela plijesan- 33% kvasac - 33% ostale - 33%
28.	167,67	bijela plijesan- 33% <i>Aspergillus fumigatus</i> - 33% kvasac- 33% sluzavo- 33%	300	<i>Alternaria</i> spp. - 33% <i>Cladosporium</i> spp. - 67% <i>Penicillium</i> spp. - 33% ostale - 100%

Rezultati provedenih pokusa u skladu su s dosada provedenim istraživanjima biokontaminacije djela kulturne baštine uopće (Sterflinger, 2012). Prirodni kontaminanti ispitivanog papira su gljivice iz rodova *Aspergillus*, *Cladosporium*, bijele plijesni, *Penicillium*, *Trichoderma*. Pojedine vrste gljivica, poput kladosporija, bijele plijesni i penicilija, bile su radiorezistentne, što je vidljivo iz dobivenih rezultata pokusa. Naime, porast bijele plijesni i penicilija uočen je i na uzorcima ozračenim dozom od 50 kGy, bez obzira na uvjete u kojima se uzorak prethodno nalazio. U kontekstu očuvanja djela iznimne kulturne važnosti, primjena te doze nije preporučena, jer bi došlo do oštećenja materijala, te bi se tako izgubio smisao provođenja postupka. Osim što su radiorezistentne, gljivice iz navedenih rodova sadrže i celulolitičke enzime, pa bi za sprječavanje daljnjeg oštećenje djela kulturne baštine, bilo potrebno primijeniti dovoljno veliku dozu zračenja, koja bi uništila sve oblike u kojima se jedna gljivica može nalaziti, što također ne bi koreliralo s očuvanjem izvornog materijala.

Razlike u broju porasta kolonija ovisno o vremenu, točnije danu nasađivanja nakon zračenja uzoraka, može se pripisati odgovoru stanice na stres. Uočeno je da na učinkovitost postupka utječe i brzina primjene određene doze, te se manji porast broja kolonija bilježi kod nižih doza primijenjenih pri višoj brzini, dok kod doze od 50 kGy vrijedi suprotno.

Popravlak oštećenja uzrokovanih gama zračenjem, poput loma jednog ili obaju lanaca DNA, mogu dovesti do nastanka 'zabranjenih' rekombinacija, poput rekombinacije posredovane mikrohomologijom, doprinoseći tako nastanku novih vrsta gljivica, koje su otpornije na genotoksični stres (Dadachova i Casadevall, 2008.)

Uz to se može uočiti da uzorci, koji su prethodno bili izloženi uvjetima vlažne inkubacije bilježe manji rast broja kolonija, pri istoj dozi i brzini zračenja, u odnosu na 'suhe' uzorke, što se može pripisati djelovanju slobodnih radikala nastalih radiolizom molekula vode po završetku postupka zračenja.

Gljivice iz rodova *Alternaria* spp., *Aspergillus* spp., *Cladosporium* spp., *Cryptococcus* spp., *Histoplasma* spp., *Penicillium* spp., *Stemphylium* spp. ubrajaju se u melanizirajuće gljivice. Melanizirajuće gljivice su visoko rezistentne spram ionizirajućeg zračenja, te se mogu pronaći u okolišu, u kojem prevladavaju ekstremni uvjeti, poput Arktika i Antarktike, na nadmorskim visinama koj su izloženi kozmičkom zračenju, svemirskoj postaji Mir i mjestima nuklearnih katastrofa, poput Černobila. Najveći broj melaniziranih spora pronađen je u sloju sedimentnih stijena, koji je nastao tijekom geološkog razdoblja krede, kada Zemlja

nije imala magnetsko polje, koje bi je štitilo od kozmičkog zračenja (Dadachova i Casadevall, 2008.). Melanin ima ulogu 'hvatača' zračenja, pri čemu dolazi do promjene elektronske strukture melanina, poput klorofila kod biljaka, samo u drugom dijelu spektra.

5. ZAKLJUČCI

- ‘Preporučena’ doza od 18 kGy nije dostatna za potpuno uklanjanje gljivica.
- Najbolji način očuvanja djela kulturne baštine od daljnje biodeterioracije je prevencija, odnosno redovito i pravilno čišćenje površina, uklanjanje prašine, regulacija udjela vlage u prostoriji, regulacija broja posjetitelja, održavanje ‘nepovoljnih’ uvjeta za rast i razmnožavanje gljivica,...
- Negativni utjecaj visokih doza gama zračenja na papir, ne čini ovu metodu potpuno primjerenom za zaštitu kulturne baštine.
- Celulolitičke gljivice poput vrsta iz rodova *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Penicillium* te bijele plijesni otporne su na visoke doze gama zračenja od 20 kGy i 50 kGy, neovisno o brzini primjene.
- U budućem istraživanju treba determinirati bijele plijesni molekularno-biološkim metodama kako bi se postavili temelji za istraživanje njihove otpornosti na gama zračenje.

6. LITERATURA

- Allsop D. Worldwide wastage: the economics of biodeterioration. *Microbiol Tod*, 2011, 38, 150-153.
- Belyakova L.A. Gamma radiation as a means of disinfection of books against spores of mould fungi. *Mikrobiologiya*, 1960, 29, 762-765.
- Călin M, Constantinescu-Aruxandei D, Alexandrescu E, Răut I, Badea Doni M, Arsene M-L, Oancea F, Jecu L, Lazăr V. Degradation of keratin substrates by keratinolytic fungi. *Electronic Journal of Biotechnology*, 2017, 28, 101-112.
- Coronado-Ruiz C, Avendaño R, Escudero-Leyva E, Conejo-Barboza G, Chaverri P, Chavarria M. Two new cellulolytic fungal species isolated from a 19th-century art collection. *Sci. Rep. Nature*, 2018, 8, 7492.
- Dadachova E, Casadevall A. Ionizing radiation: how fungi cope, adapt, and exploit with the help of melanin. *Curr. Opin. Microbiol.*, 11, 525-531.
- Dedesko S, Siegel J.A. Moisture parameters and fungal communities associated with gypsum drywall in buildings. *Microbiome*, 2015, 3, 71.
- Definicija kulturne baštine, <https://www.min-kulture.hr/default.aspx?id=6>, pristupljeno:28. lipnja 2018.
- Direktiva 98/8/EC Europske unije i Vijeća Europe, 1998., <http://ec.europa.eu/emi/environment/biocides/index.htm>, pristupljeno: 27. svibnja 2018.
- Kalenić S, Mlinarić-Missoni E. Oblik, građa i razmnožavanje gljiva. U: Medicinska bakteriologija i mikologija. Kalenić S, urednica, Zagreb, Merkur A.B.D., 2001, str. 405-421.
- Katušin-Ražem M, Braun M, Ražem D, Mihaljević B, Pucić I. The state of the art in radiation processing for cultural heritage in Croatia. U: Uses of Ionizing Radiation for Tangible Cultural Heritage Conservation. IAEA, urednik, Vienna, IAEA, 2017, str. 207-220.
- Kumar R, Sing S, Singh O.V. Bioconversion of lignocellulosic biomass: biochemical and molecular perspectives. *J Ind Microbiol Biotechnol.*, 2008, 35, 377-391.
- Michaelsen A, Pinzari F, Barbabietola N, Piñar G. Monitoring the effects of different conservation treatments on paper-infecting fungi. *Int Biodeterior Biodegradation*, 2013, 84, 333-341.

- Nunes I, Mesquita N, Cabo Verde S, Carolino MM, Portugal A, Botelho M.L. Bioburden assessment and gamma radiation inactivation patterns in parchment documents. *Rad Phys Chem*, 2013, 88, 82–89.
- Ponta CC, Havermans JBGA, Tran QK, Cortella L. Effects of ionizing radiation on materials. U: Uses of Ionizing Radiation for Tangible Cultural Heritage Conservation. IAEA, urednik, Vienna, IAEA, 2017, str. 61-84.
- Pucić I. Utjecaj gama zračenja na predmete kulturne baštine od organskih materijala. SEMINAR:RADIJACIJSKE METODE U ZAŠTITI KULTURNE BAŠTINE, ZAGREB, 2011, 1-28.
- Ražem D. Twenty years of radiation sterilization in Croatia. *Radiat Phys Chem*, 2004, 71, 597-602.
- Sterflinger K, Piñar G. Microbial deterioration of cultural heritage and works of art - tilting at windmills. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2013, 97, 9637-9646.
- Sterflinger K, Pinzari F. The revenge of time: fungal deterioration of cultural heritage with particular reference to books, paper and parchment. *Environ Microbiol*, 2012, 14, 559-566.
- Trandafir L, Zorila FL, Alexandru M, Ene M, Constantin M, Alistar A, Cutrubinis M, Iordache O, Stanculescu RI. Radioresistance of biodegradation fungi and its importance in establishing the decontamination dose. ICAMS V, Bucharest, 2014, 561-566.

7. SAŽETAK/SUMMARY

U ovom radu istraživana je uspješnost primjene metode gama zračenja u svrhu dekontaminacije i očuvanja djela kulturne baštine. Zbog široke rasprostranjenosti gljivica, sva su djela izložena opasnosti degradacije, koja može biti izbjegnuta ukoliko se vodi pravovaljana skrb o artefaktima i tako onemogućiti rast biokontaminanata. Ispitana je i prirodna kontaminacija samog materijala, te se nakon vizualne identifikacije kolonija mikroskopom, pristupilo zračenju uzoraka. Uzorci su bili podijeljeni u dvije skupine. Jedna skupina je prije zračenja bila inkubirana u vlažnim ($R_v=70-80\%$, $t=25^\circ\text{C}$), a druga u suhim uvjetima ($t=25^\circ\text{C}$). Objе skupine uzoraka zračene su dozama zračenja od 2, 7, 20 i 50 kGy u dvije brzine, 0,1 Gy/s i 9,8 Gy/s. Djelotvornost metode pratili smo porastom kolonija 0., 7., 14. i 28. dana, nakon izlaganja uzorka zračenju. Dobiveni rezultati eksperimenata pokazuju da su prirodni kontaminanti neosjetljivi na primijenjeno zračenje, jer je porast kolonija zabilježen kod uzoraka zračenim visokim dozama, koje su nekoliko puta veće od doza koje se koriste za dekontaminaciju umjetnina. Uočen je porast i drugih vrsta gljivica. Točkasta kontaminacija papira, otežava izvođenje konačnog zaključka o učinkovitosti fungicidnog/fungistatskog djelovanja gama zračenja.

This paper analyzes the use and effectiveness of gamma radiation, in order to decontaminate and protect cultural heritage. Fungi are widely spread in the environment, ergo they pose the risk to many works of art, and biodegradation is inevitable, unless the proper care is taken of these artefacts. Also, the natural contamination of the material has been analyzed, colonies were identified microscopically, following gamma radiation of the samples. Samples were divided into two groups. One group was exposed to the conditions of elevated humidity ($R_w=70-80\%$, $t=25^\circ\text{C}$), and the other group did not undergo any treatment, those samples remained in dry conditions. Both groups were irradiated with subsequent radiation doses 2, 7, 20 and 50 kGy, which were administered with two different velocities of 0,1 Gy/s and 9,8 Gy/s. The effectiveness of the method was evaluated in correspondence with colony growth after the certain time, i.e. 0th, 7th, 14th and 28th day after irradiation has taken the place. Natural contaminants have shown radio resistance due to given results, because there has been noticed colony growth in samples, which were treated with a high dose of radiation. The dose of the matter is several times higher than dose, which is usually used for

decontamination purpose. Growth of other fungal species has been noticed too. Due to dot contamination, it is very difficult to conclude how effective fungicide gamma radiation actually is.

Temeljna dokumentacijska kartica

Sveučilište u Zagrebu
Farmaceutsko-biokemijski fakultet
Studij: Farmacija
Zavod za mikrobiologiju
Schrottova 39/I.kat, 10000 Zagreb, Hrvatska

Diplomski rad

OTPORNOST FUNGALNIH KOLONIZATORA PAPIRA NA GAMA ZRAČENJE

Mirna Šantić-Petričević

SAŽETAK

U ovom radu istraživana je uspješnost primjene metode gama zračenja u svrhu dekontaminacije i očuvanja djela kulturne baštine. Zbog široke rasprostranjenosti gljivica, sva su djela izložena opasnosti degradacije, koja može biti izbjegnuta ukoliko se vodi pravovaljana skrb o artefaktima i tako onemogućiti rast biokontaminanata. Ispitana je i prirodna kontaminacija samog materijala, te se nakon vizualne identifikacije kolonija mikroskopom, pristupilo zračenju uzoraka. Uzorci su bili podijeljeni u dvije skupine. Jedna skupina je prije zračenja bila inkubirana u vlažnim ($R_v=70-80\%$, $t=25^\circ\text{C}$), a druga u suhim uvjetima ($t=25^\circ\text{C}$). Obje skupine uzoraka zračene su dozama zračenja od 2, 7, 20 i 50 kGy u dvije brzine, 0,1 Gy/s i 9,8 Gy/s. Djelotvornost metode pratili smo porastom kolonija 0., 7., 14. i 28. dana, nakon izlaganja uzorka zračenju. Dobiveni rezultati eksperimenata pokazuju da su prirodni kontaminanti neosjetljivi na primijenjeno zračenje, jer je porast kolonija zabilježen kod uzoraka zračenim visokim dozama, koje su nekoliko puta veće od doza koje se koriste za dekontaminaciju umjetnina. Uočen je porast i drugih vrsta gljivica. Točkasta kontaminacija papira, otežava izvođenje konačnog zaključka o učinkovitosti fungicidnog/fungistatskog djelovanja gama zračenja.

Rad je pohranjen u Središnjoj knjižnici Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Rad sadrži: 28 stranica, 11 tablica i 20 literaturnih navoda. Izvornik je na hrvatskom jeziku.

Ključne riječi: kulturna baština, gama zračenje, papir, mikrobiota

Mentor: **Dr. sc. Maja Šegvić Klarić**, redovita profesorica Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Ocjenjivači: **Dr. sc. Maja Šegvić Klarić**, redovita profesorica Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Dr. sc. Daniela Jakšić, poslijedoktorandica Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Dr. sc. Ana-Marija Domijan, izvanredna profesorica Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Rad prihvaćen: kolovoz, 2018.

Basic documentation card

University of Zagreb
Faculty of Pharmacy and Biochemistry
Department of Microbiology
Schrottova 39/1st floor, 10000 Zagreb, Croatia

Diploma thesis

GAMMA IRRADIATION RESISTANCE OF FUNGAL PAPER COLONIZERS

Mirna Šantić-Petričević

SUMMARY

This paper analyzes the use and effectiveness of gamma radiation, in order to decontaminate and protect cultural heritage. Fungi are widely spread in the environment, ergo they pose the risk to many works of art, and biodegradation is inevitable, unless the proper care is taken of these artefacts. Also, the natural contamination of the material has been analyzed, colonies were identified microscopically, following gamma radiation of the samples. Samples were divided into two groups. One group was exposed to the conditions of elevated humidity (Rw=70-80%, t=25°C), and the other group did not undergo any treatment, those samples remained in dry conditions. Both groups were irradiated with subsequent radiation doses 2,7,20 and 50 kGy, which were administered with two different velocities of 0,1Gy/s and 9,8 Gy/s. The effectiveness of the method was evaluated in correspondence with colony growth after the certain time, i.e. 0th, 7th, 14th and 28th day after irradiation has taken the place. Natural contaminants have shown radio resistance due to given results, because there has been noticed colony growth in samples, which were treated with a high dose of radiation. The dose of the matter is several times higher than dose, which is usually used for decontamination purpose. Growth of other fungal species has been noticed too. Due to dot contamination, it is very difficult to conclude how effective fungicide gamma radiation actually is.

The thesis is deposited in the Central Library of the University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry.

Thesis includes: 28 pages, 11 tables and 20 references. Original is in Croatian language.

Keywords: cultural heritage, gamma radiation, paper, mycobiota

Mentor: **Maja Šegvić Klarić, Ph.D.** *Full Professor*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

Reviewers: **Maja Šegvić Klarić, Ph.D.** *Full Professor*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry
Daniela Jakšić, Ph.D. *Postdoctoral Researcher*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry
Ana-Marija Domijan, Ph.D. *Associate Professor*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

The thesis was accepted: August, 2018.

