

Justyna Syguła-Cholewińska

Institut Nauk o Jakości i Zarządzania Produktem, Uniwersytet Ekonomiczny w Krakowie

Analiza zagrożeń mikrobiologicznych dla tkanin obiciowych z pomieszczenia kapitułarza Archiwum Krakowskiej Kapituły Katedralnej

Wprowadzenie

Zagrożenia mikrobiologiczne dla zasobów dóbr kultury związane są głównie z obecnością w środowisku muzeów, archiwów i bibliotek mikroorganizmów, które traktują materiały zabytkowe jako źródło pokarmu. Powodują ich enzymatyczny rozkład, korozję wzbudzoną poprzez produkcję wtórnych metabolitów, na przykład kwasów organicznych, lub niekorzystne zmiany estetyczne w postaci zaplamień. To niszczące oddziaływanie na obiekty zabytkowe określa się mianem biodeterioracji. Jej zakres i tempo zależą od rodzaju i liczby mikroorganizmów, ich aktywności oraz warunków umożliwiających im rozwój i rozprzestrzenianie się. Wymiernym skutkiem tego procesu jest częściowe lub całkowite uszkodzenie obiektu, co łączy się z utratą jego wartości materialnej, historycznej i społecznej¹.

Tkaniny zabytkowe to obiekty różnorodne pod względem wykorzystania i przeznaczenia. Stanowią je materiały ozdobne, jak kilimy i tapiserie, sztandary wojskowe, chorągwie oraz stroje, w tym szaty liturgiczne. Pod względem podatności na biodeteriorację tkaniny celulozowe są narażone na nią bardziej w porównaniu z tkaninami białkowymi. Wśród tkanin z włókien pochodzenia zwierzęcego jedwabie uznawane są za najbardziej odporne na mikrobiologiczne niszczenie i również ze względu na tę cechę mogły przetrwać

do dzisiejszych czasów tak licznie w wielu kolekcjach. Są oporne jedwab zawdzięcza specyficznej budowie. Zawiera fibroinę, hydrofobowe, krystaliczne białko o dużej zawartości reszt alaniny i glicyny, tworzących strukturę β -kardki, które jest trudno dostępne dla enzymów, oraz bardziej hydrofilowe białko serycyny, bogatą w reszty seryny. Największe zagrożenie dla tkanin jedwabnych będą więc stanowiły te mikroorganizmy, które wykształciły aparat enzymatyczny zdolny do rozkładu tych białek.

Zgodnie z literaturą przedmiotu zdolność do mikrobiologicznej degradacji jedwabiu na drodze enzymatycznej wykazano głównie w przypadku bakterii, natomiast grzyby mogą wzrastać na silnie zdegradowanym jedwabiu lub jako wtórni kolonizatorzy po zasiedleniu włókien i wstępnej degradacji fibroiny przez bakterie². Wśród gatunków bakterii izolowanych przez badaczy z włókien jedwabnych u *Pseudomonas cepacia* potwierdzono zdolność do hydrolizy fibroiny, a *Bacillus polymyxa* i *Pseudomonas paucimobilis* rozwijały się głównie na serycynie. Z włókien postarzonych izolowano natomiast *Arthrobacter aurescens*, *Bacillus megaterium* i *Pseudomonas luteola*, uznawane za najczęstszych kolonizatorów jedwabiu³. Z

1 Zob. J. Syguła-Cholewińska, *Czynniki mikrobiologiczne w zarządzaniu ochrona zbiorów muzealnych*, Kraków 2019.

2 Zob. A. Seves, M. Romano, T. Maifreni, S. Sora, O. Ciferri, *The Microbial Degradation of Silk: A Laboratory Investigation*, „International Biodeterioration and Biodegradation” 1998, nr 42, s. 203-211.

3 Zob. A. M. Seves, M. Romano, T. Maifreni, A. Seves, G. Scicolone, S. Sora, O. Ciferri, *A Laboratory Investigation of the Microbial Degradation of Cultural Heritage*, [w:] *Of Microbes and Art. The Role of Microbial Communities in the Degradation and Protection of Cultural Heritage*, ed. O. Cifferi, P. Tiano, G.

licznych szczepów *Bacillus* (*Bacillus licheniformis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus vallismortis*), które zasiedlały zabytkowe aksamity jedwabne dekorujące ściany Pałacu Króla Jana III w Wilanowie, największą aktywność niszczącą względem materiałów jedwabnych o różnej strukturze wykazał *Bacillus cereus*, który wykazywał dodatkowo zdolność do rozkładu koszenili – naturalnego barwnika wykorzystywanego do barwienia włókien jedwabnych⁴.

Cel badań i charakterystyka materiału badawczego

Przedmiot badań stanowiły zabytkowe XVII-wieczne jedwabne tkanin obiciowe ze ścian kapitułarza Archiwum Krakowskiej Kapituły Katedralnej, które po procesie konserwacji powróciły na ściany pomieszczenia jako niezbędny element jego wystroju. Ze względu na wyjątkową wartość artystyczną i historyczną tkanin ostatnim etapem prowadzonych prac badawczych i konserwatorskich jest opracowanie strategii ochrony dla wnętrza kapitułarza w celu zapewnienia warunków sprzyjających bezpiecznemu przechowywaniu i ekspozowaniu dzieł sztuki. Prezentowane w opracowaniu badania mikrobiologiczne miały na celu ocenę zagrożeń skupiającą się na wykazaniu obecności mikroorganizmów zdolnych do biodeterioracji materiałów zabytkowych, a więc potencjalnie niebezpiecznych dla ekspozowanych obiektów oraz wskazaniu źródeł i możliwości przenoszenia się zanieczyszczenia mikrobiologicznego. Prowadzone badania są elementem składowym strategii ochrony i dopiero w połączeniu z badaniami fluktuacji temperatury, wilgotności względnej i zanieczyszczeń chemicznych powietrza w pomieszczeniu pozwolą na kompleksową analizę zagrożeń. Poznanie aktualnych warunków mikroklimatycznych panujących w pomieszczeniu wskaże między innymi, w jakim stopniu są one warunkami umożliwiającymi rozwój mikroorganizmów w badanym środowisku i sprzyjającymi ujawnieniu się ich aktywności niszczącej. Opracowywana strategia zarządzania mikroklimatem pozwoli więc na ocenę zagrożeń, a po ich rozpoznaniu na podejmowanie długoterminowych działań mających na celu zabezpieczenie zabytków po procesie konserwacji także w aspekcie mikrobiologicznym.

Przedstawione badania mikrobiologiczne miały na celu:

- identyfikację zagrożeń mikrobiologicznych występujących w powietrzu wewnętrznym archiwum jako środowiska przechowywania i ekspozowania zabytkowych tkanin oraz drogi przenoszenia się zanieczyszczeń mikrobiologicznych pomiędzy obiektami;
- określenie stanu mikrobiologicznego tkanin po procesie konserwacji w aspekcie uaktywnienia się mikroorganizmów o potencjale biodeterioracyjnym.

Poszczególne etapy analizy zagrożeń mikrobiologicznych skupiały się na zagadnieniach: jakie mikroorganizmy i w jakiej liczbie występują w badanych pomieszczeniach (identyfikacja zagrożeń), czy mają potencjał degradacyjny (szacowanie zagrożeń) i czy mogą uaktywnić się w panujących warunkach mikroklimatu (ocena zagrożeń). Badania prowadzono dwuetapowo, tj. w dwóch porach roku (zimowej i letniej) o odmiennym sposobie determinowania warunków mikroklimatycznych pomieszczeń oraz przed i po ponownym wprowadzeniu tkanin do kapitułarza.

W badaniach mikrobiologicznych powietrza analizie mikrobiologicznej poddano powietrze wewnętrzne we wskazanych pomieszczeniach Archiwum i Biblioteki Krakowskiej Kapituły Katedralnej mieszczącej się przy Bazylice Archikatedralnej św. Stanisława Biskupa i Męczennika i św. Wacława Męczennika na Wawelu. Materiał pobierano w dwóch etapach:

- w porze zimowej 13 lutego 2019 roku, kiedy tkaniny były zdemontowane i poddawane konserwacji w pracowniach poza pomieszczeniem kapitułarza (etap I),

Nastromei, New York 2000, s. 121-133.

⁴ Zob. A. Laudy, *Microbiological Quality of Indoor Air in Wilanów Palace Museum and its Potential Impact on the Biodeterioration of the Genoa Velvets*, Warszawa 2013.

– w porze letniej 14 lipca 2020 roku, po ponownym zainstalowaniu tkanin w pomieszczeniu kapitułarza po przebytej konserwacji (etap II).

W pierwszym etapie materiał pobrano w celu wstępnej oceny warunków mikrobiologicznych panujących w pomieszczeniach przechowywania zbiorów. Badania obejmowały analizę mikrobiologiczną powietrza w trzech magazynach o ustabilizowanych warunkach, niedostępnych dla zwiedzających ani czytelników. Temperatura powietrza wewnętrznego podczas pomiarów wynosiła 17,2-17,5°C, a wilgotność względna 37-42%. Jako magazyn 1 oznaczono magazyn położony z prawej strony od wejścia do Kapitułarza, a jako magazyny 2 (przechodni) i 3 z jego lewej strony (fot. 1). W każdym badanym magazynie próbki pobierano czterokrotnie. Pomieszczenie główne w tym etapie nie było poddane badaniom ze względu na prowadzone w nim prace konserwatorskie i remontowe.



Fotografia 1. Usytuowanie pomieszczeń badanych w etapie I, wejścia do magazynów oznakowano na potrzeby badań jako 1, 2 i 3.

Źródło: fot. ks. P. Guzik.

W etapie II badania prowadzono przede wszystkim w pomieszczeniu głównym kapitułarza, widocznym na fotografii 1, do którego wprowadzono tkaniny po przeprowadzonej konserwacji. Stanowi ono miejsce docelowej ekspozycji badanych tkanin, które podlegało w trakcie przeprowadzania pomiarów stałemu monitoringowi parametrów mikroklimatu wewnętrznego. W pomieszczeniu tym pobrano 10 próbek powietrza, a w częściach wejściowych magazynów 1 i 2 po 2 próbki. Należy zaznaczyć, że w trakcie pobierania próbek pomieszczenia były użytkowane. Obecni byli pracownicy (5 osób) dokonujący przeglądu archiwaliów, które były przynieszone z sąsiadujących z pomieszczeniem magazynów i digitalizowane w pomieszczeniu głównym kapitułarza.

W badaniach mikrobiologicznych tkanin badaniom poddano wybrane bryty XVII-wiecznych jedwabnych tkanin obiciowych zainstalowane w boazerii drewnianej w miejscu pierwotnej ekspozycji na ścianach kapitułarza Archiwum Krakowskiej Kapituły Katedralnej. Tkaniny jedwabne stanowiły 53 fragmenty rozlokowane w 12 płytach boazerii. Badaniom

poddano tkaniny po przebytej konserwacji znajdujące się na ekranach oznaczonych nrmi 5, 7 i 10 (fot. 2). Materiał pobrano 14 lipca 2020 roku przy poborze próbek powietrza w etapie II.



Fotografia 2. Przykładowe badane bryty jedwabnych tkanin obiciowych
Źródło: badania własne.

Czystość mikrobiologiczna badanych tkanin była monitorowana także w trakcie prac prowadzonych w pracowniach konserwatorskich przed wprowadzeniem obiektów do kapitularza. Sprawdzano, czy stan zachowania obiektów pod kątem mikrobiologicznym nie wskazuje na konieczność przeprowadzenia dezynfekcji, a prowadzone zabiegi, na przykład czyszczenie na mokro, nie uaktywniły mikroorganizmów potencjalnie niebezpiecznych dla obiektów i zdrowia konserwatorów⁵.

Metodyka badań

Badania powietrza wewnętrznego. Próbki powietrza w pomieszczeniach pobrano metodą zderzeniową za pomocą próbnika do analizy mikrobiologicznej powietrza MAS 100Eco (Merck) na cztery rodzaje podłoża hodowlanych. Powietrze zasysano bezpośrednio na podłoża mikrobiologiczne z prędkością 100 l/min, w objętości 100 l na każdą ze stosowanych pożywek. W każdym badanym magazynie próbki pobierano czterokrotnie w etapie I i dwukrotnie w etapie II. Z pomieszczenia głównego kapitularza pobrano 10 próbek powietrza. Pobrany materiał poddawano inkubacji w warunkach laboratoryjnych w temperaturze $29\pm 1^{\circ}\text{C}$ przez 3 tygodnie, dokonując okresowych obserwacji i zliczeń wyrosłych kolonii mikroorganizmów do oznaczeń ilościowych (fot. 3 i 4). Do hodowli bakterii wykorzystano agar kazeinowo-sojowy (TSA), do grzybów podłoże z ekstraktem słodowym (MEA), z dichloranem i glicerolem (DG18) i Czapek-Dox z sacharozą zalecane do analizy mikrobiologicznej powietrza zgodnie z metodyką badań. Na podstawie liczby wyrosłych kolonii wyznaczono po hodowli średnią liczbę grzybów i bakterii w powietrzu i wyrażono ją w jednostkach tworzących kolonie – jtk w 1 m^3 powietrza.

Badania tkanin. Materiał do badania stanu mikrobiologicznego tkanin pobierano metodą wymazu i metodą odciskową. Z obiektów pobrano materiał metodą wymazu jałową wymazówką z powierzchni o łącznym wymiarze 25 cm^2 z każdego badanego fragmentu tkaniny. Po przeniesieniu do laboratorium wymazówki odpłukiwano w jałowym płynie fizjologicznym i posiewano na pożywki mikrobiologiczne. Do hodowli bakterii wykorzystano agar kazeinowo sojowy (TSA), a do izolacji grzybów podłoże Czapek-Doxa z sacharozą oraz

⁵ Zob. J. Syguła-Cholewińska, T. Sawoszczuk, Analiza mikrobiologiczna XVII-wiecznych tkanin ściennych z Kapitularza Archiwum Krakowskiej Kapituły Katedralnej, raport niepublikowany, 2020.

agar glukozowo-peptonowy z różem bengalskim (RBS). Zastosowano także pożywki selektywne do wykrycia poszczególnych grup bakterii o specyficznych wymaganiach wzrostowych: podłoże Baird-Parkera do izolacji i różnicowania gronkowców, podłoże z żółcią, czerwienią obojętną, fioletem krystalicznym i glukozą (VRBG) do bakterii fekalnych, mogących również bytować na butwiejących szczątkach roślin, oraz podłoże do izolacji mikroorganizmów halofilnych o niższych wymaganiach wilgotnościowych, osmotolerancyjnych. Inkubacje wysianych próbek prowadzono przez okres i w warunkach temperaturowych zalecanych w metodyce badań mikrobiologicznych do uzyskania wzrostu mikroorganizmów na poszczególnych rodzajach pożywek. Z wyrosłych po hodowli kolonii bakterii i grzybów izolowano następnie szczepy mikroorganizmów, doprowadzając do czystych kultur i poddawając je identyfikacji gatunkowej metodami biologii molekularnej.

Materiał do badań mikrobiologicznych tkanin pobrano dodatkowo metodą odciskową na zwilżone jałowe próbki tkaniny jedwabnej. Tkaniny po przetransportowaniu do laboratorium umieszczano w pożywce płynnej Sabourauda 2% i inkubowano przez 14 dni w temperaturze $29 \pm 1^\circ\text{C}$, a po tym czasie przenoszono próbki na podłoże – agar ziemniaczany (PDA) – i kontynuowano inkubację przez kolejne 2 tygodnie. Nie uzyskano jednak wzrostu mikroorganizmów z próbek pozyskanych tą metodą.

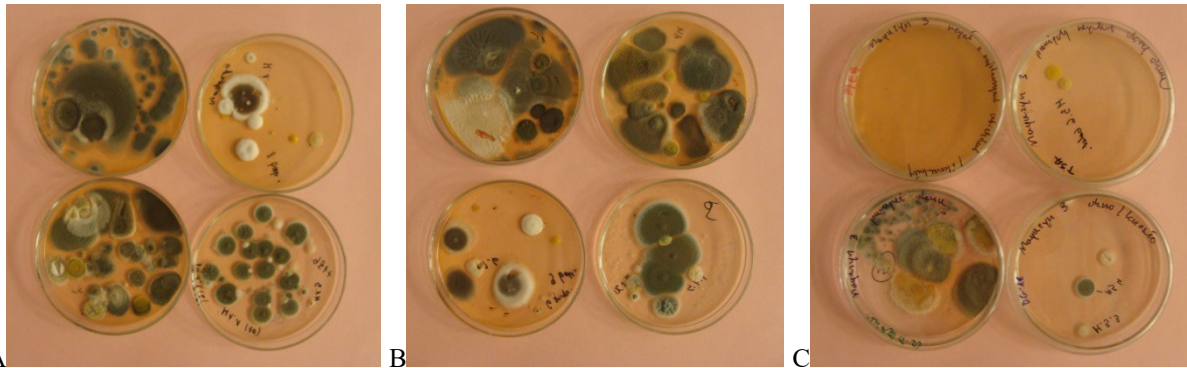
Identyfikacja mikroorganizmów. Identyfikację gatunkową szczepów wyizolowanych z próbek powietrza i tkanin prowadzono z wykorzystaniem metod molekularnych na podstawie konserwatywnych sekwencji DNA. Po izolacji szczepów z tkanin dokonano ekstrakcji DNA z hodowli poszczególnych izolatów. Ekstrakcję przeprowadzono przy użyciu komercyjnych zestawów do izolacji DNA (Eurx, Polska) zgodnie z załączoną przez producenta procedurą postępowania. Podstawą identyfikacji w przypadku bakterii była analiza sekwencji fragmentu genu 16S rDNA, w przypadku grzybów zaś sekwencji regionu ITS. W tym celu amplifikowano fragmenty wyizolowanego DNA w reakcji łańcuchowej polimerazy (PCR) z wykorzystaniem starterów U968 i L1401 do DNA bakterii oraz ITS4 i ITS1 dla grzybów. Uzyskane amplikony rozdzielono w żelu elektroforetycznym i zsekwencjonowano w firmie Genomed (Polska). Na podstawie otrzymanych sekwencji nukleotydów przeprowadzono identyfikację mikroorganizmów, porównując te sekwencje z sekwencjami zgromadzonymi w bazie danych National Center for Biotechnology Information (NCBI) za pomocą narzędzia do analizy sekwencji DNA Basic Local Alignment Search Tool (BLAST).

Wyniki badań

Badania miały na celu określenie jakości mikrobiologicznej powietrza wewnętrznego Archiwum Krakowskiej Kapituły Katedralnej jako środowiska przechowywania i eksponowania zabytkowych tkanin. Liczba i skład gatunkowy mikroorganizmów występujących w powietrzu zmienia się wraz z porą roku, w której warunki klimatu zewnętrznego determinują stan mikroklimatu wewnętrznego. Jego parametry takie jak temperatura i wilgotność względna powietrza mają wpływ na rozwój mikroorganizmów w pomieszczeniu. Sledzono więc zmiany liczby i składu mikroorganizmów w powietrzu pomieszczeń archiwum w dwóch porach roku o odmiennych warunkach klimatycznych: porze zimowej (etap I) i porze letniej (etap II).

Etap I – badania mikrobiologiczne powietrza w magazynach Archiwum Krakowskiej Kapituły Katedralnej w porze zimowej

Na podstawie liczby kolonii mikroorganizmów wyhodowanych z próbek powietrza (fot. 3) pobranych 13 lutego 2019 roku wyznaczono liczbę grzybów i bakterii obecnych w powietrzu magazynów archiwum. Wyniki oznaczeń przedstawiono w tabeli 1.



Fotografia 3. Wzrost kolonii grzybów i bakterii z próbek powietrza pobranych w pomieszczeniach Archiwum i Biblioteki Krakowskiej Kapituły Katedralnej (etap I)

A – magazyn 1

B – magazyn 2

C – magazyn 3

Źródło: badania własne.

Tabela 1. Liczba mikroorganizmów w powietrzu pomieszczeń Archiwum i Biblioteki Krakowskiej Kapituły Katedralnej (etap I) wyznaczona w porze zimowej 2019 roku

Badane pomieszczenie	Średnia liczba mikroorganizmów w powietrzu [jtk/m ³]	
	Liczba bakterii	Liczba grzybów
Magazyn 1	80	147
Magazyn 2	90	127
Magazyn 3	20	30

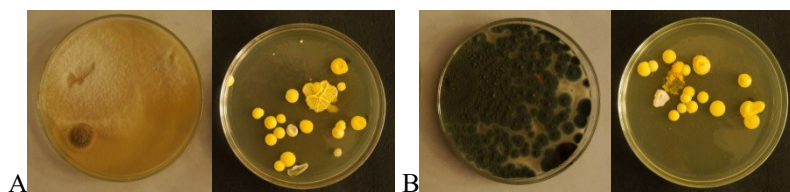
Jak wynika z tabeli 1, wyznaczona na podstawie prowadzonych hodowli średnia liczba grzybów w powietrzu w etapie I wynosiła 30-147 jtk/m³ powietrza w zależności od pomieszczenia, a bakterii 20-90 jtk/m³. Zważywszy na panujące zimowe warunki atmosferyczne, niekorzystne do rozwoju mikroorganizmów, tj. niską temperaturę pomieszczeń w porze zimowej – 17°C – i wilgotność względną powietrza wewnętrznego poniżej 50%, ich liczba utrzymywała się na akceptowalnym poziomie.

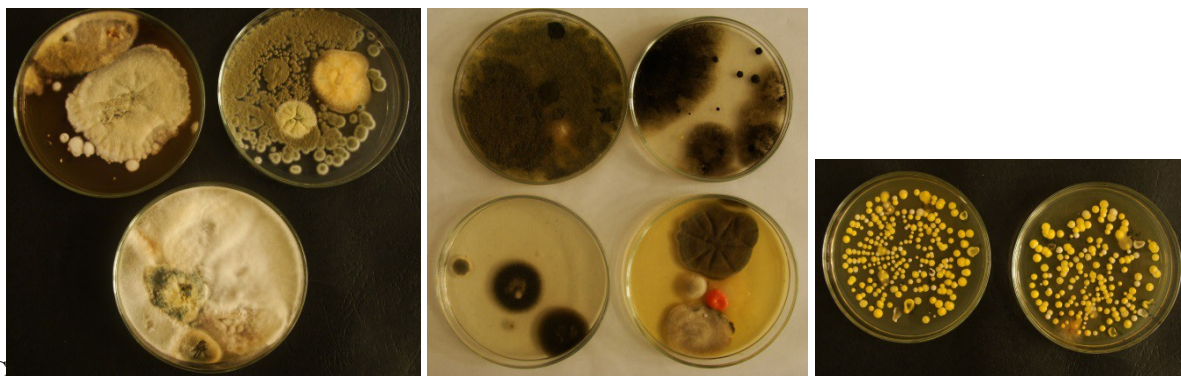
II etap – badania mikrobiologiczne powietrza w kapitularku Archiwum Krakowskiej Kapituły Katedralnej po wprowadzeniu tkanin w porze letniej

Na podstawie liczby kolonii mikroorganizmów wyhodowanych z próbek powietrza pobranych 14 lipca 2020 roku (fot. 4) wyznaczono liczbę grzybów i bakterii obecnych w powietrzu pomieszczenia głównego kapitularku archiwum, w którym eksponowane są tkaniny, oraz w magazynach 1 i 2. Wyniki oznaczeń przedstawiono w tabeli 2.

Tabela 2. Liczba mikroorganizmów w powietrzu pomieszczeń Archiwum i Biblioteki Krakowskiej Kapituły Katedralnej (etap II) wyznaczona w porze letniej 2020 roku

Badane pomieszczenie	Średnia liczba mikroorganizmów w powietrzu [jtk/m ³]	
	Liczba bakterii	Liczba grzybów
Kapitularku pomieszczenie główne	2495	54
Magazyn 1	200	30
Magazyn 2	190	30





Fotografia 4. Wzrost kolonii grzybów i bakterii z próbek powietrza pobranych w pomieszczeniach Archiwum i Biblioteki Krakowskiej Kapituły Katedralnej – etap II

A – magazyn 1

B – magazyn 2

C – pomieszczenie główne kapitularka

Źródło: badania własne.

Dane w tabeli 2 wskazują na zróżnicowany poziom ilościowy mikroorganizmów w powietrzu, zwłaszcza bakterii, pomiędzy pomieszczeniem głównym kapitularka a magazynami. Liczba bakterii w powietrzu pomieszczenia głównego w porze letniej wynosiła blisko 2500 jtk/m³ powietrza, podczas gdy w magazynach utrzymywała się na zbliżonym poziomie odpowiednio 200 i 190 jtk/m³ w magazynie 1 i 2. Można więc zauważyć, że liczba bakterii w powietrzu magazynów w sezonie letnim była około dwukrotnie wyższa od liczby tych mikroorganizmów odnotowanej w sezonie zimowym (80 i 90 jtk/m³). Z kolei liczba grzybów w powietrzu magazynów w badaniach prowadzonych latem (30 jtk/m³) była niższa od poziomu rejestrowanego zimą (147 i 127 jtk/m³). Najwyższą liczbę grzybów (54 jtk/m³) i bakterii (2495 jtk/m³) w badaniach etapu II odnotowano w pomieszczeniu głównym kapitularka, które nie było badane w sezonie zimowym. Na taki stan mikrobiologiczny powietrza mogło mieć wpływ aktywne użytkowanie pomieszczenia (prace archiwizacyjne, ruch ludzi i obiektów, na przykład kart przy przeglądaniu archiwaliów) w porównaniu do magazynów, do których dostęp jest ograniczony.

Porównując otrzymane z obu pomiarów wyniki badań ilościowych mikroflory powietrza z danymi literaturowymi dotyczącymi badań podobnych środowisk w aspekcie mikrobiologicznym, można stwierdzić, iż otrzymane rezultaty mieszczą się w podawanych w literaturze zakresach. Przeglądowe badania Joanny Karbowskiej-Berent i współpracowników⁶ prowadzone w wielu polskich bibliotekach i archiwach określają średnią liczbę mikroorganizmów stwierdzanych w powietrzu tych instytucji na 100-1000 jtk/m³. Sezonowe badania prowadzone w salach wystawienniczych Zamku Królewskiego na Wawelu w latach 2002-2004 wskazały na zmiany liczby grzybów pleśniowych w powietrzu zachodzące wraz z porą roku. Ich liczba wynosiła od kilku-kilkudziesięciu jednostek zimą do około 500 jtk/m³ rejestrowanych latem⁷. Badania Justyny Skóry i współpracowników prowadzone w kilku polskich muzeach, archiwach i bibliotekach określają zawartość mikroorganizmów w jeszcze szerszym zakresie od 210 do aż 7000 jtk/m³ powietrza⁸.

6 Zob. J. Karbowska-Berent, R.L. Górny, A.B. Strzelczyk, A. Wlazło, *Airborne and Dust Borne Microorganisms in Selected Polish Libraries and Archives*, „Building Environment” 2011, nr 46, s. 1872-1879.

7 Zob. J. Szostak-Kot, J. Syguła-Cholewińska, B. Błyskal, *Analiza mikroflory występującej w powietrzu sal wystawienniczych Zamku Królewskiego na Wawelu*, „Polish Journal of Commodity Science” 2007, nr 3(12), s. 85-98.

8 Zob. J. Skóra, B. Gutarowska, K. Pielech-Przybylska, Ł. Stępień, K. Pietrzak, M. Piotrowska, P. Pietrowski, *Assesment of Microbiological Contamination in the Work Environments of Museums, Archives and Libraries*, „Aerobiologia” 2015, nr 31, s. 389-401.

Niska liczba bakterii i grzybów stwierdzana w powietrzu pomieszczeń może być wynikiem utrzymywania się odpowiednich warunków mikroklimatu: niskiej temperatury i wilgotności względnej powietrza poniżej 50%, co ogranicza rozwój mikroorganizmów, zwłaszcza bakterii, które w porównaniu do grzybów mają wyższe wymagania wilgotnościowe konieczne do wzrostu. Zależność ta znajduje swoje potwierdzenie w wynikach badań prowadzonych w instytucjach, które zlokalizowane są w rejonach geograficznych utrudniających zapewnienie w naturalny sposób takich warunków klimatu. W badaniach prowadzonych w budynkach Archiwum Narodowego na Kubie w bibliotece map, gdzie panowała temperatura 24°C i wilgotność 52%, odnotowywano zawartość mikroorganizmów odpowiadającą 562 jtk/m³ powietrza, podczas gdy w bibliotece fotografii przy temperaturze 28°C i wilgotności względnej 65% poziom grzybów był trzykrotnie wyższy⁹.

Oprócz warunków klimatu na niski poziom bakterii i grzybów wyznaczony w prezentowanych badaniach zimą mogło mieć wpływ ograniczone użytkowanie pomieszczenia przez ludzi; czynnik ludzki uznaje się w takich środowiskach za główne źródło zanieczyszczeń biologicznych. Podobnie wzrost liczby bakterii obserwowany latem może wiązać się zarówno z warunkami klimatycznymi panującymi o tej porze roku (wzrost temperatury i wilgotności względnej powietrza), jak i z aktywniejszym użytkowaniem Archiwum Krakowskiej Kapituły Katedralnej przez jej pracowników. Wpływ obecności ludzi na wzrost poziomu mikroorganizmów w powietrzu muzeów potwierdzają i dobrze odzwierciedlają wyniki badań prowadzonych w Zamku Królewskim na Wawelu – Państwowych Zbiorach Sztuki¹⁰ oraz w Muzeum Pałacu Króla Jana III w Wilanowie¹¹. W obu przypadkach nasilenie ruchu turystycznego wpływało na wzrost liczby grzybów odnotowywany w powietrzu sal wystawienniczych. W pałacu w Wilanowie w porze zimowej ze 100 jtk/m³ wzrastała ona w obecności zwiedzających do 540 jtk/m³, a wiosną z przedziału 60-500 jtk/m³ w zależności od pomieszczenia – nawet 2200 jtk/m³ powietrza. Zwiększeniu liczby grzybów w powietrzu wywołanemu ruchem turystycznym towarzyszył blisko trzykrotny wzrost liczby bakterii. Wydaje się więc, że to właśnie obecnością ludzi można tłumaczyć w prezentowanych badaniach tak wysoką liczbę bakterii stwierdzoną w pomieszczeniu głównym kapitułarza latem. Należy podkreślić, że zarówno Zamek Królewski na Wawelu, jak i Muzeum Pałacu Króla Jana III w Wilanowie są środowiskami zbliżonym do kapitułarza Archiwum Krakowskiej Kapituły Katedralnej pod kątem rozważanej problematyki. W ich unikatowych, historycznych wnętrzach eksponowane są zabytkowe tkaniny jedwabne lub wełniane podlegające szczególnej ochronie ze względu na swoją wyjątkową wartość.

Trudna do wytłumaczenia pozostaje niska liczba grzybów stwierdzana w powietrzu magazynów latem. Oprócz ograniczonego użytkowania tych pomieszczeń może być ona wynikiem przede wszystkim mniejszej liczby pomiarów przeprowadzonych w magazynach w tej porze roku lub pobrania prób jedynie w części wejściowej pomieszczeń, co mogło dać nie w pełni reprezentatywne rezultaty.

Oceniając prowadzone badania ilościowe pod kątem wytycznych dotyczących zalecanych stężeń mikroorganizmów w środowiskach muzeów, archiwów i bibliotek, należy zaznaczyć, że wymagania nie są jednoznaczne. Proponowane limity liczby mikroorganizmów w powietrzu pomieszczeń wahają się od bardzo restrykcyjnych 100-120 jtk/m³ powietrza do dopuszczających nawet kilka tysięcy jednostek¹². Często wartości dopuszczalnych stężeń

9 Zob. S. Borrego, P. Guimet, S. Gomez de Saravia, P. Batistimi, M. Garcia, P. Lavin, *The Quality of Air at Archives and Biodeterioration of Photographs*, „International Biodeterioration and Biodegradation” 2010, nr 64, s. 139-145.

10 Zob. J. Szostak-Kot, J. Syguła-Cholewińska, B. Błyskal, *op. cit.*

11 Zob. A. Laudy, *op. cit.*

12 Zob. R.L. Górny, *Biologiczne czynniki szkodliwe: normy, zalecenia i propozycje wartości dopuszczalnych*, „Podstawy i Metody Oceny Środowiska Pracy” 2004, nr 3(41), s. 17-39.

bioaerozolu w pomieszczeniach uzależnione są od składu gatunkowego i uwzględniają wyższe limity dla zróżnicowanego gatunkowo mikrobiomu 150 jtk/m³ powietrza, a przy obecności grzybów powszechnie występujących w powietrzu zewnętrznym, takich jak *Alternaria spp.* i *Cladosporium spp.* – 500 jtk/m³. Wieloletnie badania prowadzone w bibliotekach i archiwach pozwoliły na zaproponowanie poziomu 200 jtk/m³ jako wartości granicznej, powyżej której liczba grzybów w powietrzu stanowi sygnał świadczący o zawilgoceniu, obecności wewnętrznych źródeł mikroorganizmów, a nawet skażeniu kolekcji¹³. Limit ten jest szeroko uznawany w środowisku muzealników i archiwistów, choć najbardziej aktualną wytyczną, w której uwzględniono wartości graniczne stężenia bioaerozolu sygnalizujące istnienie wewnętrznego źródła zanieczyszczeń mikrobiologicznych w muzeach, magazynach i pracowniach konserwatorskich, na poziomie 150 jtk/m³ powietrza, jest zalecenie Centralnego Instytutu Ochrony Pracy opublikowane w 2016 roku¹⁴.

W badanych przypadkach, poza liczbą bakterii stwierdzanych w powietrzu pomieszczenia głównego kapitularza i magazynów latem, wartości liczby mikroorganizmów wyznaczone w pomiarach spełniają oba kryteria. Poziom grzybów strzępkowych w powietrzu kapitularza i Biblioteki Krakowskiej Kapituły Katedralnej w wyznaczonym w badaniach zakresie można, w kontekście tych zaleceń, uznać za bezpieczny dla ludzi i obiektów zabytkowych. Niepokój budzi natomiast wysoka liczba bakterii w głównej sali kapitularza, tj. 2500 jtk/m³ powietrza, wynikająca najprawdopodobniej z nadmiernej eksploatacji tego pomieszczenia. Wartość ta, choć wysoka, spełnia wymagania ustalone przez Międzyresortową Komisję ds. Dopuszczalnych Stężeń i Natężeń Czynnikiów Szkodliwych dla Zdrowia w Środowisku Pracy¹⁵, ale w kontekście ustalenia bezpiecznych warunków przechowywania zabytkowych tkanin obciowych wymaga interwencji zarządczych zmierzających do takiej organizacji pracy, aby zapewnić niski, stabilny poziom bakterii w powietrzu pomieszczenia, w którym tkaniny są ekspozowane.

Identyfikacja i szacowanie zagrożeń mikrobiologicznych

Identyfikacja zagrożenia mikrobiologicznego w prezentowanych badaniach skupiła się na ustaleniu przynależności gatunkowej szczepów bakterii i grzybów wyizolowanych z przestrzeni kapitularza Archiwum Krakowskiej Kapituły Katedralnej mającej na celu potwierdzenie obecności w tym środowisku mikroorganizmów szczególnie niebezpiecznych dla przechowywanych materiałów zabytkowych. Po określeniu przynależności gatunkowej, na etapie szacowania zagrożeń określono potencjał degradacyjny oznaczonych szczepów w oparciu o dane literaturowe. Wyniki identyfikacji mikroorganizmów występujących w powietrzu archiwum w poszczególnych porach roku zebrano w tabeli 3 i 4, a obecnych na tkaninach po konserwacji i ponownym wprowadzeniu do kapitularza w tabeli 5. Przeanalizowano zmiany składu gatunkowego mikroorganizmów pomiędzy etapami badań.

Tabela 3. Mikroorganizmy występujące w powietrzu pomieszczeń Archiwum Krakowskiej Kapituły Katedralnej (etap I) w porze zimowej 2019 roku

Grzyby zidentyfikowane w próbkach powietrza		
Pomieszczenie kapitularza Archiwum Krakowskiej Kapituły Katedralnej		
Nazwa gatunkowa	A*	B**

13 Zob. J. Karbowska-Berent, R.L. Górny, A.B. Strzelczyk, A. Wlazło, *op. cit.*

14 Zob. D. Augustyńska, M. Pośniak, *Czynniki szkodliwe w środowisku pracy. Wartości dopuszczalne*, Warszawa 2016.

15 Zob. J. Skowroń, R. Górny, *Szkodliwe czynniki biologiczne*, [w:] *Czynniki szkodliwe w środowisku pracy: wartości dopuszczalne*, red. D. Augustyńska, M. Pośniak, Warszawa 2012.

nie badano		
Magazyn 1 znajdujący się z prawej strony od wejścia do kapitułarza		
Nazwa gatunkowa	A*	B**
<i>Penicillium chrysogenum</i> MF564074.1	58%	94,3%
<i>Penicillium chrysogenum</i> MK841451.1	98%	100%
<i>Aspergillus versicolor</i> MN515366.1	99%	99,8%
<i>Penicillium granulatum</i> GU134897.1	91%	96,1%
<i>Penicillium chrysogenum</i> GU134897.1	99%	98,6%
<i>Penicillium chrysogenum</i> HF546389.1	94%	94,7%
<i>Talaromyces variabilis</i> KY425712.1	98%	99,5%
<i>Penicillium corylophilum</i> JQ082506.1	99%	99,5%
<i>Talaromyces rugulosus</i> KM249069.1	97%	99,8%
<i>Aspergillus jensenii</i> LN898703.1	99%	99,8%
Magazyn 2 znajdujący się z lewej strony od wejścia do kapitułarza		
Nazwa gatunkowa	A*	B**
<i>Penicillium chrysogenum</i> MK841451.1	98%	98,0%
<i>Penicillium decumbens</i> JN986754.1	96%	100%
<i>Aspergillus versicolor</i> KX302040.1	98%	99,6%
<i>Penicillium chrysogenum</i> KR233468.1	97%	96,7%
<i>Penicillium chrysogenum</i> KX345292.1	63%	95,5%
<i>Penicillium chrysogenum</i> KP721562.1	83%	85,6%
<i>Aspergillus versicolor</i> MK281558.1	97%	99,8%
<i>Bjerkandera adusta</i> MF120203.1 biała zgnilizna drewna	97%	100%
<i>Aspergillus creber</i> MN413176.1	98%	99,4%
<i>Talaromyces rugulosus</i> KM249069.1	98%	99,6%
<i>Aspergillus versicolor</i> KX302038.1	97%	94,5%
Magazyn 3 znajdujący się z lewej strony od wejścia do kapitułarza za magazynem 2		
Nazwa gatunkowa	A*	B**
<i>Penicillium griseofulvum</i> MF034654.1	78%	93,4%
<i>Aspergillus versicolor</i> MG821479.1	97%	99,4%
<i>Penicillium chrysogenum</i> MK102703.1	97%	99,5%

*A – stopień pokrycia badanych sekwencji z sekwencjami w zebranych w bazie

** B – stopień podobieństwa, identyczności sekwencji

Badania powietrza przeprowadzone w etapie I wskazały na dominację w badanych pomieszczeniach grzybów z rodzaju *Penicillium* i *Aspergillus* (tab. 3). Wśród przedstawicieli rodzaju *Penicillium* stwierdzono obecność *Penicillium granulatum*, *Penicillium griseofulvum*, *Penicillium decumbens*, *Penicillium corylophilum*, *Talaromyces rugulosus* formy telomorficzej *Penicillium rugulosus* oraz *Talaromyces variabilis* formy telomorficzej *Penicillium variabilis*, a przede wszystkim kilku szczepów *Penicillium chrysogenum*, który okazał się gatunkiem grzyba obecnym w każdym badanym pomieszczeniu. Rodzaj *Aspergillus* był reprezentowany przez blisko spokrewnione gatunki *Aspergillus versicolor*, *Aspergillus creber*, *Aspergillus jensenii*. W magazynie 2 stwierdzono obecność celulolitycznego grzyba *Bjerkandera adusta*, który ma zdolność do rozkładu ligniny i celulozy w drewnie. Uznawany jest za przynależny do grupy grzybów powodujących białą zgniliznę drewna.

Tabela 4. Mikroorganizmy występujące w powietrzu pomieszczeń Archiwum Krakowskiej Kapituły Katedralnej (etap II) w porze letniej 2020 roku

Bakterie zidentyfikowane w próbkach powietrza		Grzyby zidentyfikowane w próbkach powietrza			
Pomieszczenie kapitułarza Archiwum Krakowskiej Kapituły Katedralnej					
Nazwa gatunkowa	A*	B**	Nazwa gatunkowa	A	B
<i>Enterobacter</i> sp. KF447993.1	92%	77,0%	<i>Aspergillus pseudoglaucus</i> KX258805.1	97%	99,4%

<i>Staphylococcus hominis</i> CP054883.1	97%	99,8%	<i>Alternaria alternata</i> MT134991.1	98%	100%
<i>Staphylococcus aureus</i> CP029667.1	97%	98,7%	<i>Alternaria tenuissima</i> MG211084.1	99%	98,5%
<i>Staphylococcus hominis</i> CP054883.1	97%	99,5%	<i>Alternaria tenuissima</i> MH656780.1	99%	99,8%
<i>Micrococcus luteus</i> MT533939.1	99%	98,5%	<i>Pleoporales sp.</i> MK595650.1	98%	99,6%
<i>Micrococcus yunnanensis</i> MT033093.1	99%	98,5%	<i>Cladosporium cladosporioides</i> MK127535.1	98%	99,6%
<i>Micrococcus luteus</i> MT533935.1	99%	98,5%	<i>Cladosporium antropophilum</i> MN515363.1	97%	98,6%
<i>Pseudomonas knackmussii</i> MT626776.1	98%	99,3%	<i>Rhodotorula mucilaginosa</i> KM014577.1	96%	99,8%
<i>Paracoccus yeei</i> CP0444081.1	36%	91,9%	<i>Steccherinum ochraceum</i> MK795064.1 biała zgnilizna drewna	97%	89,3%
<i>Solibacillus sp.</i> MT007970.1	97%	98,5%	<i>Alternaria solani</i> MN871616.1	100%	99,8%
<i>Micrococcus yunnanensis</i> MT033093.1	99%	98,5%	<i>Aspergillus lentulus</i> MK952421.1	98%	99,1%
<i>Micrococcus luteus</i> MT539734.1	98%	98,0%	<i>Colleotrichum sp.</i> KT963798.1 patogeny roślin	97%	99,5%
<i>Micrococcus luteus</i> MT533939.1 4 izolaty	98%	98,5%	<i>Alternaria solani</i> MN871615.1	99%	99,8%
<i>Paracoccus yeei</i> CP044081.1	97%	99,2%	<i>Aspergillus lentulus</i> MK952421.1	97%	99,6%
<i>Aerococcus viridans</i> MT544974.1	97%	99,2%	<i>Aspergillus flavipes</i> KP987083.1	97%	99,5%
<i>Staphylococcus hominis</i> CP054883.1	98%	98,7%	<i>Penicillium brevicompactum</i> MN643063.1	99%	99,6%
			<i>Aspergillus jensenii</i> MT582748.1	98%	99,6%
			<i>Penicillium chrysogenum</i> KU743899.1	99%	99,3%
			<i>Alternaria infectoria</i> KT192298.1	97%	99,6%
			<i>Fomitopsis sp.</i> AJ608951.1 brunatna zgnilizna drewna	97%	99,8%
			<i>Penicillium aethiopicum</i> MT919120.1	99%	99,6%
			<i>Trametes versicolor</i> AB811868.1 biała zgnilizna drewna	97%	99,8%
			<i>Cladosporium anthropophilum</i> MN515363.1	98%	99,8%
			<i>Cladosporium sp.</i> MT447487.1	96%	100%
			<i>Cladosporium macrocarpum</i> KM396371.1 2 izolaty	99%	99,6%
			<i>Cladosporium sp.</i> MK593601.1	91%	72,5%
			<i>Botrytis cinerea</i> MK370693.1 patogeny roślin	98%	99,6%
Magazyn 1 znajdujący się z prawej strony od wejścia do kapitularka					
Nazwa gatunkowa	A*	B**	Nazwa gatunkowa	A	B
<i>Staphylococcus aureus</i> MT605442.1	98%	99,8%	<i>Trametes hirsuta</i> MK396492.1 biała zgnilizna drewna	97%	98,0%
<i>Micrococcus luteus</i> NC012803.1 2 izolaty	98%	98,0%	<i>Mollisia melaleuca</i> AY359136.1 rozkład drewno martwych drzew	97%	96,9%
<i>Paracoccus yeei</i> CP031078.1	90%	91,1%	<i>Pheniophora cinerea</i> KY703425.1 rośnie na korze martwych drzew i krzewów	95%	92,3%
				94%	92,6%
Magazyn 2 znajdujący się z lewej strony od wejścia do kapitularka					
Nazwa gatunkowa	A	B	Nazwa gatunkowa	A	B

<i>Pseudomonas psychrotolerans</i> MN889344.1	93%	92,3%	<i>Penicillium chrysogenum</i> KX345292.1	847%	78%
<i>Micrococcus luteus</i> MT533939.1	97%	98,8%	<i>Cladosporium sphaerospermum</i> MN509040.1	98%	98,7%
<i>Micrococcus yunnanensis</i> KC866379.1	97%	98,0%			
Magazyn 3 znajdujący się z lewej strony od wejścia do kapitularka za magazynem 2					
Nazwa gatunkowa	A*	B**	Nazwa gatunkowa	A*	B**
nie badano			nie badano		

*A – stopień pokrycia badanych sekwencji z sekwencjami w zebranych w bazie

** B – stopień podobieństwa, identyczności sekwencji

Jak wynika z tabeli 4 skład mikroorganizmów obecnych w powietrzu pomieszczeń archiwum badany w sezonie letnim (etap II) różni się od tego zarejestrowanego w poprzednich pomiarach (etap I). W magazynie 1 stwierdzono obecność grzybów z gromady *Basidiomycota*: *Trametes hirsuta*, *Pheniophora cinerea* i z gromady *Ascomycota*: *Mollisia melaleuca*, których nie identyfikowano w poprzednim etapie. Co ważne, cechą wspólną tych grzybów jest zdolność do wzrostu na martwych drzewach i rozkładu drewna. W porze letniej w magazynie 1 nie wykryto grzybów z rodzaju *Penicillium* i *Aspergillus* charakterystycznych dla mikroflory powietrza tego pomieszczenia w porze zimowej. W magazynie 2 stwierdzono natomiast obecność grzyba *Penicillium chrysogenum*, który był gatunkiem dominującym w powietrzu archiwum zimą, ale wykryto także *Cladosporium sphaerospermum*. Grzybów z rodzaju *Cladosporium* nie stwierdzano poprzednio w żadnym badanym magazynie, choć są one powszechne w środowisku archiwów i bibliotek.

Pomieszczenie kapitularka Archiwum Krakowskiej Kapituły Katedralnej, w którym zainstalowano tkaniny jedwabne po konserwacji było badane w porze letniej, czyli dopiero po wprowadzeniu obiektów. Skład gatunkowy mikroorganizmów wykrytych we wnętrzu wskazuje na dużą bioróżnorodność. Wykryto liczne gatunki grzybów z rodzajów *Cladosporium*: *Cladosporium cladosporioides*, *Cladosporium antropophilum* (2 izolaty), *Cladosporium macrocarpum* i 2 szczepy oznaczone jako *Cladosporium sp.* Drugim licznym występującym rodzajem grzybów był rodzaj *Alternaria*, jego przedstawiciele to: *Alternaria alternata*, *Alternaria tenuissima* (2 szczepy), *Alternaria solani* (2 szczepy) i *Alternaria infectoria*. Rodzaj *Aspergillus* był reprezentowany przez *Aspergillus pseudoglaucus*, *Aspergillus lentulus* (2 izolaty), *Aspergillus flavipes*, niewykrywane w poprzednim etapie i *Aspergillus jensenii* występujący w powietrzu przestrzeni magazynowych archiwum zimą. W przeciwieństwie do wcześniejszych pomiarów grzyby z rodzaju *Penicillium* nie były tak powszechne. Wykryto trzy gatunki *Penicillium*: *Penicillium brevicompactum*, *Penicillium aethiopicum* i *Penicillium chrysogenum*, który odnotowano tylko raz. Co ważne, w powietrzu kapitularka występowały także grzyby bytujące na żywym (jako pasożyty, epifity i endofity) lub martwym materiale roślinnym (saprofity) zaliczane do gromady *Ascomycota*: *Pleoporales sp.*, *Colleotrichum sp.*, *Botrytis cinerea* i do grzybów kapeluszowych *Basidiomycota*: *Steccherinum ochraceum*, *Fomitopsis sp.*, *Trametes versicolor*.

Zgodnie z literaturą przedmiotu wśród mikroorganizmów zdolnych do zasiedlania i niszczenia włókien jedwabiu za pierwotnych kolonizatorów uznawane są bakterie, dlatego w drugim etapie badań, tj. po wprowadzeniu zbiorów, analiza mikrobiologiczna powietrza została rozszerzona o wykrywanie i identyfikację bakterii obecnych w powietrzu (tab. 4) i na tkaninach (tab. 5).

Dane w tabeli 4 wskazują na dominację bakterii z rodzaju *Micrococcus*. Blisko spokrewnione taksony *Micrococcus luteus* i *Micrococcus yunnanensis* były obecne i najliczniejsze w każdym badanym pomieszczeniu. Drugim najczęściej wykrywanym w kapitularku rodzajem bakterii były gronkowce: *Staphylococcus hominis* (3 izolaty) i 2 szczepy *Staphylococcus aureus* (w magazynie 1 i w pomieszczeniu głównym), które naturalnie

występują na ludzkiej skórze. Z pozostałych rodzajów bakterii w pomieszczeniu głównym kapitularka wykryto: *Enterobacter sp.*, *Pseudomonas knackmussii*, gatunek uznany za *Paracoccus yeii*, w magazynie 1: *Solibacillus sp.*, *Pseudomonas psychrotolerans*, a w magazynie 2 *Aerococcus viridans*. Bakterie z rodzaju *Micrococcus* i *Staphylococcus* są mikroorganizmami powszechnie występującymi w powietrzu w bibliotek i archiwów, często izolowanymi z tego środowiska przez innych badaczy¹⁶. Dziwi natomiast brak przetrwalnikujących laseczek z rodzaju *Bacillus* (poza jednym szczepem), tak licznych w badaniach obiektów zabytkowych.

Ostatnim etapem badań empirycznych było określenie stanu mikrobiologicznego tkanin po ich ponownym wprowadzeniu do kapitularka.

Tabela 5. Mikroorganizmy zidentyfikowane na próbkach pobranych z tkanin zainstalowanych w ekranach na ścianach kapitularka

Bakterie zidentyfikowane w próbkach pobranych z tkanin			Grzyby zidentyfikowane w próbkach pobranych z tkanin		
Ekran nr 5					
Nazwa gatunkowa	A*	B**	Nazwa gatunkowa	A	B
<i>Micrococcus luteus</i> CP025616.2	99%	98,8%	<i>Penicillium chrysogenum</i> KX345292.1	93%	85,5%
<i>Micrococcus luteus</i> MT533939.1	98%	98,8%			
Ekran nr 7					
Nazwa gatunkowa	A*	B**	Nazwa gatunkowa	A	B
<i>Bacillus pumilus</i> MH715283.1	98%	99,0%			
<i>Micrococcus luteus</i> MT367834.1 2 izolaty	98%	98,5%			
Ekran nr 10					
Nazwa gatunkowa	A	B	Nazwa gatunkowa	A	B
<i>Micrococcus luteus</i> MT367834.1	94%	90,1%			
<i>Staphylococcus hominis</i> CP054883.1	98%	98,7%			
<i>Micrococcus luteus</i> MT533935.1	99%	98,5%			

*A – stopień pokrycia badanych sekwencji z sekwencjami w zebranych w bazie

** B – stopień podobieństwa, identyczności sekwencji

Z tkanin wyizolowano tylko nieliczne szczepy mikroorganizmów. Wśród bakterii odnotowano, podobnie jak w powietrzu, kilka szczepów *Micrococcus luteus* i *Staphylococcus hominis* oraz *Bacillus pumilus*. Z trzech badanych ekranów tkanin obiciowych udało się wyizolować tylko jeden grzyb *Penicillium chrysogenum* (tab. 5). Stan mikrobiologiczny tkanin można więc ocenić jako dobry, nie ma przesłanek do interwencji konserwatorskich, a przeprowadzone zabiegi czyszczenia na mokro nie uaktywniły mikroorganizmów potencjalnie niebezpiecznych dla obiektów i zdrowia konserwatorów.

Ocena zagrożeń mikrobiologicznych

Obecne w bibliotekach i archiwach mikroorganizmy mają wpływ na stan zachowania udostępnianych i przechowywanych w magazynach obiektów. Głównymi źródłami mikroorganizmów zlokalizowanymi na zewnątrz budynków tych instytucji są: gleba, otaczające rośliny, zbiorniki wodne, a wewnętrznymi rośliny, zwierzęta i ludzie przebywający w budynku. Dominującą grupą mikroorganizmów w powietrzu atmosferycznym są grzyby, natomiast bakterie kumulują się w powietrzu przestrzeni zamkniętych. Jeżeli dostęp powietrza ze źródeł zewnętrznych jest ograniczony, do podwyższenia poziomu mikroorganizmów w

16 Zob. J. Karbowska-Berent, R.L. Górny, A.B. Strzelczyk, A. Wlazło, *op. cit.*

powietrzu przyczyniają się pozostałe źródła wewnętrzne, takie jak zanieczyszczone obiekty kolekcji, elementy wyposażenia pomieszczeń lub zawilgocone przegrody budowlane. Archiwalia są bogatym rezerwuarem substancji odżywczych do rozwoju mikroorganizmów: celulozy (papier, opakowania tekturowe, elementy drewniane) oraz białek (pergamin i skóra do opraw, kleje i inne, które stymulują wzrost poszczególnych grup drobnoustrojów). Do grzybów rosnących na materiałach celulozowych i powodujących ich rozkład zaliczamy gatunki z rodzaju *Trichoderma*, *Penicillium*, *Botrytis*, *Chaetomium*, *Stemphylium* i *Alternaria*. Wśród grzybów o właściwościach proteolitycznych wymienia się rodzaj *Mucor*, *Cheatomium*, *Trichoderma*, *Verticillium* i *Epicoccum*. Do celulolitycznych bakterii należą przedstawiciele z rodzaju *Cellulomonas* i *Cellvibrio*, a do proteolitycznych – wiele gatunków z rodzaju *Bacillus*. Ich obecność w powietrzu może wskazywać na zachodzące procesy biodeterioracji w badanym środowisku.

Analizując zmiany składu gatunkowego mikroorganizmów występujących w powietrzu kapitularza Archiwum Krakowskiej Kapituły Katedralnej w dwóch etapach badań można zauważyć, że wskazują one na zmiany warunków klimatu wewnętrznego zachodzące wraz z porą roku, w tym różnice wilgotności. W badaniach Sofii Borrego i współpracowników, prowadzonych w oddziałach kubańskiego Archiwum Narodowego, dominująca mikroflora należała do grzybów z rodzaju *Aspergillus* i *Penicillium*. W magazynach o podwyższonej wilgotności różnorodność rodzajowa była większa izolowano *Cladosporium*, *Alternaria*, *Fusarium*, *Scopulariopsis* i *Syncephalastrum*. W pomieszczeniach, gdzie mikroflora była liczna, dominowały grzyby z rodzaju *Penicillium*¹⁷. W badaniach mikrobiologicznych powietrza kapitularza zaobserwowano podobną zależność. W porze zimowej z powietrza izolowano wyłącznie szczepy *Penicillium spp.* i *Aspergillus spp.*, liczba grzybów była ponad czterokrotnie wyższa niż odnotowana latem, a najliczniej występowały *Penicillia*. W pomiarach letnich mikrobiom był bardziej zróżnicowany, dominowały grzyby z rodzaju *Cladosporium* i *Alternaria*, co wskazuje na wzrost wilgotności utrzymujący się okresowo w tej porze roku. Na zmianę wilgotności wskazuje również skład gatunkowy mikrobiomu. Zimą izolowano grzyby o niższych wymaganiach wilgotnościowych, tzw. średnio kserofilowe *Penicillium chrysogenum* (a_w 0,78-0,81) i *Aspergillus versicolor* (a_w 0,78). Latem występowały głównie grzyby słabo kserofilowe *Alternaria alternata* (a_w 0,85-0,88), *Cladosporium cladosporioides* (a_w 0,86-0,88) i hydrofilowe, jak *Botrytis cinerea* (a_w 0,93-0,95), preferujące wysoki stopień uwodnienia substratu, na którym rosną¹⁸. Potwierdzałyby to możliwość rozwoju w pomieszczeniach archiwum grzybów różniących się wymaganiami wzrostowymi w tym względzie.

W prowadzonych w kapitularzu badaniach nie wykryto gatunków o aktywności celulolitycznej, wymienianych wśród istotnych zagrożeń dla tkanin celulozowych, na przykład *Chaetomium spp.*, *Myrothecium verrucaria*, *Memnoniella echinata*, *Trichoderma spp.*, *Fusarium spp.*, *Culvularia lunata* czy *Stachybotrys chartarum*. Obecne były szczepy grzybów *Alternaria alternata* i *Cladosporium cladosporioides*, określanych jako grzyby o umiarkowanych właściwościach celulolitycznych¹⁹. Dominowały one w przestrzeni archiwum w sezonie letnim, ale należy pamiętać, że są powszechnie występującymi w powietrzu saprofitycznymi pleśniami i dopuszczalne są ich wyższe stężenia w powstającym bioaerozolu. Pod kątem zagrożeń mikrobiologicznych występujących w powietrzu pomieszczeń i atmosferycznym grzyby te są rozpatrywane jako potencjalne alergeny.

17 Zob. S. Borrego, P. Guimet, S. Gomez de Saravia, P. Batistimi, M. Garcia, P. Lavin, *op. cit.*

18 Zob. B. Flannigan, J.D. Miller, *Microbial Growth in Indoor Environments*, [w:] *Microorganisms in Home and Indoor Work Environments, Diversity, Health Impacts, Investigation and Control*, ed. B. Flannigan, R.A. Samson, J.D. Miller, London–New York 2001, s. 35-67.

19 Zob.: *ibidem*; M. Cybulska, A. Jedraszek-Bomba, S. Kuberski, K. Wrzosek, *Methods of Chemical and Physicochemical Analysis in the Identification of Archeological and Historical Textiles*, „Fibres and Textiles in Eastern Europe” 2008, nr 16(5), s. 67-73.

Zarówno w środowisku, jak i bezpośrednio na tkaninach, w prezentowanych badaniach nie wykryto obecności mikroorganizmów zdolnych do degradacji jedwabiu, takich jak bakterie *Bacillus megaterium*, *Pseudomonas cepacia*, *Variovorax paradoxus*, *Streptomyces sp.* i grzyby *Aspergillus niger*, które mogłyby powodować niszczenie mikrobiologiczne eksponowanych w pomieszczeniu głównym tkanin²⁰.

Poważnym problemem jest natomiast liczny udział w badanym mikrobiomie grzybów zdolnych do biodeterioracji drewna. Ze względu na występowanie grzybów należących do gatunków powodujących porażenie powierzchni budowlanych, białą i brunatną zgniliznę drewna, należy przeprowadzić wnikliwą obserwację drewnianych elementów wyposażenia pomieszczeń. Biała zgnilizna, która przejawia się jaśnieniem, mięknięciem, uginaniem się drewna pod naciskiem, może być powodowana przez obecne w pomieszczeniu grzyby *Trametes hirsuta* (wrośniak szorstki), *Trametes versicolor* (wrośniak różnobarwny) i *Steccherinum ochraceum* (ząbkowiec ochrowy). Udział w degradacji tego materiału mogą mieć także wykryte w powietrzu archiwum *Pheniphora cinerea*, która rośnie na pniach martwych drzew i rozkłada ich drewno oraz *Mollisia melaleuca*.

Grzyby z rodzaju *Fomitopsis*, wykryte w powietrzu pomieszczenia głównego kapitulacza (tab. 4), wymieniane są wśród gatunków powodujących brunatną zgniliznę drewna przejawiającą się ciemnieniem drewna w wyniku silnego rozkładu celulozy, kurczeniem tego materiału i spękaniem w postaci segmentów. Dlatego zaleca się przeprowadzenie obserwacji zainstalowanych w pomieszczeniu drewnianych elementów przypodłogowych i powierzchni umiejscowionych w kontakcie ze ścianą, w kierunku rozpoznania opisywanych oznak porażenia. Grzyby należące do tzw. grzybów domowych mogą zwiększać wilgotność zasiedlanego materiału, produkując wodę pochodzącą z rozkładu celulozy, stąd ich rozwój jest możliwy przy wilgotności drewna rzędu jedynie 25% i temperaturach powyżej 0°C²¹. Ich grzybnia powierzchniowa występuje okresowo w korzystnych warunkach, a następnie wrasta w podłoże, gdzie staje się niewidoczna i może przetrwać w niekorzystnym środowisku. Być może w badanym przypadku grzyby odpowiedzialne za zgniliznę drewna uwolniły się do powietrza (gdzie zostały wykryte) w trakcie prac remontowych ze starych elementów drewnianych boazerii. O ich uaktywnieniu mógłby świadczyć zapach stęchlizny, ale przeprowadzone w pomieszczeniu badania lotnych związków organicznych emitowanych przez grzyby takiej aktywności nie potwierdzają.

Niektóre grzyby należące do gromady *Zygomycota*, *Ascomycota* i grzybów anamorficznych mogą powodować tzw. rozkład szary drewna, który dotyczy głównie warstwy powierzchniowej (2-4 mm) i zachodzi dość wolno, nawet latami. Drewno przybiera wówczas szary kolor i pęka na drobne kosteczki. Rozwojowi pleśni na drewnie sprzyjają wahania wilgotności, choć porównując do „grzybów domowych” wymagana jest wysoka wilgotność (poziom wilgotności drewna 80-100%), stąd najbardziej narażone na zasiedlenie przez grzyby są elementy, które mają kontakt z gruntem i wodą²¹. W badanych warunkach szczególnym obserwacjom pod kątem szarego rozkładu powinny podlegać drewniane okiennice, belki drewniane i regały, które mają kontakt ze ścianami i są umiejscowione w pobliżu instalacji wodnej lub grzewczej. W trakcie biodeterioracji rozkładana jest głównie celuloza, grzyby te mogą więc w powolny sposób degradować obiekty na podłożu celulozowym (papier, drewniane i tekturowe oprawy), opakowania do przechowywania (pudełka kartonowe lub koperty), choć wymagane jest do tego znaczne zawilgocenie materiału.

20 Zob.: M. Cybulska, A. Jedraszka-Bomba, S. Kuberski, K. Wrzosek, *op. cit.*; A. Seves, M. Romano, T. Maifreni, S. Sora, O. Ciferri, *op. cit.*; A. Laudy, *op. cit.*

21 Ł. Witomski, *Zagrożenia drewna w zabytkach powodowane przez grzyby*, [w:] *Konferencja Krajowa „Potrzeby Konserwatorskie obiektów sakralnych na przykładzie makroregionu łódzkiego”*, red. J. Perkowski, B. Więcek, Łódź 2005, s. 13-20.

Podsumowanie

Prowadzone w kapitularku Archiwum Krakowskiej Kapituły Katedralnej badania pozwoliły na śledzenie zmian liczby i składu gatunkowego mikroorganizmów występujących w dwóch porach roku w powietrzu pomieszczenia głównego i magazynów jako środowiska przechowywania archiwaliów i obiektów zabytkowych. Badania te stanowiły element strategii zarządzania klimatem i miały na celu ocenę zagrożeń mikrobiologicznych dla eksponowanych w kapitularku zabytkowych tkanin jedwabnych, które po procesie konserwacji powróciły do wnętrza jako historyczny element jego dekoracji. Przeprowadzone badania wykazały, że liczba mikroorganizmów w powietrzu zmieniała się pomiędzy pomiarami, ale utrzymywała na akceptowalnym poziomie, nieprzekraczającym 200 jtk/m³ powietrza, zalecanym przez środowisko konserwatorskie jako warunki niezagrażające obiektom zabytkowym. Zastrzeżenia wzbudziła wysoka liczba bakterii (2495 jtk/m³) stwierdzona w powietrzu pomieszczenia głównego kapitularku podczas pomiaru letniego. Zasadniczym czynnikiem odpowiedzialnym za silne zanieczyszczenie bakteriami wydaje się w tym przypadku nadmierna eksploatacja pomieszczenia, tj. obecność wielu pracowników i wykonywanie przez nich różnorodnych zadań. W związku z powyższym zaleca się zmianę organizacji pracy, mającą na celu znaczącą redukcję liczby osób przebywających w badanym pomieszczeniu, aby ochronić pomieszczenie i przechowywane w nim obiekty przed niepokojącym wzrostem zanieczyszczenia mikrobiologicznego. Częste przemieszczanie się pracowników i materiałów pomiędzy magazynami a pomieszczeniem głównym archiwum stwarza ryzyko przenoszenia pomiędzy obiektami zanieczyszczenia bakteryjnego i grzybowego, na przykład w postaci zarodników i fragmentów strzępek, i jego rozprzestrzeniania w niekontrolowany sposób. Wszelkie aktywności związane z gromadzeniem, transferem i opracowywaniem archiwaliów należałoby ograniczyć, gdyż zwiększają zagrożenie biodeterioracji tkanin, których ochrona po przeprowadzonej konserwacji powinna być szczególna. Ważne jest, aby nie udostępniać pomieszczenia kapitularku szerszym grupom osób z uwagi na ryzyko wnoszenia zanieczyszczeń mikrobiologicznych ze środowiska zewnętrznego, w tym mikroorganizmów o potencjale niszczącym względem badanych, zabytkowych tkanin i innych przechowywanych w archiwum unikatowych obiektów.

Analizując skład gatunkowy mikroorganizmów w poszczególnych porach roku, zaobserwowano zależność, w której bioróżnorodność zmienia się wraz z wilgotnością. W porze zimowej występowały prawie wyłącznie grzyby z rodzaju *Penicillium* i *Aspergillus*, latem zaś bioróżnorodność była większa, dominowały grzyby z rodzaju *Cladosporium* i *Alternaria* oraz inne gatunki o wyższych wymaganiach wilgotnościowych potrzebnych do wzrostu. Zarówno w powietrzu, jak i na eksponowanych tkaninach nie wykryto mikroorganizmów stanowiących szczególne zagrożenie dla badanych obiektów. Nie stwierdzono obecności bakterii uznawanych w literaturze za zdolne do degradacji jedwabiu ani toksynotwórczych grzybów o aktywności proteolitycznej jak *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus flavus* czy *Stachybotrys chartarum*. Uznano, że tkaniny po konserwacji charakteryzują się bardzo dobrym stanem zachowania pod względem mikrobiologicznym. Na trzech badanych brytach wykryto łącznie jedynie nieliczne bakterie i jeden szczep grzyba *Penicillium chrysogenum*. Przestrzeganie zaleceń opracowywanej strategii ochrony powinno przyczynić się do ograniczenia transferu zanieczyszczeń mikrobiologicznych człowiek–obiekt, powietrze–obiekt w badanej przestrzeni i osadzenia się nowych mikroorganizmów na powierzchni wypranych tkanin, co zapewni długoterminowe utrzymanie tych szczególnych zabytków w dobrej kondycji.

Niepokojący jest fakt stwierdzenia obecności w pomieszczeniu głównym kapitularku i magazynie 1 gatunków powodujących niszczenie drewna i degradację jego składników:

celulozy, hemiceluloz lub ligniny. Rozwój grzybów atakujących drewno może zachodzić w drewnianych elementach boazerii i ramach mających bezpośredni kontakt z tkaninami. Rozwijające się na drewnie grzyby mogą skolonizować stykające się z zainfekowaną powierzchnią obiekty i spowodować ich niszczenie mechaniczne, zaplamienia lub inne zmiany poprzez wytwarzane wtórne metabolity. Obserwacja drewnianych elementów wyposażenia, ściennych instalacji drewnianych, zwłaszcza w miejscach bliskiego kontaktu z tkaninami, powinna stanowić punkt kontrolny planowanej strategii. Należy także zredukować możliwość wystąpienia zawilgocenia ścian i boazerii, które mogą uaktywnić grzyby wywołujące zgniliznę drewna i rozprzestrzenienia się skażenia na zabytkowe obiekty.

Wdrożenie i przestrzeganie zaleceń strategii ochrony w aspekcie zarządzania mikroklimatem, ograniczenia liczby osób przebywających w pomieszczeniu i ich aktywności oraz monitoring występowania zmian o charakterze mikrobiologicznym we wskazanych punktach kontrolnych zredukują ryzyko biodeterioracji tkanin zabytkowych w przeszłości.

BIBLIOGRAFIA

- Augustyńska D., Pośniak M., *Czynniki szkodliwe w środowisku pracy. Wartości dopuszczalne*, Warszawa 2016.
- Borrego S., Guiamet P., Gomez de Saravia S., Batistimi P., Garcia M., Lavin P., *The Quality of Air at Archives and Biodeterioration of Photographs*, „International Biodeterioration and Biodegradation” 2010, nr 64, s. 139-145.
- Cybulska M., Jedraszek-Bomba A., Kuberski S., Wrzosek K., *Methods of Chemical and Physicochemical Analysis in the Identification of Archeological and Historical Textiles*, „Fibres and Textiles in Eastern Europe” 2008, nr 16 (5), s. 67-73.
- Flannigan B., Miller J.D., *Microbial Growth in Indoor Environments*, [w:] *Microorganisms in Home and Indoor Work Environments, Diversity, Health Impacts, Investigation and Control*, ed. B. Flannigan, R.A. Samson, J.D. Miller, London–New York 2001, s. 35-67.
- Górny R.L., *Biologiczne czynniki szkodliwe: normy, zalecenia i propozycje wartości dopuszczalnych*, „Podstawy i Metody Oceny Środowiska Pracy” 2004, nr 3(41), s. 17-39.
- Karbowska-Berent J., Górny R.L., Strzelczyk A.B., Wlazło A., *Airborne and Dust Borne Microorganisms in Selected Polish Libraries and Archives*, „Building Environment” 2011, nr 46, s. 1872-1879.
- Laudy A., *Microbiological Quality of Indoor Air in Wilanów Palace Museum and its Potential Impact on the Biodeterioration of the Genoa Velvets*, Warszawa 2013.
- Seves A., Romano M., Maifreni T., Sora S., Ciferri O., *The Microbial Degradation of Silk: A Laboratory Investigation*, „International Biodeterioration and Biodegradation” 1998, nr 42, s. 203-211.

- Seves A.M., Romano M., Maifreni T., Seves A., Scicolone G., Sora S., Ciferri O., *A Laboratory Investigation of the Microbial Degradation of Cultural Heritage*, [w:] *Of Microbes and Art. The Role of Microbial Communities in the Degradation and Protection of Cultural Heritage*, ed. O. Cifferi, P. Tiano, G. Nastroi, New York 2000, s. 121-133.
- Skowroń J., Górny R., *Szkodliwe czynniki biologiczne*, [w:] *Czynniki szkodliwe w środowisku pracy: wartości dopuszczalne*, red. D. Augustyńska, M. Pośniak, Warszawa 2012.
- Skóra J., Gutarowska B., Pielech-Przybylska K., Stępień Ł., Pietrzak K., Piotrowska M., Pietrowski P., *Assesment of Microbiological Contamination in the Work Environments of Museums, Archives and Libraries*, „Aerobiologia” 2015, nr 31, s. 389-401.
- Syguła-Cholewińska J., *Czynniki mikrobiologiczne w zarządzaniu ochrona zbiorów muzealnych*, Kraków 2019.
- Syguła-Cholewińska J., Sawoszczuk T., *Analiza mikrobiologiczna XVII-wiecznych tkanin ściennych z Kapitularza Archiwum Krakowskiej Kapituły Katedralnej*, raport niepublikowany, 2020.
- Szostak-Kot J., Syguła-Cholewińska J., Błyskal B., *Analiza mikroflory występującej w powietrzu sal wystawienniczych Zamku Królewskiego na Wawelu*, „Polish Journal of Commodity Science” 2007, nr 3(12), s. 85-98.
- Witowski Ł., *Zagrożenia drewna w zabytkach powodowane przez grzyby*, [w:] *Konferencja Krajowa „Potrzeby Konserwatorskie obiektów sakralnych na przykładzie makroregionu łódzkiego”*, red. J. Perkowski, B. Więcek, Łódź 2005, s. 13-20.