

Г. В. Надеева, Г. Ю. Яковлева, Р. Э. Хабибуллин,
Д. М. Усманова

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЙ КОНТРОЛЬ ВОЗДУХА ОТДЕЛА РЕДКИХ РУКОПИСЕЙ БИБЛИОТЕКИ КАЗАНСКОГО ФЕДЕРАЛЬНОГО УНИВЕРСИТЕТА

Ключевые слова: арабографическая рукопись, биоповреждение, микроорганизмы, микроскопические грибы.

*При исследовании воздуха помещений отдела редких рукописей и книг Научной библиотеки им. Н.И. Лобачевского КФУ было показано превышение допустимых значений в осенне-летний период. 89 % выделенных микромицетов принадлежали к роду *Penicillium* и лишь 11 % – к роду *Aspergillus*. Все выделенные из воздуха микромицеты обладали целлюлазной активностью. Пять из них можно отнести к потенциальным деструкторам арабографических рукописных книг.*

Keywords: arabographic manuscript, biodegradation, microorganisms, microscopic fungi.

*It has been shown that the indoor air of rare manuscripts and books department of KFU library exceed the permissible values in the summer / autumn period. 89 % of selected microscopic fungi belonged to the genus *Penicillium* and only 11 % - to the genus *Aspergillus*. All micromycetes isolated from air had cellulase activity. Five of them can be classified as the potential destructors of arabographic manuscripts.*

Введение

Рукописные документы являются ценнейшим памятником культуры, науки и искусства и требуют особых условий для хранения. Изменение окружающей экологической обстановки, загрязнение атмосферы – все это ускоряет естественное старение рукописных книг. Не меньшую опасность представляют повреждения, которые вызываются микроорганизмами. Это в первую очередь связано с тем, что материалы, из которых изготовлены рукописи (бумага, клеи, нитки, кожа для переплетов), в силу своего органического происхождения, подвержены опасности биологического повреждения. Выделяемые в процессе жизнедеятельности микроорганизмов метаболиты (ферменты, органические кислоты и пигменты) разрушают органическую основу хранимых материалов. К настоящему времени огромное количество письменных памятников было уничтожено или серьезно повреждено в результате неправильного хранения (на чердаках, сырых подвалах и др.). Влажность, запыленность, отсутствие проветривания – все это способствовало активному развитию микроорганизмов. Микробиологические исследования древних книг и в том числе и рукописных памятников проводятся в самых разнообразных архивах и книгохранилищах всего мира [1-4]. Проведенный ранее микробиологический анализ арабографических рукописных книг хранящихся в отделе редких рукописей и книг Научной библиотеки им. Н.И. Лобачевского КФУ (ОРРК НБЛ КФУ) позволил выделить микробное сообщество, состоящее главным образом из спорообразующих бактерий и микромицетов. Выделенные виды микромицетов были отнесены к р. *Penicillium*, *Aspergillus*, *Alternaria* и др. [5].

Однако следует отметить, что вторичное загрязнение документов в библиотеках может быть связано в первую очередь с несоблюдением

санитарно-гигиенического режима. Большое влияние на сохранность документов оказывает состав воздуха. Концентрация вредных примесей в воздухе помещений для хранения документов должна соответствовать санитарным нормам, приведенным в ГОСТ 7.50-2002 «Консервация документов. Общие требования». Наряду с обследованием книгохранилищ и самих фондов микробиологический контроль воздуха крайне важен, так как именно через воздух может происходить контаминация книг и документов. Не следует забывать, что многие микромицеты обладают токсическими и вирулентными свойствами и могут стать причиной не только деструкции рукописей, но и вызывать различные заболевания и аллергию у персонала.

В связи с вышесказанным целью данной работы является микробиологический анализ воздуха в помещениях ОРРК НБЛ КФУ.

Экспериментальная часть

Отбор и анализ проб воздуха. Микробиологический контроль воздуха в ОРРК НБЛ КФУ производили в трех комнатах: в читальном зале (№ 1), в рабочей комнате сотрудников библиотеки (№ 3), в хранилище рукописей (№ 6), находящихся в восточном секторе ОРРК и коридоре.

Отбор проб воздуха осуществляли седиментационным методом. Для определения общей микробной обсемененности открытые чашки Петри со стерильной плотной питательной средой расставляли одновременно в разных местах хранилищ: у входа, в углах, у внутренних стен, на рабочих столах, вдоль окон, между стеллажами. В помещениях точки отбора проб устанавливали на горизонтальной поверхности, пробы отбирали днем (в период активной деятельности человека), после влажной уборки и проветривания помещений. Для определения общей микробной обсемененности чашки с мясо-пептонным агаром (МПА) фирмы

ЗАО «НИЦФ» (г. Санкт-Петербург) оставляли открытыми на 1 час.

После окончания экспозиции все чашки закрывали, помещали в термостат на сутки для подрачивания, затем на 48 часов оставляли при комнатной температуре для образования пигмента пигментобразующими микроорганизмами. Для выявления микромицетов чашки выдерживали в течение 7 – 10 суток.

Для определения микробного числа подсчитывали колонии, выросшие на среде МПА в чашках Петри, и рассчитывали количество микроорганизмов в 1 м³ по формуле В.Л. Омелянского:

$$x = \frac{a \cdot 100 \cdot 5 \cdot 1000}{B \cdot 10 \cdot T}$$

где x – количество микроорганизмов в 1 м³; а – количество микроорганизмов, выросших на чашке Петри; В – площадь чашки Петри; Т – время экспозиции, 100 – площадь в см², на которую происходило оседание микроорганизмов; 1000 – исходный объем воздуха в л; 5 – время по расчету Омелянского; 10 – объем воздуха (л), с которого происходило оседание микроорганизмов.

Выделенные микромицеты для дальнейшего исследования пересекали на среду Чапека производства ООО «БиоКомпас-С» (г. Углич, Ярославская обл.).

Идентификация выделенных микроорганизмов. Идентификацию микроскопических грибов проводили на основании их морфолого-культуральных свойств, используя определители «Определитель токсинообразующих микромицетов» [6], «Определитель патогенных и условно патогенных грибов: справочное издание» [7]. Световую микроскопию проводили на микроскопах PrimoStar, CarlZeiss.

Определение целлюлазной активности. Наличие целлюлазной активности у выделенных изолятов определяли качественным методом. Накопительные культуры выращивали в пробирках с селективной средой Гетчинсона. После посева на дно пробирки опускали полоску стерильной фильтровальной бумаги, не содержащей крахмал. Полоска бумаги на 3-5 см выступала над средой. О целлюлазной активности судили по степени гидролиза фильтровальной бумаги.

Визуально оценивали изменение субстрата при росте на целлюлозе по 5-балльной системе: 1 балл (+) – обнаружено прорастание отдельных спор; 2 балла (++) – слабый рост мицелия, отсутствие разрушенных участков целлюлозы; 3 балла (+++) – обильный рост мицелия в виде ветвящихся гиф; 4 балла (+++++) – рост грибов виден отчетливо, хорошо развитый мицелий обволакивает целлюлозный субстрат; 5 баллов (+++++) – визуально отмечается деградация субстрата.

Статистическая обработка результатов. Математическую обработку данных проводили в стандартной компьютерной программе «Excel 7.0». В работе все эксперименты были проведены не менее чем в трех повторностях. Группу данных

считали однородной, если среднее квадратическое отклонение σ в ней не превышало 13 %. Различия между группами считали достоверными при критерии вероятности P<0.05.

Результаты и их обсуждения

Согласно ГОСТ 7.50-2002 микробиологический контроль состояния воздуха в библиотечных помещениях должен осуществляться два раза в год, а при необходимости и чаще. Показателями состояния воздуха при этом являются количественный и видовой состав микроорганизмов. Учитывая значительную обсемененность арабографических рукописей микроорганизмами [5], анализ воздуха проводился в выбранных помещениях один раз в сезон.

Как видно из рисунка 1 осенью 2013г, летом и зимой 2014г отмечалось превышение допустимых значений общего количества микроорганизмов (КОЕ / м³). Наиболее неблагоприятным оказалось состояние всех помещений, за исключением книгохранилища, в летний период. Это может объясняться тем, что контроль проводился в очень дождливый период лета.

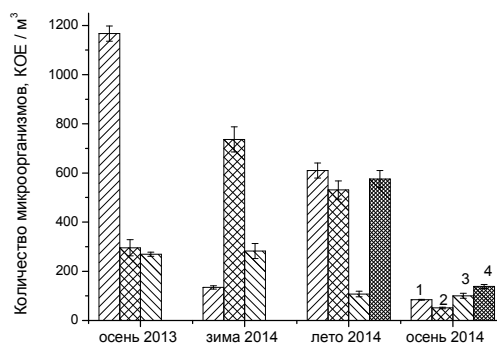


Рис. 1 – Сезонные изменения микрофлоры воздуха в помещениях ОРПК: 1 – читальный зал №1; 2 – рабочая комната сотрудников №3; 3 – книгохранилище №6; 4 – коридор

Известно, что микроорганизмы в воздухе находятся на частичках пыли, в капельках воды, переносимые потоками воздуха при проветривании, попадая извне на одежду, обуви и вещах посетителей. Зараженность воздуха зависит от различных факторов: погодных и климатических условий, времени года и многих других. Было показано, что наибольшее число микроорганизмов в воздушных потоках наблюдается в весенне-летний период, снижаясь зимой [8]. Теплая и влажная погода приводит к повышению относительной влажности воздуха, что способствует оседанию спор и повышению концентрации жизнеспособных микроорганизмов. Масса споры или частицы мицелия вследствие набухания увеличивается, и осаждение происходит быстрее. В осенний и зимний периоды прошлого года, в помещениях читального зала №1 и рабочей комнаты сотрудников №3 наблюдалось повышенное значение ОМЧ. Неожиданным оказалось то, что помещение

книгохранилища находилось в удовлетворительном состоянии во все сезоны, несмотря на то, что там хранится большое количество достаточно поврежденных рукописей. Видимо, это объясняется тем, что вход в помещение строго ограничен, проветривание затруднено, вследствие чего исключается внешняя контаминация.

Грибковые и бактериальные сообщества могут развиваться на книгах аналогично сообществу деструкторов в природных условиях. Колонизация и биodeградация книг предполагает обязательное участие целлюлозолитических организмов, поскольку только эти виды могут использовать целлюлозу как питательный субстрат и переводить его в низкомолекулярные и неорганические формы, доступные для других микроорганизмов. Предполагается, что ключевую роль в биodeградации целлюлозы играют различные микроскопические грибы [4, 8-10]. Поэтому особое внимание при анализе воздуха книгохранилищ следует уделять именно этой группе микроорганизмов. По данным Мантуровской [11], если после 1 ч экспозиции седиментационным методом число выросших колоний грибов на чашке Петри не превышает 10, микробиологическое состояние хранилища считается удовлетворительным. Кроме того, принято считать удовлетворительным состояние помещения, в котором количество микроорганизмов в воздухе не более 300-500 КОЕ/м³, превышение свидетельствует о необходимости обработки и принятия профилактических мер.

Количество микромицетов во все сезоны было незначительным, лишь в летний период резко увеличилось, что так же указывало на необходимость профилактических мероприятий (рис. 2). При этом интересно было заметить, что в книгохранилище количество микромицетов осталось на прежнем уровне. Из девяти выделенных изолятов восемь принадлежали к роду *Penicillium* (89 %) и один – *Aspergillus* (11 %). Следует отметить, что представители этих двух родов являются часто встречаемыми видами на поверхности бумаги и переплета арабографических рукописей [5].

Следовательно, концентрация микромицетов в воздухе несколько превышает допустимые по ГОСТу значения, что свидетельствует о необходимости проведения профилактических мероприятий.

Пока в помещениях поддерживается необходимый температурно-влажностный режим, микроорганизмы представляют собой лишь потенциальный источник биоповреждения. При ненадлежащем хранении и использовании, старинные рукописи подвергаются естественному биологическому воздействию. Серьезное повреждение бумаги и кожи происходят не только за счет механического разрастания мицелия микроскопических грибов и роста бактерий. В первую очередь такие повреждения связаны с воздействием ферментов. Колонизация и биodeградация книг предполагает обязательное

участие целлюлозолитических организмов, поскольку только эти виды могут использовать целлюлозу как питательный субстрат и переводить его в низкомолекулярные и неорганические формы, доступные для других микроорганизмов. Поэтому на следующем этапе работы была определена целлюлазную активность выделенных микромицетов.

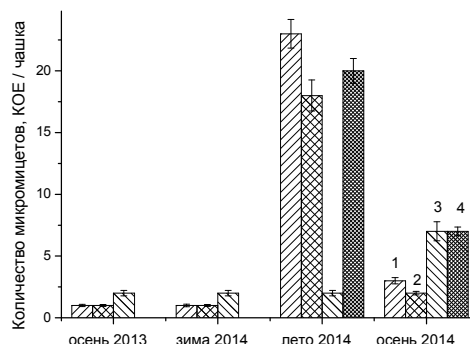


Рис. 2 – Сезонные изменения количества микромицетов в воздухе помещений ОРПК: 1 – читальный зал №1; 2 – рабочая комната сотрудников №3; 3 – книгохранилище №6; 4 – коридор

Оценку целлюлазной активности выделенных микромицетов проводили по интенсивности их роста на фильтровальной бумаге (таблица). Для большинства микроскопических грибов первоначально отмечался рост в жидкой, а в дальнейшем – в воздушной фазе. На 7 сутки культивирования на фильтровальной бумаге наблюдался активный рост микромицетов рода *Penicillium*. Так же при росте микромицетов 2, 4, 6 отмечалось пигментобразование. Через 12 суток увеличивался рост микромицетов и интенсивность окраски пигментов (рис. 3). Наиболее активными оказались микроскопические грибы под № 1, 2, 4, 5, 7. Следует отметить, что грибы рода *Penicillium*, являются наиболее распространенными видами, они способны к биохимической деструкции целлюлозы, пигментобразованию и поэтому наиболее опасны.

Таблица 1 – Оценка целлюлазной активности выделенных изолятов по интенсивности роста на фильтровальной бумаге

№	Вид микромицетов	Время культивирования, сутки	
		7	12
1	<i>Penicillium sp. I</i>	+++	++++
2	<i>Penicillium sp. II</i>	+	++++
3	<i>Penicillium sp. III</i>	++	+++
4	<i>Aspergillus sp.</i>	+	++++
5	<i>Penicillium sp. IV</i>	+++	++++
6	<i>Penicillium sp. V</i>	+++	+++
7	<i>Penicillium sp. VI</i>	++	++++
8	<i>Penicillium sp. VII</i>	+	++
9	<i>Penicillium sp. VIII</i>	++	+++

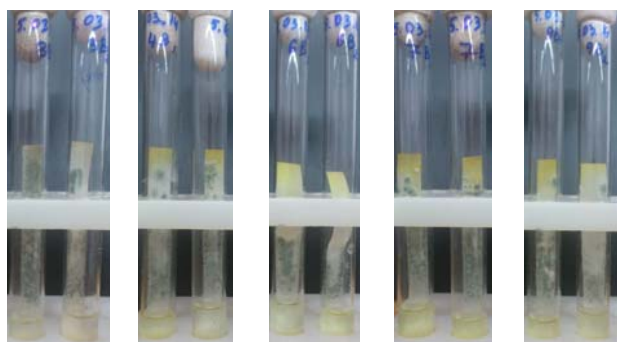


Рис. 3 – Целлюлазная активность выделенных из воздуха микромицетов (12 сутки культивирования): 1 – *Penicillium sp.I*; 2 – *Penicillium sp.II*; 3 – *Aspergillus sp.*; 4 – *Penicillium sp. IV*; 5 – *Penicillium sp. VI*

Таким образом, выделенные из воздуха микромицеты являются потенциальными деструкторами старинных рукописей и книг, и при несоблюдении трех основных режимов хранения: температурно-влажностного, светового, санитарно-гигиенического могут стать источником вторичного загрязнения арабиграфических рукописных книг.

Работа выполнена в рамках проекта РФФИ № 13-06-97069-р

© **Г. В. Надеева** – ассистент кафедры биохимии и биотехнологии Института фундаментальной медицины и биологии К(П)ФУ, galinadeeva@yandex.ru; **Г. Ю. Яковлева** – к.б.н., доцент кафедры микробиологии Института фундаментальной медицины и биологии К(П)ФУ, yakovleva_galina@mail.ru; **Р. Э. Хабибуллин** – к.т.н., доцент кафедры технологии мясных и молочных продуктов КНИТУ, hrustik@yandex.ru; **Д. М. Усманова** – д.и.н., профессор кафедры истории России и стран ближнего зарубежья Института международных отношений, истории и востоковедения К(П)ФУ, dusmanova2000@mail.ru.

© **G. V. Nadeeva** - assistant professor of biochemistry and biotechnology department of the Institute of fundamental medicine and biology, K(P)FU, galinadeeva@yandex.ru; **G. Yu. Yakovleva** - candidate of biological sciences, associate professor of microbiology department of the Institute of fundamental medicine and biology, K(P)FU, yakovleva_galina@mail.ru; **R. E. Khabibullin** - candidate of technical sciences, associate professor of the department of meat and milk products technology, KNRTU, hrustik@yandex.ru; **D. M. Usmanova** – doctor of historical sciences., professor of the department of history of Russia and CIS countries of the Institute of international relations, history and oriental studies, K(P)FU, dusmanova2000@mail.ru.

Литература

1. A. Michaelsen, G. Pinar, F. Pinzari, *Microb. ecol.*, **60**, 69-80 (2010).
2. S. Roussel, G. Reboux, L. Millon, M.D. Parchas, S. Boudih, F. Skana, M. Delaforge, M.S. Rakotonirainy, *Indoor Air.*, **22**, 6, 514-522 (2012).
3. K. Zielinska-Jankiewicz, A. Kozajda, M. Piotrowska, I. Szadkowska-Stanczyk, *Ann Agric Environ Med.*, **15**, 1, 71-78 (2008).
4. M. Zotti, A. Ferroni, *Int Biodeterior Biodegrad.*, **62**, 2, 186-194 (2008).
5. Г.В. Надеева, Г.Ю. Яковлева, Р.Э. Хабибуллин, Д.М. Усманова, *Вестник Казанского технологического университета*, **16**, 21, 199–202 (2013).
6. Билай, З.А. Курбацкая *Определитель токсинообразующих микромицетов*. Наукова Думка, Киев, 1990, 236 с.
7. Д. Саттон *Определитель патогенных и условно патогенных грибов: справочное издание* Пер. с англ. Мир, Москва, 2001, 486 с.
8. B. Zyska, *Int Biodeterior Biodegrad.*, **40**, 43-51 (1997).
9. Е.Л. Пехташева, А.Н. Неверов, Г.Е. Заиков О.В. Стоянов, *Вестник Казанского технологического университета*, **15**, 8, 222-233 (2012).
10. Е.Л. Пехташева, А.Н. Неверов, Г.Е. Заиков, С.А. Шевцова, Н.Е. Темникова, *Вестник Казанского технологического университета*, **15**, 8, 192-199 (2012).
11. Н.В. Мантуровская, *Микология*, **17**, 23-27 (1995).