

VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA CHEMICKÁ

ÚSTAV CHEMIE POTRAVIN A BIOTECHNOLOGIÍ

FACULTY OF CHEMISTRY

INSTITUTE OF FOOD SCIENCE AND BIOTECHNOLOGY

MIKROBIÁLNÍ KONTAMINACE FOTOGRAFICKÝCH MATERIÁLŮ

DIPLOMOVÁ PRÁCE

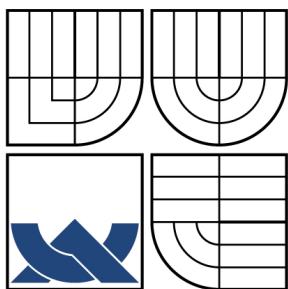
MASTER'S THESIS

AUTOR PRÁCE

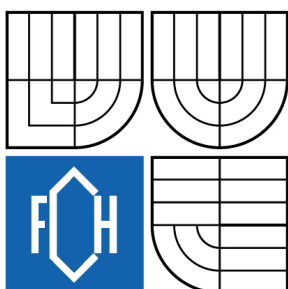
AUTHOR

Bc. VERONIKA OUŘEDNÍČKOVÁ

BRNO 2009



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ
BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY



FAKULTA CHEMICKÁ
ÚSTAV CHEMIE POTRAVIN A BIOTECHNOLOGIÍ
FACULTY OF CHEMISTRY
INSTITUTE OF FOOD SCIENCE AND BIOTECHNOLOGY

MIKROBIÁLNÍ KONTAMINACE FOTOGRAFICKÝCH MATERIÁLŮ

MICROBIAL CONTAMINATION OF PHOTOGRAPHIC MATERIALS

DIPLOMOVÁ PRÁCE
MASTER'S THESIS

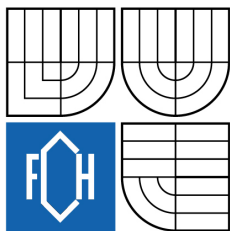
AUTOR PRÁCE
AUTHOR

Bc. VERONIKA OUŘEDNÍČKOVÁ

VEDOUcí PRÁCE
SUPERVISOR

RNDr. MÁRIA VESELÁ, Ph.D.

BRNO 2009



Vysoké učení technické v Brně
Fakulta chemická
Purkyňova 464/118, 61200 Brno 12

Zadání diplomové práce

Číslo diplomové práce:	FCH-DIP0246/2008	Akademický rok: 2008/2009
Ústav:	Ústav chemie potravin a biotechnologií	
Student(ka):	Bc. Veronika Ouředníčková	
Studijní program:	Chemie a technologie potravin (N2901)	
Studijní obor:	Potravinářská chemie a biotechnologie (2901T010)	
Vedoucí diplomové práce:	RNDr. Mária Veselá, Ph.D.	
Konzultanti diplomové práce:		

Název diplomové práce:

Mikrobiální kontaminace fotografických materiálů

Zadání diplomové práce:

1. Prostudujte problematiku výskytu mikroorganismů v musejních sbírkách.
2. Prostudujte metody desinfekce fotografických materiálů z musejních sbírek.
3. Prostudujte a vyhodnoťte změny kvality fotografických materiálů po kontaminaci vybranými mikroorganismy.
4. K vyhodnocení experimentů použijte optické a spektroskopické metody.

Termín odevzdání diplomové práce: 22.5.2009

Diplomová práce se odevzdává ve třech exemplářích na sekretariát ústavu a v elektronické formě vedoucímu diplomové práce. Toto zadání je přílohou diplomové práce.

Bc. Veronika Ouředníčková
Student(ka)

RNDr. Mária Veselá, Ph.D.
Vedoucí práce

doc. Ing. Jiřina Omelková, CSc.
Ředitel ústavu

V Brně, dne 1.10.2008

doc. Ing. Jaromír Havlica, DrSc.
Děkan fakulty

Abstrakt

Diplomová práce je zaměřena na studium mikrobiální kontaminace fotografických materiálů. V první části práce jsou shrnuty poznatky o mikrobiální kontaminaci uložených fotografií v archivech a muzeích. Byly vybrány nejčastější kontaminanty fotografických sbírek, *Penicillium chrysogenum* a *Aspergillus niger* a byl studován jejich účinek na fotografické papíry Fomaspeed a Fomabrom. Bylo zjištěno, že obrazové vrstvy papírů Fomaspeed odolají růstu mycelií plísní za daných experimentálních podmínek, zatímco obrazové vrstvy papírů Fomabrom byly nenávratně poškozeny destrukcí jejich obrazové želatinové vrstvy. Míra poškození vybranými plísněmi byla fotograficky dokumentována a vyhodnocena pomocí senzimetrických křivek.

Abstract

This diploma work is focused on a study of microbial contamination of photographic materials. In the first part of this work the information about the archive and museum microbial contaminations were collected. The most frequent contaminants of photographic collections – *Penicillium chrysogenum* and *Aspergillus niger* were studied. Their activity on photographic papers Fomaspeed and Fomabrom was evaluated. It was found that at the given experimental conditions the image layers of Fomaspeed paper are resistant to fungi mycelium growth. On the other hand, the Fomabrom paper image layer was irrecoverably damaged by action of fungi mentioned above. The degree image layer deterioration was evaluated with the aid of sensitometric curves.

Klíčová slova

Fotografický papír, plíseň, desinfekce

Keywords

Photographic paper, mould, disinfection

OUŘEDNÍČKOVÁ, V. Mikrobiální degradace fotografických materiálů. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2009. 45 s. Vedoucí diplomové práce RNDr. Mária Veselá, Ph.D.

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci vypracovala samostatně a že všechny použité literární zdroje jsem správně a úplně citovala. Diplomová práce je z hlediska obsahu majetkem Fakulty chemické VUT v Brně a může být využita ke komerčním účelům jen se souhlasem vedoucího diplomové práce a děkana FCH VUT.

.....

Poděkování:

Děkuji paní RNDr. Márii Veselé, Ph.D., vedoucí mé diplomové práce za odborné vedení, vstřícný přístup a dobrou spolupráci.

OBSAH

1 ÚVOD	7
2 TEORETICKÁ ČÁST	8
2.1 Vynález fotografie.....	8
2.2 Fotografické materiály	9
2.2.1 Filmová podložka	9
2.2.2 Plastická podložka	9
2.3 Fotografická želatina.....	10
2.3.1 Želatina	10
2.3.2 Postupy výroby želatiny	10
2.3.3 Výroba želatiny	10
2.3.4 Fyzikální a chemické vlastnosti želatiny	11
2.3.4.1 Pevnost gelu	11
2.3.4.2 Teplota tání a tuhnutí	11
2.3.4.3 Zrnitost	12
2.3.4.4 Viskozita	12
2.3.5 Průmyslové využití želatiny	12
2.3.5.1 Potravinářský průmysl	12
2.3.5.2 Farmaceutický průmysl	12
2.3.5.3 Kosmetický průmysl.....	12
2.3.5.4 Fotografický průmysl	12
2.3.5.5 Ostatní	12
2.3.6 Fotografická světlocitlivá vrstva	12
2.3.6.1 Funkce želatiny.....	12
2.3.6.2 Úprava želatiny	13
2.3.7 Mikrobiologická degradace citlivé vrstvy	13
2.3.7.1 Typy poškození způsobené plísněmi	13
2.4 Plísně.....	14
2.4.1 Morfologie mikroskopických vláknitých hub	14
2.4.2 Cytologie mikroskopických vláknitých hub	14
2.4.3 Rozmnožování mikroskopických vláknitých hub	14
2.4.4 Výskyt plísní a jejich význam	15
2.4.5 Oddělení Chytridiomycota	16
2.4.6 Pododdělení Zygomycotina.....	16
2.4.6.1 Řád Mucorales	16
2.4.6.2 Řád Entomophthorales	16
2.4.7 Pododdělení Ascomycotina	17
2.4.7.1 Rod <i>Penicillium</i>	17
2.4.7.2 Rod <i>Aspergillus</i>	18
2.4.7.3 Rod <i>Fusarium</i>	19
2.4.7.4 Rod <i>Alternaria</i>	19
2.4.7.5 Rod <i>Botrytis</i>	19
2.4.7.6 Rod <i>Mucor</i>	20
2.4.8 Oddělení Basidiomycotina	20
2.5 Mikrobiální kontroly	20

2.5.1	Metody kontroly kontaminace povrchů.....	21
2.5.1.1	Metoda otisku	21
2.5.1.2	Stěr	21
2.5.2	Metody kontroly kontaminace ovzduší	21
2.5.2.1	Sedimentace.....	21
2.5.2.2	Přístrojové metody	21
2.6	Metody desinfekce	22
2.6.1	Čištění.....	22
2.6.2	Desinfekční přípravky	22
2.6.3	Prevence a současný stav.....	23
3	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	24
3.1	Použité chemikálie	24
3.2	Použité materiály	24
3.3	Použité mikroorganismy	24
3.3.1	<i>Aspergillus niger</i>	25
3.3.2	<i>Penicillium chrysogenum</i>	26
3.4	Fotografický materiál.....	26
3.4.1	FOMASPEED	26
3.4.2	FOMABROM.....	27
3.5	Příprava fotografií	27
3.5.1	Vyvolávání	27
3.5.2	Přerušování	28
3.5.3	Ustalování.....	28
3.5.4	Praní.....	28
3.5.5	Sušení	28
3.6	Měření optických hustot	28
3.7	Kultivace mikroskopických vláknitých hub	29
3.8	Příprava suspenzí spor	29
3.9	Inokulace a kultivace mikroskopických vláknitých hub na fotografiích	29
3.10	Desinfekce fotografií	29
3.11	Vytváření fotodokumentace experimentů.....	30
4	VÝSLEDKY A DISKUSE	31
4.1	Desinfekce vzorků.....	31
4.2	Poškození fotografického materiálu plísněmi.....	32
4.3	Vliv koncentrací spor plísní na poškození fotografií.....	38
4.4	Degradační účinek <i>Aspergillus niger</i> a <i>Penicillium chrysogenum</i> na fotografický materiál	40
5	ZÁVĚR	43
6	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	44

1 ÚVOD

Fotografické materiály tvoří důležitou část kulturního bohatství lidstva. Fotografie má důležitý podíl na lidském poznání. Výrazně obohacuje a rozšiřuje naše poznatky, zaznamenává, dokumentuje, poskytuje možnost zobrazení věcí a situací, které jsou kupříkladu někdy pro lidské oko nezaznamenané (vědecká fotografie), zároveň je však prostředkem pro vyjádření uměleckých či estetických inspirací a sama má také vlastní dokumentační, uměleckou a estetickou hodnotu.

Existence značného množství fotografických materiálů, jež nesou cenné historické, umělecké a estetické, vědecké obrazové záznamy s sebou přináší i povinnost ochrany našeho kulturního dědictví.

U fotografických materiálů v důsledku zvýšené vlhkosti, nevhodného uskladnění, špatného proudění vzduchu a nesprávné teploty může docházet k jejich degradaci. Většinou se však jedná o kombinaci všech těchto faktorů. Degradace je možná díky nejrozličnějším přírodním katastrofám, často také díky naprosto nevyhovujícím podmínkám skladování, případně neopatrným zacházením. Degradace fotografických materiálů je vyvolána buď mechanickými vlivy, chemickými vlivy nebo mikrobiálními vlivy.

Mechanické degradace jsou způsobeny zejména nevhodným uložením a neopatrným zacházením, které se následně projevuje zejména na podložce (roztržení, poškrábání obrazové části a podobně).

Chemické degradace jsou obvykle způsobeny nedostatečným chemickým zpracováním a nepříznivými environmentálními a skladovacími podmínkami. Mohou proběhnout ve všech komponentech fotografie projevují se zejména v nejviditelnějších vrstvách a způsobují vyblednutí a barevné změny. Tento typ degradace je způsobený látkami, které způsobují oxidaci obrazového stříbra. Za blednutí fotografií je pak zodpovědná vzdušná vlhkost, která působí jako iniciátor chemické reakce, při které dochází ke přeměně stříbra.

Dalším degradačním procesem je biodegradace fotografických materiálů včetně kinematografických filmů mikroorganismy. Změny způsobené mikroorganismy jsou rozebírány v této práci.

Aby k degradacím nedocházelo, je důležité dodržovat preventivní opatření, jež spočívají v uložení fotografických materiálů ve vhodných prostorách se zajištěnou stabilní relativní vlhkostí a stálou teplotou. Též důležitým prvkem je i používání ochranných obalových materiálů, vytvářejících vhodné, bezpečné, chemicky stabilní a inertní prostředí. Nesmírně důležité je provádění pravidelných mikrobiologických kontrol uložených fotografických materiálů.

2 TEORETICKÁ ČÁST

2.1 Vynález fotografie

Již od počátku naší civilizace se lidé snažili, co nejpřesněji zaznamenat nejen obrazy ze svého okolí, ale i lidí samotných. Již z dob pravěku nalézáme různé malby, na kterých lidé vyobrazovali různé situace běžného života, malovali zvěř. Později tyto malby sloužili k vyobrazení slavných bitev, pohrom, božstev. Za další etapu vývoje, je možno považovat vznik malířství a s ní i snaha zaznamenat viděný obraz, co nejpřesněji. Proces to byl velmi dlouhý a pracný, použité techniky se postupně zdokonalovaly, ale často si koupí těchto obrazů mohli dovolit jen bohatí lidé, pro obyčejné lidi de facto nic takového neexistovalo. A snad právě proto lidé stále bádali, jak zkrátit čas a snížit pracnost obrazů a zároveň tak rozšířit nové poznatky co nejvíce lidem všech sociálních skupin.

K vynálezu fotografie bylo třeba poznatků z optiky, chemie a výtvarného umění. Na jedné linii vývoje stálo zdokonalování camery obscury pro fotografický přístroj, na druhé zkoumání vlastností látek citlivých na světlo spolu s výběrem různých materiálů pro fotografii a vylepšování celého fotografického procesu.[1]

Rozvoj fotografie snad nejvíce ovlivnili tyto tři osobnosti: Joseph Nicéphore Niepce, Louise Jacques Mandé Daguerre a William Henry Fox Talbot.

Za první fotografii je považován snímek, který zhotovil roku 1826 francouzský vynálezce Nicéphore Niepce – na vyleštěnou cínovou desku pokrytou syrským asfaltem a po expozici vyvolanou levandulovým olejem. Tento proces byl však velmi zdoluhavý a proto Niepce společně s umělcem Daguerem začali experimentovat se sloučeninami stříbra.[2]

Niepce a Jacques Daquerre zdokonalili existující proces na bázi halogenidů stříbra společně. V roce 1833 Niepce umírá a nechává své poznatky Daquerrovi. V roce 1839 Daquerre vynalezl proces využívající postříbřenou měděnou desku zcitlivěnou parami jodu a nazval jej daguerrotypii. Dostí významnou výhodou bylo to, že byla použitelná v praxi. K tomu přispěl i vynález portrétního objektivu Josefa Maxmilianu Petzvala a zvýšení citlivosti desek za pomoci bromu. Tento objektiv dokázal desetinasobně zvýšit světlost obrazu a zkrátit tak dobu expozice na 15–20 minut. Doba expozice byla postupně ještě zkrácena a to na 1–4 sekundy. Avšak nevýhodou tohoto procesu byla značná citlivost fotografických povrchů vůči mechanickým a atmosférickým vlivům.[2, 3, 4]

Prvním procesem, využívajícím negativ-pozitiv byla kalotypie. Jejím vynálezcem byl William Henry Fox Talbot. Její hlavní výhodou bylo využívání dvoustupňového procesu negativ-pozitiv, jenž umožňoval rozmnožení snímků. Zvýšila se také kvalita ostrosti snímků, rozlišení kvality barev. Avšak nevýhodou bylo odrážení textury papíru, malý rozsah světla a stínů, málo detailů zobrazených na snímcích. Takto vzniklé snímky se uplatnily spíše v tiskařství jako ilustrace.[3]

V roce 1851 byl vynalezen Fredericem Scottem Archerem proces mokrého kolodia (dinitrát celulózy), princip této metody je v podstatě využíván dodnes. Na destičku se nanese směs jodidu draselného a bromidu draselného. Následně bylo potřeba provést zcitlivění, což se provádělo ponořením do roztoku dusičnanu stříbrného. Po ukončení expozice se snímek vyvolával v roztoku síranu železnatého a poté byl ustálen v roztoku kyanidu draselného. Avšak tento proces byl pro fotografa značně náročný a vyžadoval od něj nejen velkou dávku zkušeností, ale i manuální zručnosti. Avšak dosti důležité je zmínit, že opět došlo k vylepšení

kvality fotografie, zejména k vylepšení citlivosti, obrysové ostrosti a většímu rozsahu polotonů.[3, 5]

Dostí důležitým zlomem byl vynález želatinových desek roku 1871 Richardem Leachem Maddoxem, který nejprve nechal nabobtnat želatinu vodou, poté přidal bromid kademnatý a po zahřání, kdy rozpustil želatinu, přidával za stálého míchání dusičnan stříbrný. Tuto emulzi naléval na sklo a poté ji nechával ve tmě zaschnout. Jedním ze základních mezníků byl i rok 1873, kdy John Middleton Burgess zahájil prodej tekuté želatinové emulze s bromidem stříbrným a rok 1878, kdy byl zahájen prodej suchých listů s emulzí firmou Liverpool Dry Plate Company. Značný vliv na zlevnění desek bylo sestrojení strojů na polev želatinových desek. Avšak nevyrovnaná citlivost halogenidů stříbra činila fotografům problémy, proto roku 1873 Hermann Wilhelm Vogel vynalezl metodu přidavku anilinových barviv do emulze, která zcitlivěla částičky bromidu stříbrného k barvám, které příslušná sloučenina absorbuje. Výroba suchých želatinových desek zahájila proces, který trvá v podstatě dosud. Postupem času došlo díky cenové dostupnosti k nárůstu fotografií – amatérů.[3]

2.2 Fotografické materiály

Většina fotografických materiálů sestává z fotografické citlivé vrstvy, obsahující světlocitlivý materiál a vhodné podložky. Fotografická citlivá vrstva je tvořena částicemi světlocitlivého materiálu, rozptýleného v želatině. Jako světlocitlivého materiálu se využívají stříbrné halogenidy, a to bromid stříbrný (AgBr), chlorid stříbrný (AgCl) a jodid stříbrný (AgI).[3]

Podložka pro fotografický materiál je látka, na které je nanесena citlivá vrstva. Podložka musí splňovat celou řadu technických podmínek, které jsou na ní kladeny: fotografickou neaktivnost, rozměrovou stálost, mechanickou pevnost a pružnost, schopnost udržet citlivou vrstvu a celou řadu dalších.[3]

Podložky rozlišujeme na: filmovou podložku
 plastickou podložku

2.2.1 Filmová podložka

V minulosti byla nejčastěji používanou podložkou nitrocelulózová, avšak podložka z tohoto materiálu měla celou řadu nevýhod, jako rozměrovou nestálost a chemickou nestabilitu. Bylo zapotřebí dodržovat podmínky skladování, jinak by se naplno rozběhly chemické reakce znehodnocující film. Skutečně největším problémem byla její vznětlivost. Film mohl hořet i za nepřístupu vzduchu. Proto byl později nahrazen acetylcelulózou, která se používá pro některé účely dodnes. Nyní se používá polyethylentereftalát (PET) a polyester (PE). Mezi její klady patří vyšší pevnost a kluznost, malá tloušťka je spíše její výhodou.[3, 5, 6]

2.2.2 Plastická podložka

Je po celém povrchu vyrobena z plastické hmoty. Běžně se používá pro vysoké nároky na optickou kvalitu nebo tam, kde je běžný papír při zpracování chemicky napadán.[3]

2.3 Fotografická želatina

2.3.1 Želatina

Želatina je lehce stravitelná bílkovina, skládající se z 18 aminokyselin. Aminokyselinové složení je dosti variabilní a závisí na výchozí surovině. Průměrné hmotnostní složení je tvořeno: glycin 21 %, prolin 12 %, hydroxyprolin 12 %, glutamová kyselina 10 %, alanin 9 %, arginin 8 %, asparagová kyselina 6 %, lysin 4 %, serin 4 %, leucin 3 %, valin 2 %, fenylalanin 2 %, threonin 2 %, isoleucin 1 %, hydroxylysin 1 %, methionin a histidin < 1 %, tyroxin < 0,5 %. Peptidické vazby mají částečně aromatický charakter a proto má želatina absorpční maximum při 230 nm.[10, 12]

V praxi se želatina vyrábí z kolagenu, což je protein s přibližným obsahem 14% hydroxyprolinu, 16% prolinu a 26% glycinu. Vysoký obsah hydroxyprolinu je pro kolagen charakteristický a slouží k jeho identifikaci.[12, 17]

Kolagen je tvořen peptidovými triplety glycin X–Y, kde X a Y jsou aminokyseliny, přičemž v pozici X je nejčastěji prolin a v pozici Y hydroxyprolin. Řetězec obsahuje přibližně 1050 aminokyselinových zbytků a tři takovéto řetězce jsou uspořádány do levotočivého α -helixu.[12, 17]

Molekulová hmotnost želatiny se pohybuje od několika tisíc až k milionům Daltonů. Přesná molekulová hmotnost však není možná zjistit, neboť želatina je směs a proto není možné ji popsat přesným chemickým vzorcem.[5]

2.3.2 Postupy výroby želatiny

V praxi se uplatňují zejména postupy, lišící se způsobem předúpravy (alkalická, kyselá) a také účelem, za jakým ji vyrábíme:

alkalická předúprava – získáváme želatinu typu B, která se běžně používá ve fotografickém průmyslu.

kyselá předúprava – získáváme želatinu typu A.

enzymatický postup – výroba tohoto typu želatiny je finančně poměrně náročná, zejména proto, že nechceme, aby došlo k poškození želatiny. Tohoto typu výroby želatiny se využívá v odvětvích jako je kosmetický průmysl (výroba krémů, šamponů, mýdel) nebo farmaceutický průmysl, kde se využívá na výrobu kapslí.[5]

2.3.3 Výroba želatiny

Pro výrobu želatiny se v současnosti nejvíce používají vepřové nebo hovězí kůže. Při vstupu je materiál podroben kvalitativní, technologické a veterinární kontrole. Vepřové kůže se dodávají z masokombinátů a konzervářských podniků. Po vytěžení se kůže přesouvají do speciální místnosti kožárny, kde se předupraví pro další použití. Je zapotřebí odstranit podkoží, svalovinu a tuk. Poté je zapotřebí produkt zakonzervovat, aby nedošlo ke kontaminaci nežádoucími mikroorganismy. Kůže se dodávají hluboce zamrazené nebo nasolené či povápněné.[5, 10, 11]

K dalšímu zpracování surového materiálu patří mytí, odstranění chlupů, odtučnění a stupeň jejich redukce. Poté je materiál uložen do štípacího stroje, ve kterém je rozsekán na malé kousky. Ty se poté ještě promyjí proudem vody pro odstranění nečistot, poté se provádí

odtučnění máčením v horké vodě.[10] Pak následuje samotná alkalická předúprava nebo předúprava kyselá, záleží na tom jaký typ želatiny chceme získat.

2.3.3.1 Alkalická předúprava

Nakrájené kousky jsou několik týdnů máčeny ve vápenném mléce o pH mezi 12–13, čímž se odstraní vápenaté a další soli. Hlavním účelem alkalické úpravy je zmýdelnění tuku, odstranění rohoviny, naprosté zničení zesíťování kolagenu v kůžích, avšak nesmí dojít k poškození kolagenu. Současně díky vysokému pH dochází ke konzervaci. Po povápnění následuje odvápnění, promývá se 4% kyselinou chlorovodíkovou, která má pH nižší než 1,5. Takto dochází k dalšímu odstranění minerálních látek a zároveň díky takovýmto drastickým změnám pH dochází k dokonalé likvidaci možných mikroorganismů. Následně dochází k promývání ve vřelé vodě, poté následuje samotný proces vaření. Tímto způsobem získáváme želatinu typu B tedy fotografickou želatinu.[5, 10, 11]

2.3.3.2 Kyselá předúprava

Kůže se po promytí a rozřezání vloží na 24 až 48 hodin do kyselé lázně, jejíž pH se pohybuje pod hodnotou 1,5. Poté se promyje čistou vodou.[10]

2.3.3.3 Vaření

Do varných kádí se vloží vepřové nebo hovězí kůže a poté následuje celá řada horkovodních extrakcí obvykle v rozmezí 50 °C–60 °C až 100 °C, tímto způsobem získáme želatinu o různé kvalitě a koncentraci. Poté následuje odstředovací proces, kdy dochází k několikastupňovému procesu filtrací, takto se odstraní poslední kapičky tuku. Přeměna suspenze na rosol proběhne v tepelném výměníku, kdy dochází nejprve ke zmrazení a poté následné sterilizaci při 140 °C. Takto dochází k zabezpečení jak mikrobiální čistoty tak i zdravotní nezávadnosti. Po tomto kroku následuje zformování želatiny do nití a sušení v sušicím tunelu. Sušení slouží hlavně k upravení vlhkosti obsažené v želatině. Poté se želatinové nitě zkrátí, rozemelou a síťováním se rozdělí na prášek a částice s různou zrnitostí. Poté dochází k smíchání dle různých technologických požadavků a balení.[10, 27]

2.3.4 Fyzikální a chemické vlastnosti želatiny

Důležitými vlastnostmi želatiny, které jsou často používány k jejímu hodnocení v praxi: jsou pevnost gelu, teplota tání a tuhnutí, zrnitost, viskozita želatiny a dále barva nebo čírost.

2.3.4.1 Pevnost gelu

Pomocí bloom gelometru se měří pevnost gelu, což je veličina, která určuje kvalitu vyrobené želatiny a přirozeně tak i její cenu. Parametry, kladené na komerční želatinu kolísají od 50–300 g Bloomů (síla, která je zapotřebí pro měření odporu želé vůči standardnímu pístu, o průměru 4 mm při jeho proniknutí do hloubky 12,5 mm gelu, připraveného z 6,67% vodného roztoku želatiny, ochlazeného z 60 °C na 10 °C).[10, 13]

2.3.4.2 Teplota tání a tuhnutí

Teplotou tání rozumíme stav, při kterém se gel začíná přeměňovat v roztok, pohybuje se mezi

28–30 °C. Teplota tuhnutí je stav přesně opačný, tekutina se pozvolna začíná zpevňovat a vytvářet pevný gel, začíná u teploty 25 °C.[5, 10]

2.3.4.3 Zrnitost

U některých konkrétních aplikací želatiny je potřebná její specifická zrnitost. Běžná tržní zrnitost je prášek.[10]

2.3.4.4 Viskozita

Zjišťuje se viskozimetrickou pipetou, v roztoku o koncentraci 6,67 % při teplotě 60 °C. Hodnota viskozity se pohybuje mezi 15 až 75. Jedná se o technologicky dosti důležitou vlastnost už z hlediska rozličného použití želatiny v různých průmyslových odvětvích.[10]

2.3.5 Průmyslové využití želatiny

2.3.5.1 Potravinářský průmysl

Použití želatiny v potravinářském průmyslu je značně široké, želatina se využívá při výrobě masných výrobků, rybích výrobků, celé řady cukrovinek od želé desertů až po oblíbené gumové medvídky, k výrobě zmrzliny, mléčných výrobků. Za nový typ želatiny uplatňovaný v potravinářství lze označit želatinové hydrolyzáty, využívající se k výrobě nápojů, jakožto doplňků životně důležitých proteinů v lidské potravě.[10]

2.3.5.2 Farmaceutický průmysl

Zde se využívá k výrobě měkkých a tvrdých kapslí jako pojivo při tabletování farmaceutických účinných látek.[10]

2.3.5.3 Kosmetický průmysl

K výrobě krémů, šamponů, mýdel se hojně využívají želatinové hydrolyzáty, právě pro vysoký obsah kolagenu, jež slouží k výživě pokožky a vlasů.[10]

2.3.5.4 Fotografický průmysl

Fotografické materiály, vyráběné na bázi stříbra, vyžadují želatinu jako pojivo jednotlivých vrstev. Což platí pro filmy i fotografické papíry.[10]

2.3.5.5 Ostatní

Želatina má širokou variabilitu použití. Využívá se k výrobě papíru, plastů, v metalurgii, uplatňuje se také při výrobě hnojiv, pracích prášků a čistících prostředků.[5, 10]

2.3.6 Fotografická světlocitlivá vrstva

2.3.6.1 Funkce želatiny

Jak již bylo popsáno v kapitole, věnující se vynálezu fotografie, vodný roztok želatiny se používá jako pojivo fotografické citlivé vrstvy. Krom toho má však ještě další funkce: váže krystalky halogenidu stříbrného v rozptýlené formě, zabraňuje koagulaci ve větší celky a po vysušení vrstvy fixuje jejich polohu na podložce. Má nezanedbatelný vliv na růst krystalů během srážení halogenidu stříbrného. Želatina slouží také jako akceptor halogenu při vzniku

latentního obrazu. Její propustnost pro rozpuštěné látky umožňuje fotografické vyvolávání. Na kvalitě použité želatiny jsou velice závislé fotografické vlastnosti citlivé vrstvy.[12, 13]

2.3.6.2 Úprava želatiny

Pro výrobu citlivé vrstvy se používají viskoznější typy želatiny. Pro vylepšení vlastností želatiny se přidávají další syntetické látky (například polyvinylalkohol), semisyntetické (vzniklé modifikací želatiny – alkylovaná nebo acylovaná želatina) a nebo přírodní polymery (albumin, kasein nebo další polymery jako jsou sacharidy, škrob, algináty).[12]

Již při výrobě želatinové vrstvy dochází k vytvrzování tenkého želatinového filmu za pomoci různých činidel: aldehydů, dialdehydů, ketonů, sloučenin olefinů. Vytvrzování je výsledkem příčného síťování mezi reaktivními skupinami želatiny, přičemž dochází k reakci zejména aminoskupin a karboxylových skupin, ale i hydroxylových a dalších skupin. Po takovém procesu se želatina stává nerozpustnou ve vodě a zvyšuje se i její mechanická odolnost.[12, 13]

2.3.7 Mikrobiologická degradace citlivé vrstvy

Přítomnost želatiny ve světlocitlivé vrstvě je možnou příčinou značné náchylnosti fotografického materiálu k napadení nejrůznějšími mikroorganismy zejména plísněmi. Zásadní význam pro míru poškození citlivé vrstvy plísněmi je schopnost těchto organismů vytvářet příslušné enzymy. A právě želatina je látkou, která je poměrně citlivá vůči proteolytickým enzymům, a jak bude zmíněno v kapitole věnované plísním, plísně mají značnou schopnost tvorby proteolytických, lipolytických a sacharolytických enzymů.[12, 28]

V knihovnách, muzeích a archivech je velké množství fotografií, negativů nebo filmů napadených plísněmi *Aspergillus niger*, *Aspergillus nidulans*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus ustus*, *Aspergillus versicolor*, *Alternaria alternata*, *Fusarium avenaceum*, *Penicillium chrysogenum*, *Penicillium brevicompactum*, *Mucor plumbeus*, *Mucor racemosus*, *Rhizopus stolonifer* a celou řadou dalších mikroorganismů.[14, 29]

Ve vlhkém prostředí nejprve dochází k nárůstu plísní na povrchu citlivé vrstvy, mycelium však dosti rychle prorůstá dovnitř. Vlivem metabolické činnosti plísní dochází k rozkladu bílkovin a tím mimo jiné i ke změně jejich konzistence (zkapalňování želatiny).[12, 13]

2.3.7.1 Typy poškození způsobené plísněmi

Míra poškození závisí na podmínkách uložení a obsahu látek využitelných plísněmi. V praxi se rozdělují tyto základní typy poškození – od poškození relativně mírných bez jakýchkoliv následků na materiálu až po velmi silnou degradaci:

1. Plísňové mycelium roste pouze na povrchu a je dobře odstranitelné bez jakýchkoliv následků na materiálu.
2. Plísňové mycelium roste pouze na povrchu, je beze zbytku odstranitelné, na citlivé vrstvě zůstávají drobné nerovnosti. Tyto nerovnosti jsou způsobeny enzymatickou a mechanickou činností plísňových hyf. Makroskopicky se jeví jako matnější plochy na povrchu.
3. Plísňové mycelium zasahuje do větší hloubky, nelze jej zcela odstranit. Citlivá vrstva je poměrně poškozena enzymatickou činností hyf, které zkapalňují želatinu a mohou tak pronikat do větší hloubky. I po čištění zůstávají zbytky mycelia přítomny.

4. Citlivá vrstva je plísněmi velmi silně poškozena, odděluje se od podkladu. Tento typ poškození se vyskytuje pouze za extrémních podmínek, hojně se vyskytuje například u materiálu zasaženého záplavami.
5. Citlivá vrstva je poškozena jiným způsobem. Plísň jsou napadeny současně i jiné materiály v okolí citlivé vrstvy, což má vliv i na fotografický materiál.

2.4 Plísně

2.4.1 Morfologie mikroskopických vláknitých hub

Plísně se odborně nazývají mikroskopické vláknité eukariotní mikroorganismy, náležící mezi houby (*Fungi*).

2.4.2 Cytologie mikroskopických vláknitých hub

Stélka (*thallus*) – je tvořena vlákny (*hyfy*), která jsou buď jednobuněčná nebo vícebuněčná. V každé je jedno nebo více haploidních jader. Splet' hyf se nazývá mycelium. Tvrdý útvar, tvořený spleť hyf se nazývá skleroncium. Za nepříznivých podmínek se mohou buňky hyf proměnit na kulovité útvary obalené tlustou stěnou, které se nazývají chlamydospory. V takovém stavu přečkávají nepříznivé podmínky.[15]

Buněčná stěna – má silnou a pevnou strukturu, dodává buňce tvar a chrání ji před mechanickými vlivy a osmotickým šokem. Velkými pory stěny mohou procházet všechny sloučeniny kromě polysacharidů a polypeptidů. Je tvořena polysacharidy, bílkovinami, lipidy a dále obsahuje vosky a barviva. Dominujícím polysacharidem, vyskytujícím se v buněčné stěně je chitin a chitosan, mohou zde být však přítomné i glukany a mangany, ale i látky podobné ligninu.[15, 16, 18, 26]

Cytoplazmatická membrána – se skládá z proteinů a lipidů. Je volně propustná pro malé molekuly a proto tvoří osmotické prostředí mezi buňkou a vnějším prostředím. Je to místo transportních mechanismů, které umožňují transport látek z buňky do prostředí a také zde dochází k příjmu látek buňkou.[16, 18, 26]

Cytoplazma – v cytoplazmě se nacházejí různě velké kapičky lipidů dále zde můžeme nalézt i zrníčka polyfosfátů. Jsou zde uloženy strukturní útvary jako: endoplazmatické retikulum, mitochondrie, vakuoly.[16, 18]

Endoplazmatické retikulum – dochází zde k syntéze bílkovin. Je však rozeznatelné pouze elektronovým mikroskopem.[16]

Mitochondrie – jsou sídlem dýchacích enzymů a oxidační fosforylace. Opět je můžeme rozeznat pod elektronovým mikroskopem.[16]

Vakuola – obsahuje jednu až dvě bývá rezervoárem látek.[16]

2.4.3 Rozmnožování mikroskopických vláknitých hub

Rozmnožování se děje těmito způsoby:

- Nepohlavně
- Pohlavně
- Rozrůstáním hyf

U nepohlavního rozmnožování rozeznáváme tyto varianty:

fragmentace vlákna – rozpad vlákna na větší počet vláken

dělení somatických buněk na dvě dceřiné
pučení buněk
spory (vznikají ve fruktifikačních orgánech endogenně nebo exogenně)

Pohlavní rozmnožování, při kterém dochází k:

gametogamie – kopulace dvou pohlavních gamet, které vznikají v pohlavních orgánech – gametangií.

gametangiogamie – kopulace celých pohlavních orgánů – gametangií.

somatogamie – somatické (tělové buňky) přebírají pohlavní úlohu.

U pohlavního způsobu rozmnožování rozlišujeme tři základní fáze:

1. Plasmogamie – splynutí plazem a míchání jader
2. Karyogamie – splynutí dvou haploidních jader a jednoho diploidního
3. Meioza – redukční dělení

Při pohlavním rozmnožování vznikají pohlavní spory čtyř typů: oospory, zygospor, askospor, bazidiospor.

Rozrůstáním hyf – vlákna, ze kterých se skládá tělo hub se nazývají hyfy. Navzájem propletené a rozrostlé hyfy tvoří útvar, který se nazývá podhoubí neboli mycelium.

Za nepříznivých podmínek se mohou buňky hyf proměnit na kulovité útvary obalené tlustou stěnou, které se nazývají chlamydospor. V takovém stavu přečkávají nepříznivé podmínky, při vhodných podmínkách vyklíčí a vznikne vegetativní mycelium hub.[15]

2.4.4 Výskyt plísní a jejich význam

Plísně jsou rozšířené po celém povrchu země, jejich hlavním rezervoárem je půda, z níž se dostávají do vzduchu, na organický materiál převážně rostlinného původu, na exkrementy zvířat a průmyslové předměty uložené ve vlhku, tedy jsou prakticky všudypřítomné.[16]

Plísně mají význam jak negativní tak i pozitivní. Význam plísní v negativním smyslu slova je dán jejich fyziologickými vlastnostmi. Vzhledem k přísně aerobní povaze se mohou rozmnožovat pouze na povrchu napadeného materiálu; pokud jde o uhlíkaté živiny, jsou značně nenáročné, neboť je dokáží využívat vysoce efektivně. Přísně aerobní povaha spolu s enzymovým vybavením umožňuje plísním napadat nejrozumnější organický materiál včetně kůže, papíru, syntetických barviv, fotografických materiálů, syntetických plastů. Protože plísně mají schopnost využívat vzdušnou vlhkost, napadají tyto materiály jsou-li uloženy ve vlhkém prostředí, a tím způsobují vysoké ztráty, především při dlouhodobém uložení materiálu ve vlhku nebo působí-li na něj kratší dobu vlhké teplo.[16]

U materiálově rozkladných procesů se využívá proteolytických, ale též lipolytických účinků plísní. Plísně jsou ovšem vybaveny i sacharolytickými enzymy, přičemž řada z nich je schopná využívat také škrob nebo celulosu.[15, 16]

Plísně jsou obecně patogenní. Dalším velmi výrazným faktorem je i tvorba mykotoxinů, které způsobují alergické reakce u lidí a u velmi citlivých jedinců může dojít až ke vzniku anafalrického šoku.[16]

Pozitivní význam mají plísně při průmyslové výrobě enzymů, především proteinás, amylás,

celulás a pektolytických enzymů. Pektolytické enzymy mají značný význam například v potravinářském průmyslu, kde se aplikují při zpracování ovoce a zeleniny (ztekucování), dále při průmyslové výrobě organických kyselin (citronové, itakonové, fumarové, glukonové a šťavelové), při provádění specifických oxidací složitých chemických sloučenin, při výrobě léků a antibiotik. Mimořádně významná činnost je i čištění odpadních vod. Též jich lze využívat jako mikrobiálních insekticidů.[15, 16]

2.4.5 Oddělení Chytridiomycota

Chytridiomycety jsou považovány za primární vodní organismy, osídlují i široké rozpětí půdních typů včetně rašelin a slaných půd od tropického pásu až po arktické oblasti. Jsou obligátními parazity, saprofyty, některé druhy přenašeči virů, některé rody slouží jako objekty pro studium morfogeneze, cytologie, genetiky.[15]

Rozmnožují se nepohlavně pomocí zoospor. Pohlavní rozmnožování však vykazuje značnou rozmanitost: u nejprimitivnějších typů se zoospory za určitých podmínek začnou chovat jako gamety.[15]

2.4.6 Pododdělení Zygomycotina

Hyfy mycelia jsou jednobuněčné a mnohoaderné. Přehrádky se zde vytvářejí pro oddělení rozmnožovacích struktur. Rozmnožování je pohlavní za pomoci zygospor (splýváním dvou gametangií za vzniku diploidní zygospor). A nepohlavní a to se děje za pomoci nepohyblivých spor, které jsou umístěny ve sporangiu.[15]

Zde jsou vyčleněny dvě třídy: Zygomycetes a Trichomycetes.

Třída Zygomycetes se v současnosti člení na sedm řádů. Zde jsou důležité dva řády a to řád Mucorales (rod: *Mucor*, *Rhizopus*, *Mortierella*) a řád Entomophthorales.[15]

2.4.6.1 Řád Mucorales

Zástupci tohoto řádu jsou nejznámější běžně pojímané plísně. Vytvářejí řídce vatovité nebo plstnaté porosty vzdušného mycelia, většinou světlých barev, řidčeji tmavě šedé nebo hnědě zbarvené. Toto mycelium velmi rychle roste a proto osazují organický substrát jako první drobnohledné houby. Stélku těchto organismů tvoří převážně mnohoaderné mycelium bez přehrádek a proto je zvláště u mladého mycelia dobře pozorovatelné proudění plazmy. Přepážky se tvoří téměř pravidelně pod rozmnožovacími orgány a ve stáří nepravidelně v průběhu mycelia. Někdy jsou však kratší úseky vláken již u mladého mycelia odděleny přepážkami, mezi nimiž je plazma hustší. Tyto útvary se označují jako gemy a mají obdobnou funkci jako chlamydospory. Po rozpadu mycelia se z nich stélka obnovuje. Vyskytují se především jako saprofyty v půdě, na zetlívajících rostlinných nebo živočišných zbytcích. Mnohé žijí výhradně na trusu, jiné na přezrálém ovoci a na různých skladovaných potravinách.[15]

2.4.6.2 Řád Entomophthorales

Jedná se o houby suchozemské, saprofytické, žijící na organických zbytcích. Jde se o skupinu hub, podílejících se na tvorbě humusu. Avšak mohou být i původci mykoz rostlin, živočichů a člověka.[15]

2.4.6.3 Třída Trichomycetes

Mycelium u této třídy je větvené nebo nevětvené, hyfy jsou přímé nebo šroubovitě stočené. U některých zástupců je mycelium přehrádkované, u jiných přehrádky oddělují pouze reprodukční orgány. Rozmnožování je nepohlavní, vytváří se různé typy sporangiospor. Všichni zástupci této třídy jsou biologicky vázaní na členovce, speciálně na hmyz, mnohonožky, korýše, žijící v půdě, sladké či mořské vodě.[15]

2.4.7 Pododdělení Ascomycotina

Jednotícím znakem pro všechny zástupce je tvorba věcek (asků). Asky vznikají z dvoujaderných hyf nebo jsou uloženy ve fruktifikačních orgánech. Uzavřený fruktifikační orgán s neuspořádanými asky se nazývá kleistothecium, vyskytuje se u rodu *Penicillium* nebo *Aspergillus*. Uzavřený fruktifikační orgán s uspořádanými asky se nazývá perithecium. Askospory jsou umístěné v jedné řadě. Ve věcku dochází k diferenciaci endogenně se tvořících spor (askospor). Vzniká jich zde vždy osm. Pohlavní orgány jsou rozlišené na samčí a samičí. Mycelium je septované. Někteří zástupci však tvoří pseudomycelium.[15, 16]

2.4.7.1 Třída Ascomycetes

Zahrnuje pravé věckovýtrusné houby, u kterých je vytvořena dikaryofáze v podobě askogenních hyf a zároveň dochází k tvorbě plodnic (askokarpů, askomat). Jedná se o nejpočetnější třídu hub zahrnující zhruba polovinu všech známých druhů. Zde je řazena většina lichenizovaných hub a prokazatelně sem patří i většina zástupců pomocné skupiny Deuteromycotina.[16]

Jsou to převážně saprofyté nebo fakultativní parazité rostlin a živočichů, avšak jedná se i o obligátní parazity rostlin a živočichů.[16]

Řada druhů je využívána průmyslově. Uplatňují se například při zrání salámů, sýrů, produkci kyselin citronové. Využívají se i na produkci látek používaných v lékařství, ale i na produkci drog. V současné době se jedná o třídu hub, která zahrnuje zhruba 38 řádů.[16]

Pomocné oddělení Deuteromycotina

Toto oddělení je členěno na pomocné třídy, řády, čeledi a rody pouze na základě morfologické podobnosti. Je hodně rozšířené v přírodě, uvádí se až 30 % všech známých rodů hub. Nachází se v biotopech; v půdě, na rostlinných substrátech, jedná se i o parazity případně saprofity.[15]

Patří sem houby, u kterých neznáme pohlavní způsob rozmnožování. Rozmnožují se tedy výhradně nepohlavními spory (konidiemi) nebo myceliem.[15]

Mezi nejznámější rody patří: *Aspergillus*, *Acremonium*, *Botritis*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Rhodotorula*, *Candida*, *Alternaria*. [14, 15]

2.4.7.2 Rod Penicillium

Jedná se o jeden z nejrozšířenějších rodů na zemi, tento rod obsahuje kolem 150 druhů plísní. Vyskytuje se v půdě, na povrchu živých a odumřelých organismů, ve vodě, v ovzduší, na nejrůznějších substrátech, přičemž má minimální nároky na výživu. Optimum růstu je okolo

23 °C, minimum pak 4 °C a maximum 37 °C. [15, 16]

Jeho druhy tvoří kolonie s velkým množstvím žlutozelených až modrozelených konidií, které jsou na různých potravinách i jiném materiálu patrné jako zelené, sametové až moučné povlaky. Okraje kolonií, na nichž nejsou spory jsou bílé. Okrajový lem je bílý, 1 až 2 mm široký. Často se tvoří žlutý až hnědožlutý bohatý výpotek.[16, 19]

Pro tento rod je charakteristická štětičkovitá stavba konidioforu, která je důležitá pro rozlišení jednotlivých sekcí rodu *Penicillium*. A právě podle uspořádání štětičkovitých konidioforů rozdělujeme jednotlivé druhy do těchto skupin:

Monoverticillata – se štětečkem tvořeným svazkem sterigmat neboli fialid. Některé druhy tvoří neuspořádané asky, umístěné v sírově žlutých kleistotheciích, (peritheciích), rozlišitelných pouhým okem. Určité druhy produkují značné množství kyseliny citronové, jiné tvoří látky antibiotické povahy, které jsou však toxické pro člověka.[16]

Biverticillata symmetrica – na konci konidioforu symetricky spořádaný svazek válcovitých buněk nazývaných metuly. Z každé metuly vyrůstá svazek sterigmat. Některé druhy produkují kyseliny například kyselinu glukonovou, jiné tvoří různé antibiotické látky. Určité druhy tvoří neuspořádané asky umístěné v kleistotheciích. Téměř všechny druhy uvolňují do prostředí žluté, oranžové nebo červené barvivo.[16]

Asymmetrica – nejrozšířenější skupina s nesymetricky uspořádaným štětičkem konidioforu. Některé druhy produkují antibiotika. Mezi Asymmetrica patří *Penicillium chrysogenum* (dříve *Penicillium notatum*), používaný v praxi pro výrobu penicilínu, *Penicillium camemberti* a *Penicillium roqueforti*, používajících se na výrobu plísňových sýrů (Hermelín, Niva, Camembert), optimum růstu se pohybuje od 4–35 °C, i nejrozšířenější penicilium *Penicillium expansum*, které je hlavní příčinou ztrát při skladování ovoce. *Penicillium expansum* je hlavním producentem mykotoxynu patulinu, který ohrožuje kvalitu jablečných moštů a jiných jablečných výrobků.[16]

Polyverticillata – s konidioforem končícím bohatým, opakovaně větveným, symetricky uspořádaným štětečkem. Jde o poměrně malou skupinku druhů.[16]

2.4.7.3 Rod *Aspergillus*

Rozšíření rodu *Aspergillus* je celosvětové, najdeme je v půdě, na rostlinných a živočišných zbytcích. Jedná se tedy o rod vyskytující se na nejrozličnějším materiálu, neboť je velmi bohatě vybaven enzymy (amylolytickými, pektolytickými a proteolytickými). Některé druhy jsou vhodné pro průmyslovou přípravu těchto enzymů, jež se pak používají v potravinářském průmyslu (například amylolytické a proteolytické enzymy v pivovarnictví, pektolytické enzymy v konzervárenství při přípravě ovocných šťáv) nebo při výrobě pracích prášků (hlavně proteolytické enzymy).[15, 16]

Vzhled kolonií bývá sametový, zrnitý, vlnatý, nebo vločkovitý. Někdy se tvoří konidiální hlavice v koncentrických kruzích, výpotek se objevuje zřídka.[15]

Právě pro rod *Aspergillus* je charakteristické hlavicovité zakončení konidioforu. Konidiofor vyrůstá buď přímo ze substrátu, nebo ze vzdušných hyf, bývá obvykle hnědý nebo žlutý

zabarvený. Na vrcholu se pozvolna rozšiřuje v měchýřek často různých tvarů. Po celém obvodu nebo části mechýřku vyrůstají fialidy. Primární fialidy bývají tlustší a delší a nesou na svém vrcholu jednu nebo dvě fialidy sekundární, které jsou zase obvykle kratší a tenčí. Fialidy jsou lahvovitého tvaru a jsou na vrcholcích zúženy v krátký konidionosný krček. Jím procházejí tvořící se mladé konidie. Konidie mohou mít kulovitý, elipsoidní, hruškovitý tvar nebo jsou oválné. [16]

Jedná se o rod, který se vegetativně rozmnožuje konidiemi, které vznikají v řetízcích z fialid na rozšířeném konci konidioforu. U některých druhů je známá též tvorba neuspořádaných asků obsahujících osm askospor. Asky jsou umístěné v kulovitém kleistotheciu, které má sírově žlutou barvu a je zřetelné pouhým okem jako drobné kuličky o průměru menším než 1 mm. Optimum růstu se pohybuje kolem 33 °C, může však růst i v rozmezí teplot od 10–12 °C do 43–48 °C. Za zmínku též stojí uvést, že tento rod je velice významným producentem mykotoxinů, zejména hepatotoxického a kancerogenního aflatoxinu B. Zejména velké nebezpečí představuje výskyt těchto látek, například v burských oříscích a cereáliích pro citlivé jedince, u nichž může dojít k anafalotickému šoku (*Aspergillus flavus*).[16]

2.4.7.4 Rod *Fusarium*

Tento rod je velmi rozsáhlý, a v přírodě je velmi rozšířený, způsobuje kažení jablek, rajčat, brambor a podobně. Některé jeho druhy způsobují nemoci rostlin, jiné produkují toxiny, které mohou vést k vážnému onemocnění člověka. Napadení obilí některými druhy fusarií může vést k velkým ztrátám na obilí, zejména též proto, že díky produkci mykotoxinů, nemůže být toto obilí použito ani pro krmné účely. Pro zajímavost k tomuto faktu uvádím, že mouka napadená fusarií způsobovala rozsáhlé otravy a byla příčinou častých úmrtí v Sovětském svazu ve třicátých a čtyřicátých letech. Později se uvažovalo o možném využití jako biologické zbraně. (tzv. žlutý déšť). Některé druhy také produkují toxická antibiotika.[16]

Některé druhy produkují též výrazné barvivo (červené, tmavě modré, zelené až černé), jež je uvolňováno do prostředí a zabarvuje starší mycelium. Optimum růstu se pohybuje okolo 25 °C, minimum pak okolo 0 °C, maximum pak okolo 31 °C. *Fusarium* se rozmnožuje pomocí vícebuněčných rohlíčkovitých nebo banánovitých kolonií. Kromě toho tvoří i jednobuněčné konidie (tzv. mikrokonidie), jež jsou uspořádány v řetízcích nebo nepravých paličkách. Některé druhy tvoří též chlamydospory.[16]

2.4.7.5 Rod *Alternaria*

Běžně se vyskytuje na rostlinách. Může též docházet ke vzdušné kontaminaci v mlékárnách, mlékařských sklípcech a na stěnách pivovarnických místností. Ve skladištích zeleniny způsobuje hlavně skvrnitost a hnilobu, některé druhy produkují též mykotoxiny. Tmavá barva spor i tmavé zabarvení mycelia chrání tuto plíseň před nepříznivými účinky slunečního světla, a proto se vyskytuje často ve vzduchu, v přírodě i v různých potravinářských provozovnách.[16]

2.4.7.6 Rod *Botrytis*

Vyskytuje se velmi hojně po celém světě jako fytopatogenní houba způsobující hnilobu ovoce a zeleniny, produkce mykotoxinů však nebyla zjištěna.[15]

Vytváří vlnaté kolonie, často chomáčkovité, šedavé. Později se mohou tvořit černá skleroncia.

Spodní strana kolonií je světlá, případně černá pod sklerocií.[15]

Optimum růstu se pohybuje kolem 22–25 °C, minimum pak kolem (-2) 5–12 °C, maximum pak kolem 35 °C.[15]

2.4.7.7 Rod *Mucor*

Rod *Mucor* bývá rozšířen celosvětově: nacházíme jej v seně, uskladněných semenech, koňském hnoji, domácím prachu.[20] Jedná se o rychle rostoucí plíseň obvykle tmavě šedou nebo světle olivově šedou, která roste na typických laboratorních médiích. Jedna kolonie může pokrýt Petriho misku již ve čtyřech dnech. Patří mezi rody, které jsou lehce rozpoznatelné různými mikroskopickými metodami, a to právě díky výšce (dorůstá výšky až 2 cm) sporangioforů a velkého sporangia. Optimum růstu se pohybuje kolem 25–30 °C.[19]

Rod *Mucor*, spolu s rodem *Rhizopus*, způsobují velmi rychlé kažení potravin a působí nám tak značné problémy zejména při jejich uskladňování. Některé druhy mají proteolytické enzymy, a proto se nacházejí hlavně na mase a mléčných výrobcích. Některé druhy produkují mykotoxiny, jiné jsou navíc ještě patogenní.[16, 19]

2.4.8 Oddělení *Basidiomycotina*

Haploidní bazidiospory, vyrůstající z bazidií nejčastěji po čtyřech, se tvoří exogenně. Dikaryotické mycelium se vyvíjí z výtrusů po splynutí plazmy dvou jednojaderného mycelia, a následuje karyogamie a meioza, která probíhá v buňce zvané bazidie, následně vzniknou čtyři jádra, ze kterých se vyvinou čtyři bazidiospory.

Do tohoto oddělení patří jedlé houby, fytopatogenní i dřevokazné houby.[15]

2.5 Mikrobiální kontroly

V minulých letech bylo napadení knih plísněmi pro knihovny a archívy opravdu velkým problémem. Uložení některých knihovních fondů v opuštěných chátrajících zámcích či v naprosto nevhodných venkovních halách bylo příčinou pravidelně se objevujících známek napadení plísněmi.[23]

V knihovnách a archívech byly v předchozích letech mikrobiologické kontroly prováděny a jejich výsledky vykazovány jistým stále stejným způsobem, navíc provádění vlastních kontrol a samotné vyhodnocování výsledků ukázalo na to, že tato praxe je na každém pracovišti jiná a proto bylo zapotřebí jednotných postupů, tak aby i nezasvěcený zadavatel a uživatel měl snazší orientaci v dané problematice.[23]

Program byl schválen a podpořen Ministerstvem kultury České republiky. Tohoto programu se zúčastnily i například tyto instituce: Národní knihovna ČR, Vědecká knihovna České Budějovice, Moravská zemská knihovna v Brně a Vědecká knihovna Olomouc.[23]

V knihovnách, archívech a muzeích se mikrobiologické zkoušky provádějí tak, že se sleduje přítomnost plísní na povrchu předmětů (nábytku, regálech, archiváliích, zdivu, podlahách) nebo v ovzduší. Tyto zkoušky se provádějí ve dvou termínech jarním a podzimním. Metod k takovýmto zkouškám existuje celá řada, přičemž každá je zatížena jistou chybou a navíc k dalším chybám může dojít i při samotné realizaci metody.[23]

Metody, sloužící ke kontrole můžeme rozdělit na metody kontroly kontaminace povrchů a na metody kontroly kontaminace ovzduší.

2.5.1 Metody kontroly kontaminace povrchů

Největšího významu nabývají právě kvantitativní metody, jejichž cílem je zjistit počet zárodků na stanovené ploše. Pokud se pracuje s archiváliemi, je nutné používat postupů, jež jsou maximálně šetrné k těmto předmětům.[23]

2.5.1.1 Metoda otisku

Jedná se o přímý otisk plochy, kterou zkoumáme na živné medium nebo nepřímý otisk sterilním zvlhčeným filtračním papírem, který se po otisku přenese na kultivační půdu. Výhodou variant této metody je vysoká záchytnost zárodků z povrchu předmětů. V praxi se tato metoda běžně využívá na kontrolu voskových pečeti.[23]

2.5.1.2 Stěr

Stěry provádíme pomocí vatových tamponů na špejli, které jsou buď suché, zvlhčené sterilní vodou nebo fyziologickým roztokem. Vata je činitelem, který může ovlivnit nejen záchytnost mikrobů, a tak i samotnou kvalitu sterilizace. Takto posbírané mikroorganismy následně ihned přeneseme na povrch živného media. Zde se využívá nejen tuhých médií, ale i tekuté živné půdy. Po inkubaci se mikroorganismy přeočkují na pevné půdy, proto aby se umožnilo druhové rozlišení. Tato metoda se jeví jako nejvhodnější pro zachycení spor či fragmentů mycelia z povrchu archiválie. Zde se však spíše než na kvantitativní hodnocení převážně zaměřuje na druhovou identifikaci mikroorganismů.[21, 23]

2.5.2 Metody kontroly kontaminace ovzduší

2.5.2.1 Sedimentace

Jedná se o jednoduchou metodu, která je nenáročná na materiál i pracovní postup. Jedinou nevýhodou této metody je její značná nepřesnost, poněvadž rychlost sedimentace částic je různá a ovlivněná celou řadou nejrozličnějších faktorů: mezi něž patří velikost částic, proudění okolního vzduchu a další. Obvykle se provádí tak, že se Petriho miska s vhodným živným médiem (nejlépe se osvědčil sladidlový agar, což je médium zvláště bohaté na živiny) položí na vytipované místo a otevře. Drobné částičky prachu a mikroorganismy na půdu sedimentují. Expozice trvá několik minut. Po uzavření Petriho misky se půda inkubuje. Důležité je dodržení optimálních podmínek inkubovaných mikroorganismů. Poté hodnotíme kolonie zachycených mikrobiálních druhů. Důležité je zachovávat vždy stejné podmínky při odběru i při kultivaci, dobu expozice, volbu živného media, proudění vzduchu, vlhkost a teplotu.[21, 23]

2.5.2.2 Přístrojové metody

Jedná se o metody, které jsou narušující od výše zmíněných, mnohem přesnější, umožňují přesné kvantitativní vyjádření počtu zárodků v určitém prostoru (1 m^3), tyto výsledky jsou dobře srovnatelné. Doba měření je kratší a kolonie jsou rovnoměrněji rozptýlené po živné půdě. Zde využíváme aeroskopu nebo fluorescenčního mikroskopu, jež vyžadují specializovaných odborníků. Nevýhodou této metody je však to, že toto přístrojové vybavení je poměrně nákladnou investicí.[21, 23]

2.6 Metody desinfekce

Desinfekci rozumíme proces, při kterém dochází ke zničení rostoucích forem mikroorganismů nikoliv však spor.

2.6.1 Čištění

Čištění patří k velmi důležitým restaurátorským zásahům, snaha je o přiblížení se původnímu vzhledu a zastavení degradačních procesů vlivem přítomných nečistot, jež bývají dosti často v důsledku působení činnosti lidí nebo různých přírodních katastrof.[21]

Nečistoty, usazené na povrchu a často i uvnitř struktury bývají nejrůznějšího původu. Dostí velkým problémem je právě prach. Prach je směsí solí, sazí, mastnoty, nedokonale spálených uhlovodíkových paliv a řady dalších látek. V této směsi se vyskytuje nejen celá řada mikroorganismů, ale i spor plísní. Plísňe a jejich metabolity patří k velice významným zdrojům obtížně odstranitelného znečištění.[21, 29]

Metody čištění dělíme do dvou skupin: metody mechanické a metody chemické.

Mechanickým čištěním, jež je vstupním krokem konzervačního procesu, se odstraňují nečistoty, které ulpívají pouze na povrchu a kde stačí mechanická síla k rozbití kovalentní vazby mezi špínou a povrchem materiálu. Nejčastěji se tak odstraní hrubé nečistoty, prach a plísňové povrchy. Provádí se velmi opatrně za pomoci vatových tamponů, proto aby nedošlo k poškození povrchu fotografie.[12, 21]

Mechanismus chemického působení:

Využívající vodných roztoků

Využívající organických rozpouštědel

Působící na principu chemické reakce

Pokud používáme látky, využívající chemického mechanismu, platí dodržování důležité zásady: je zapotřebí dodržet účinné koncentrace a doby působení desinfekčních prostředků.[21]

2.6.2 Desinfekční přípravky

Problémem používání desinfekčních prostředků je celá řada faktorů, které na danou chemikálii klademe. Jedná se o poměrně protichůdné požadavky na vysokou smrtící účinnost pro mikroorganismy, a zároveň neškodnost pro člověka, ale samozřejmě je třeba také dbát na to, aby tyto látky nepoškodily v konečném důsledku samotnou archiválii ještě více.[12, 21]

Již dosti velkým problémem bývá samotná volba desinfekčního prostředku, neboť bylo zjištěno, že některé látky místo požadované smrtící účinnosti mají spíše efekt aktivovat spory plísní. Jmenujme některé z nich: ethylenglykol, polyethylenglykol.[24]

Dalším problémem je i dlouhodobý efekt dezinfekce například ošetření párami či těkavými látkami má účinek pouze jednorázový.[21]

Jmenujme některé desinfekční přípravky:

Alkoholy – patří k nejužívanějším desinfekčním prostředkům. Způsobují denaturaci bílkovin mikroorganismů. Byl ověřen dezinfekční účinek metanolu, ethanolu, propanolu, butanolu a

amylalkoholu. Účinné a šetrné je jejich působení ve formě par.[21]

Fenoly – tvoří velmi rozsáhlou skupinu lišící se substituenty. Avšak samotný fenol se pro nízkou účinnost a negativní vedlejší účinky (může narušovat povrch archiválie) prakticky nepoužívá.[21]

Alkylační činidla – mění vlastnosti nukleových kyselin a proteinů, čímž likvidují mikroorganismy i spory. Dosti účinnou látkou se jevílo používání ethylenoxidu, avšak jedná se o toxickou látku, která je ještě navíc karcinogenní a mutagenní.[21]

Kvarterní amoniové soli – Běžně se používá ajatin či septonex. Jsou to mírné desinfekční prostředky bez sporocidního účinku. Doporučuje se používat minimálně 2% vodné či vodně-ethanolové roztoky. Po desinfekci je nutné jejich odstranění ve vodní lázni.[21]

2.6.3 Prevence a současný stav

Proto, abychom nemuseli výše zmíněnou problematiku řešit, je jediné východisko: a to spočívá v prevenci.

První předpoklady k ochraně archiválií jsou dány již samotnou budovou, kde se při stavbách využívá ohnivzdorných materiálů. Stavby se provádějí v suchém terénu. Nově vzniklé budovy by měly mít co největší nosnost stropů tedy kolem 650 kg na m³. Samotnou stavbou nemá procházet žádné (vodovodní, plynové, odpadové) potrubí. Toto potrubí pak může mít za následek možné poškození archiválií.[21, 25]

Depozitáře by měly mít vybudované klimatizační zařízení, které má udržovat stálou teplotu. Je dobré zmínit, že vzduch přítomný v depozitářích se musí pravidelně filtrovat, poněvadž je třeba zabránit pronikání sulfanu, amoniaku, oxidu siřičitému, peroxidu, ozonu, oxidům dusíku a dalším pevným nečistotám. Důležitá je i nutnost pravidelného úklidu a dodržování hygienických norem.[21, 25]

Do depozitářů také nemá proudit přímé sluneční světlo (škodlivost UV záření) proto se zde využívá světelných zdrojů umělých se snadno regulovatelnými a definovatelnými parametry. Doporučená hodnota osvětlení pro zvláště citlivé materiály se pohybuje kolem 50 luxů. A celkově by neměla přesáhnout více než 50 000 luxhodin za rok.[21, 25]

V praxi rozlišujeme, zda se jedná o materiály, u kterých vyžadujeme uložení střednědobé (nejméně 10 let) nebo uložení trvalé.[21]

Při střednědobém uložení nesmí relativní vlhkost vzduchu přesáhnout 60 %. Černobílé filmy vyžadují teplotu pohybující se pod 20 °C, dlouhodobě by neměla překročit hranici 25 °C, krátkodobě 32 °C. Pro barevné filmy se doporučuje udržovat teplotu pod 10 °C.[21]

Při trvalém uložení je třeba zajistit stabilní relativní vlhkost 30 %. Teplota nesmí překročit hranici 21 °C, přičemž jsou upřednostňovány co nejnižší hodnoty. Pro barevné filmy je možná nejvyšší teplota nepřesahující 2 °C.[21]

K dalším a již zmíněným parametrům patří i používání ochranných obalových materiálů, které musí vytvářet vhodné, bezpečné prostředí, chemicky musí být stabilní a inertní vůči fotografickým materiálům. K takovým obalovým materiálům patří plasty.[21]

Důležitou součástí se jeví být i kvalitní zpracování fotografií, ustálení, důkladné praní a samozřejmě i dovozený obsah zbytkových chemikálií.[21]

3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

3.1 Použité chemikálie

Agar powder, bacteriological High Media (Bombay), India

Malt extract agar, High Media (Bombay), India

Orthosan BF 12, Enaspol a.s., Teplice

Destilovaná voda

Hexahydrát dusičnanu hořečnatého, Lachema s.r.o., Brno

Tween 80[®], Fluka AG, Switzerland

3.2 Použité materiály

Petriho misky

Erlenmeyerovy baňky

Zkumavky

Kahan

Očkovací klička

Kádinky

Nálevky

Pinzety

Vana skleněná, hranatá

Búrkerova počítací komůrka

Mikropipeta Biohit Proline 10-100 µl

Mikropipeta Biohit Proline 100-1000 µl

Mikroskop BM6 – INTRACO MICRO

Nikon Eclipse E200 s nástavcem pro polarizované světlo

Fotoaparát Nikon D200

Elektronické váhy KERN, ILABO, spol .s.r.o., Kyjov

Teploměr-vlhkoměr, TESTO, ILABO, spol .s.r.o., Kyjov

Autokláv BMT Medical Technology s r.o., Brno

Biologický inkubátor P 100 – U, BioTech a.s., Praha

X–Rite 500 Series spektrodensitometr, X–Rite Inter Corporation, Michigan

3.3 Použitý software

Microsoft Office

3.4 Použité mikroorganismy

Mikroskopické vláknité houby byly získány z České sbírky mikroorganismů (CCM) Masarykovy Univerzity, Přírodovědecké fakulty, v Brně. Byly použity kultury mikroorganismů: F–330 *Aspergillus niger*, F–432 *Penicillium chrysogenum*.

3.4.1 *Aspergillus niger*

Aspergillus niger (obr. 1) vytváří hnědočerně nebo černě zbarvené konidiální hlavice. Kolonie na Czapkově agaru rostou opravdu velmi rychle a vytvářejí nejprve žlutě zbarvené mycelium, později, v době zralosti, hnědě nebo černě. Toto tmavé zbarvení chrání plíseň před nežádoucím účinkem světla. Spodní strana bývá bezbarvá nebo světle žlutá. Konidiofory vyrůstají většinou přímo ze substrátu, jsou velké 200 až 400×7 až 10 μm, jsou bezbarvé, žluté nebo hnědé pod měchýřkem. Konidiální hlavice mají 30 až 1000 μm v průměru. Měchýřky bývají obvykle kulovité, mají 20 až 60 μm v průměru, jsou bezbarvé nebo lehce žlutohnědé. Fialidy narůstají paprsčitě po celém obvodu měchýřku. Primární fialidy bývají velké 20 až 30×6 až 8 μm, sekundární 6 až 10×2 až 3 μm, obojí tmavého zbarvení.[19]

Optimum růstu se pohybuje okolo 35–37 °C, minimum je kolem 6–8 °C, maximum pak kolem 45–47 °C.[16]

Rozšíření rodu *Aspergillus* je celosvětové, je možné nalézt jej v půdě, na rostlinných a živočišných zbytcích. Právě z toho důvodu, že bývá bohatě vybaven amylolytickými, pektolytickými a proteolytickými enzymy, jež mu pak umožňují degradovat nejrůznější materiály. *Aspergillus niger* je jedním z nejčastěji rozšířených druhů.[16]

K velmi negativním vlastnostem nejen rodu *Aspergillus*, ale i obecně, patří nejen degradace nejrůznějších materiálů, ale i produkce nežádoucích mykotoxinů, jež způsobují závažná onemocnění a alergie u člověka. *Aspergillus niger* byl dlouho považován za netoxigenní, avšak v devadesátých letech byla zjištěna produkce mykotoxinu ochratoxinu A.[16]

Avšak plísně nemají nejen negativní stránku, ale jsou běžně a velmi účelně využívány pro průmyslovou přípravu enzymů, z nichž se například amylolytické a proteolytické využívají v pivovarnictví, pektolytické v konzervárenství při přípravě ovocných šťáv, nebo při výrobě pracích prášků (proteolytické enzymy).[15, 16]

Dále se využívají k produkci antibiotik, k biotechnologické výrobě kyseliny citronové. Nově se uplatňuje využívání plísní například při čištění odpadních vod. V současné době bylo zjištěno, že některé plísně jsou patogenní pro určité druhy hmyzu nebo jsou jejich parazity a používají se proto na výrobu mikrobiálních insekticidů.[16]



Aspergillus niger

3.4.2 *Penicillium chrysogenum*

Kolonie na Czapkově agaru dorůstají v průměru do 5 až 6 cm a mají sametový vzhled. Mají žlutozelenou, šedozelenou, modrozelenou barvu. Někdy bývá střed kolonie světle hnědý nebo žlutavý až bílý. Okrajový lem je bílý 1 až 2 mm široký. Často se tvoří žlutý až žlutohnědý výpotek v bohatých krůpějích, které splývají ve větší kapky. Spodní strana je nejčastěji žlutá, hnědožlutá a žlutý pigment často prolíná do okolního agaru. Konidiofor je 150 až 350 μm dlouhý a 3 až 3,5 μm široký. Štětíčky bývají asymetrické. Na větvích vyrůstá ve svazku 2 až 5 metul o rozměrech 10 až 12 $\times$ 2 až 3 μm . Fialidy jsou v přeslenech po 4 až 6 a mají rozměry 8 až 10 $\times$ 2 až 2,5 μm . Mírně se zužují v konidionosný krček. Konidie jsou oválné nebo elipsoidní o rozměrech 3 až 4 $\times$ 2,5 až 3,5 μm . [19]

Optimum růstu se pohybuje kolem 23 °C, minimum kolem 4 °C a maximum kolem 37 °C. [16]

Penicillium chrysogenum (obr. 2) se vyskytuje hojně v půdě a na různých rostlinných substrátech. Využívá se k produkci antibiotik, mimo tuto produkci však bylo i zjištěno, že produkuje kyselinu glukonovou a manitol. [19]



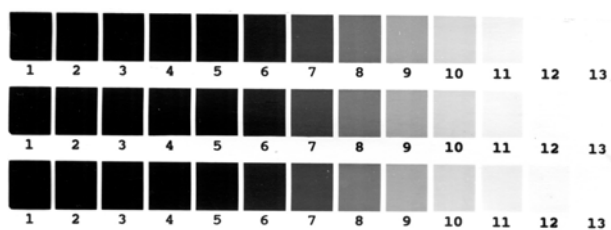
Penicillium chrysogenum

3.5 Fotografický materiál

3.5.1 FOMASPEED

FOMASPEED je universální chlorobromostříbrný černobílý zvětšovací papír na podložce oboustranně laminované polyethylenem (RC). Právě díky polyethylenu má výrazně sníženou nasáklivost vody. Pracuje v neutrálním až mírně teplém tonu a vyznačuje se velmi bohatou stupnicí polotonů od zářivě bílé až po sytě černou. [8]

Doporučuje se skladovat na suchém a chladném místě (relativní vlhkost 40–60 %, teploty 5–21 °C), mimo dosah působení škodlivých par, plynů a ionizujícího záření. [8]

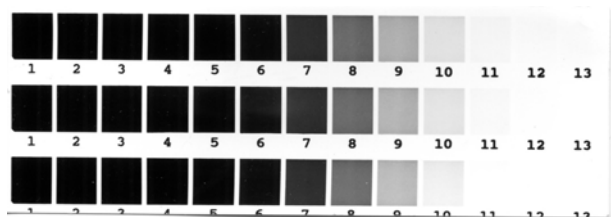


Obr. 3 FOMASPEED

3.5.2 FOMABROM

FOMABROM je universální černobílý papír vyrobený na barytované papírové podložce. Speciální úprava barytováním umožňuje dobrou soudržnost s citlivou vrstvou a brilancí obrazu. Chlorobromostříbrná emulze dodává výslednému stříbrnému obrazu neutrální až mírný teplý ton. Papír se vyznačuje velmi bohatou stupnicí polotonů od zářivě bílé až po sytě černou.[7]

Doporučuje se skladovat na suchém a chladném místě (relativní vlhkost 40–60%, teploty 5–21 °C), mimo dosah působení škodlivých par, plynů a ionizujícího záření.[7]



Obr. 4 FOMABROM

3.6 Příprava fotografií

Obecně lze fotografický proces vzniku snímku shrnout jako přechod od neviditelného latentního obrazu k viditelnému. Latentní obraz je možné za pomoci vývojky přeměnit na obraz viditelný. Samotný proces přípravy fotografických materiálů se skládá z těchto důležitých částí:

- vyvolávání,
- přerušování,
- ustalování,
- praní,
- sušení.

V každé z těchto částí zpracovatelského procesu musí být pečlivě dodržen pracovní postup, neboť i toto je jeden z dosti důležitých předpokladů pro to, aby nedocházelo k samotné degradaci fotografií.

3.6.1 Vyvolávání

Vyvolávání je základním úkonem při zpracovávání fotografických materiálů, které rozhodujícím způsobem ovlivňuje výsledný obrazový záznam. Vyvolávání je selektivní redukci exponovaného halogenidu stříbra vyvolávající látkou, která působí jako redukční činidlo. Předává stříbrnému iontu elektrony a sama přechází na svoji oxidovanou formu.

Schématicky je možné vyvolávání vyjádřit rovnicí:



Vyvolávací látka musí být v disociované formě a tato disociace závisí na pH.[22]

3.6.2 Přerušování

Přerušování je operace praní mezi vyvoláváním a ustalováním. Jeho úkolem je přerušit vyvolávací proces a neutralizovat zbytky vývojky, které by byly jinak přenášeny do ustalovače a zbytečně by tak snižovaly jeho kapacitu. Obvykle se používá 2% roztok kyseliny octové, případně 4% roztok disiřičitanu draselného.[22]

3.6.3 Ustalování

Ustalování je proces, který ovlivňuje trvanlivost a schopnost archivace fotografických materiálů. Ustalování je sled reakcí, jejíž prostřednictvím se převádí nevyvolaný halogenid stříbra na rozpustnou sloučeninu, kterou je možno z fotografického materiálu bez obtíží vymýt vodou. Jedná se zpravidla o vznik komplexních sloučenin, v nichž se stříbrný iont nachází v komplexním aniontu. Nejčastěji se pro ustalování používá thiosíranu sodného, kdy vzniká komplexní sloučenina thiosíranu sodnostříbrného.[22]



3.6.4 Praní

Praní mezi jednotlivými zpracovatelskými lázněmi zejména odstraňuje z fotografického materiálu předchozí lázeň. Tím usnadňuje pochod, probíhající v lázni následující a zároveň tuto lázeň chrání před znečištěním. Ovlivňuje však i působení předchozí lázně.[22]

Praní na závěr zpracovatelského postupu, nazývané konečným praním, má význam pro trvanlivost obrazového záznamu. Dokonalé ustálení a dokonalé vyprání je zárukou dlouho dobé archivovatelnosti obrazových záznamů na fotografických materiálech, u černobílých materiálů je možné počítat s trvanlivostí větší než sto let.[22]

3.6.5 Sušení

Sušením se odstraňuje voda z fotografického materiálu. Negativní fotografické materiály obsahují až 0,02 g vody na 1 cm², pozitivní materiály méně. Sušení fotografických materiálů probíhá pomocí difúze do vzdušného prostředí. Difúze vody při sušení je závislá zejména na relativní vlhkosti a teplotě vzduchu. Nejvýhodnější je relativní vlhkost mezi 30 % až 60 %. Sušení fotografického materiálu musí probíhat rovnoměrně po celé jeho ploše.[22]

3.7 Měření optických hustot

Optické hustoty fotografických materiálů byly měřeny spektrodensitometrem X-Rite 500 před inokulací sporami plísní, po kultivaci a desinfekci.

3.8 Kultivace mikroskopických vláknitých hub

Ke kultivaci mikroskopických vláknitých hub *Aspergillus niger* F-330 a *Penicillium chrysogenum* F-432, byl použitý maltózový agar (malt extract agar, High Media, (Bombay, India), který byl připraven rozpuštěním 7,5 g agaru v 150 ml destilované vody. Živné médium bylo vysterilizované v autoklávu 10 minut při 115 °C, pH 5,4±0,2 a pak nalito do sterilních Petriho misek. Po zchladnutí a ztuhnutí agaru, byly naočkovány jednotlivé kultury. Kultivace proběhla v biologickém inkubátoru P 100 při teplotě 23 °C jeden týden.

3.9 Příprava suspenzí spor

Konidiové suspenze mikroskopických hub (*Aspergillus niger* a *Penicillium chrysogenum*) byly získávány smytím sterilním roztokem 0,05 % Tween 80 (50 ml) z kultur sporulujících na povrchu agarizovaných ploten. Získané suspenze byly filtrované přes sterilní gázu a v suspenzi byla za pomoci počítací Búrkerovy komůrky stanovena koncentrace spor. Pro většinu pokusů byla základní koncentrace spor $1 \cdot 10^7 \text{ ml}^{-1}$. V experimentu byly odzkoušeny další koncentrace: $1 \cdot 10^6 \text{ ml}^{-1}$, $1 \cdot 10^5 \text{ ml}^{-1}$, $1 \cdot 10^4 \text{ ml}^{-1}$ a $1 \cdot 10^3 \text{ ml}^{-1}$. Konečná koncentrace spor v adjustovaných suspenzích byla opětovně prověřována odpočtem partikulí pomocí počítací komůrky.

3.10 Inokulace a kultivace mikroskopických vláknitých hub na fotografiích

Na 58 cm² fotografického materiálu bylo nanášeno 60 µl připravené suspenze spor mikroskopických hub s danou koncentrací. Suspenze byla rozetřena po povrchu pomocí roztírací tyčinky dle Drigalského a nechala se volně uschnout na vzduchu. K tomu, aby nedošlo ke zkreslení výsledků a experiment měl vypovídací hodnotu, bylo zapotřebí, aby povrch fotografie byl dokonale suchý. V diplomové práci byly odzkoušeny dva způsoby umístění infikovaného fotografického materiálu mikroskopickými houbami. Použité bylo umístění vertikální, v skleněné vaně, přičemž byly zvoleny dvě relativní vlhkosti, a to 52 % (nasycený roztok dusičnanu hořečnatého) a relativní vlhkost 92 % (voda). Tento způsob umístění fotografického materiálu pro experiment se neosvědčil. Druhý způsob byl umístění fotografického materiálu horizontálně. K tomuto způsobu byly použité Petriho misky, kde na zakřivenou skleněnou tyčinku byl umístěn infikovaný fotografický materiál. V Petriho miskách byla zvolena relativní vlhkost 92 %. Vzorky byly uloženy v biologickém inkubátoru P 100 při teplotě 23 °C.

3.11 Desinfekce fotografií

Infikované vzorky a kontrolní vzorky fotografického materiálu byly podrobeny desinfekci po ukončení experimentu. Nejdříve byly jednotlivé vzorky dvakrát opláchnuty v destilované vodě po dobu 30 s a nakonec v desinfekčním roztoku 0,05 % Orthosanu BF 12 po dobu 30 s. Desinfikované fotografie se nechaly dokonale uschnout na vzduchu. Nakonec byla změřena optická hustota těchto vzorků.

3.12 Vytváření fotodokumentace experimentů

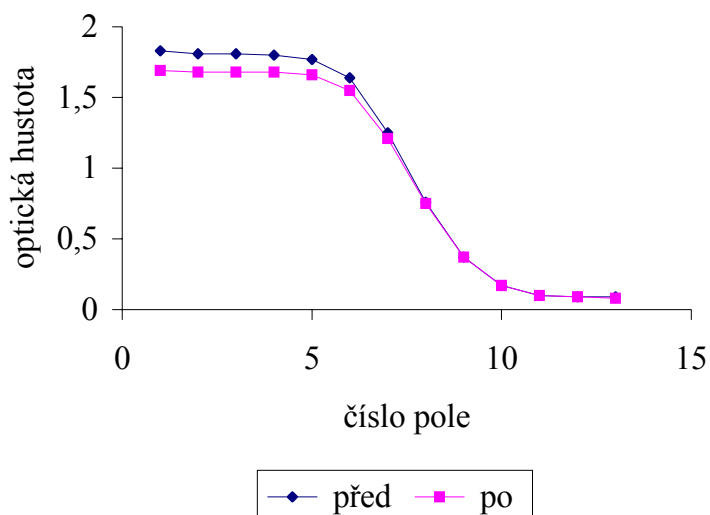
Během experimentu a po jeho ukončení (ještě před desinfekcí), byly jednotlivé vzorky podrobeny hodnocení. Byl sledován mikroskopicky a makroskopicky nárůst plísní v průběhu čtyř týdnů. K vytváření fotodokumentace celého experimentu byl použit mikroskop Nikon Eclipse E200 s nástavcem pro polarizované světlo a fotoaparát Nikon D200.

4 VÝSLEDKY A DISKUSE

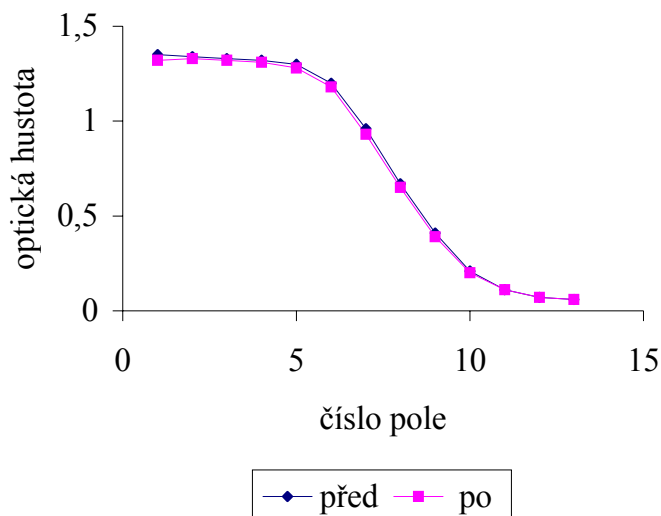
4.1 Desinfekce vzorků

Desinfekce je velice důležitý proces, při kterém dochází ke zničení rostoucích forem mikroorganismů nikoliv však spor. Jak bylo popsáno v kapitole 2.6.2 Desinfekční přípravky, výběr desinfekčních prostředků v praxi není jednoduchý. Často se setkáváme s mnoha problémy, kterými jsou dosti protichůdné požadavky na vysokou smrtící účinnost pro mikroorganismy, a zároveň o neškodnost pro člověka. Dost velkým problémem bývá zejména u fotografického materiálu vybrat přípravek takový, který by nepoškodil a nenarušil samotný materiál ještě více. K častým problémům pak patří stálost desinfekce a opět vhodná volba desinfekčního prostředku, poněvadž některé chemické látky mají místo požadované smrtící účinnosti spíše schopnost aktivovat spory plísní.

Jedním z úkolů diplomové práce bylo zjistit, zda má desinfekční prostředek a používaný postup desinfekce vliv na optické hustoty jednotlivých fotografických papírů (FOMABROM, FOMASPEED). Během experimentu jsme využívali tohoto postupu: nejprve byla změřena optická hustota fotografických papírů za pomoci densitometru, poté byly jednotlivé vzorky nejprve dvakrát opláchnuty v destilované vodě po dobu 30 sekund a nakonec ponořeny na 30 sekund do desinfekčního roztoku 0,05 % Orthosanu BF 12. Pak se materiál nechal uschnout na vzduchu a u dokonale suchých fotografií byla změřena optická hustota.



Obr. 5 Vliv desinfekčního prostředku na optickou hustotu u FOMASPEED



Obr. 6 Vliv desinfekčního prostředku na optickou hustotu u FOMABROM

Z uvedeného grafu (Obr. 5) je patrné, že optická hustota před a po použití desinfekce u FOMASPEED se u malých optických hustot téměř nelišila, avšak v oblasti vysokých optických hustot docházelo k mírnému snižování optické hustoty po použití desinfekčního prostředku Orthosan BF 12, v průměru o 0,12.

Z grafu (Obr. 6) je jasně vidět, že po použití desinfekčního prostředku Orthosan BF 12 nedošlo u fotografického papíru FOMABROM k téměř žádným změnám.

Usoudili jsme tedy, že desinfekční prostředek Orthosan BF 12 se jeví jako vhodný pro desinfekci fotografií na papíru FOMABROM, zatímco pro desinfekci fotografií na papíru FOMASPEED nelze tento postup doporučit.

4.2 Poškození fotografického materiálu plísněmi

Jedním z dalších cílů diplomové práce bylo zjistit míru poškození fotografického materiálu (Fomabrom a Fomaspeed) plísněmi. Jednalo se o plísně: *Aspergillus niger* F-330 a *Penicillium chrysogenum* F-432.

Vzorky fotografického materiálu FOMABROM a FOMASPEED byly kontaminovány suspenzí spor plísní (koncentrace $1 \cdot 10^7 \text{ ml}^{-1}$) *Aspergillus niger* a *Penicillium chrysogenum* a uloženy na skleněnou tyčinku v uzavřené Petriho misce, kde byla navolena relativní vlhkost 92 % (obr. 7). Misky byly uloženy v biologickém inkubátoru při 23 °C. V každé Petriho misce bylo uloženo vždy po jednom kusu z každého druhu fotografického materiálu.

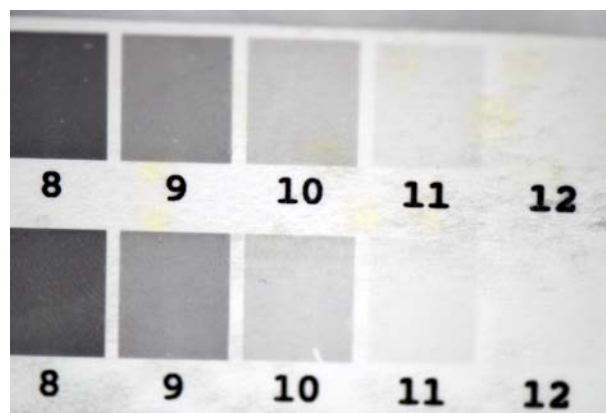
Doba inkubace byla čtyři týdny. Nárůst plísní se kontroloval každý týden. Už po prvním týdnu docházelo k nárůstu plísní na fotografickém materiálu FOMABROM (obr. 8, 9), ale ne na fotografickém materiálu FOMASPEED. Želatinová fotografická vrstva papírů FOMASPEED je stabilizovaná fungicidními přísadami, a tak růst plísní nebyl na těchto papírech pozorovaný. Výjimku tvořil růst mycelií z řezných hran papíru, mezi kaširovanými fóliemi (obr. 10). Na obrázcích 11, 12, 13 je možné vidět detailní záběry plísní. Na tomto typu

fotografického materiálu docházelo při zvýšené relativní vlhkosti i k poškození svrchní části citlivé vrstvy ztekucením želatiny, bez viditelných plísňových mycelií (obr. 16).

Na fotografickém materiálu FOMABROM se nárůst zvyšoval postupně až do skončení experimentu (28 dní), kde povrch fotografických papírů byl z velké části pokryt plísňovým myceliem (obr. 14, 15). Docházelo i k narušení citlivé vrstvy fotografického materiálu (obr. 17). Toto je způsobené především vlivem enzymatické činnosti těchto plísní. Tato jejich činnost se zvýraznila ještě po desinfekci, což bylo spojené s dalším namáháním materiálu. Docházelo k postupnému odlupování svrchní části citlivé vrstvy po vysušení (obr. 20). Na takto poškozených vzorcích se nedala změřit optická hustota. Na detailním snímku možno pozorovat míru jejího poškození (obr. 21). Před a po skončení experimentu byla změřena optická hustota těchto vzorků. Poté byly výsledky za pomoci MS EXCEL zpracovány do grafů (Obr.22, 23, 24, 25, 26).



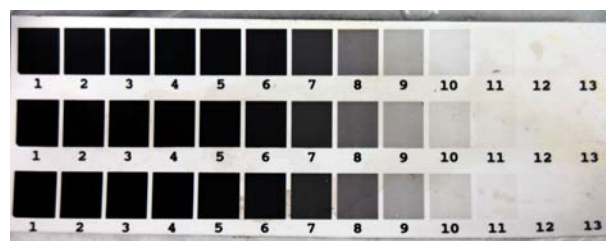
Obr. 7 FOMABROM a FOMASPEED



Obr. 8 Nárůst plísní po první týdnu na FOMABROM



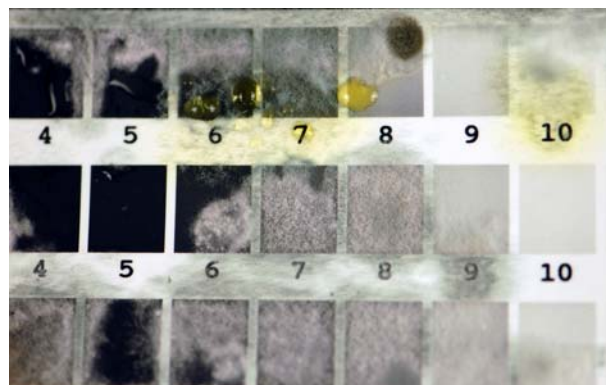
Obr. 9 Nárůst plísní po prvním týdnu na FOMABROM



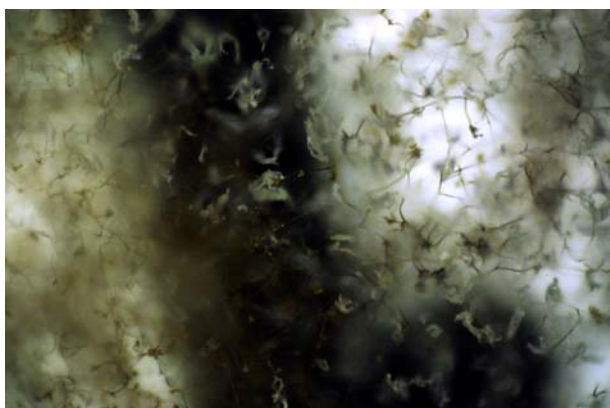
Obr. 10 Nárůst plísní na řezných hranách FOMASPEED



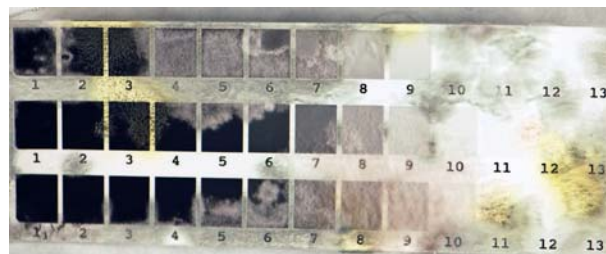
Obr. 11 Detailní záběr plísní *Aspergillus niger* na řezné hraně papíru



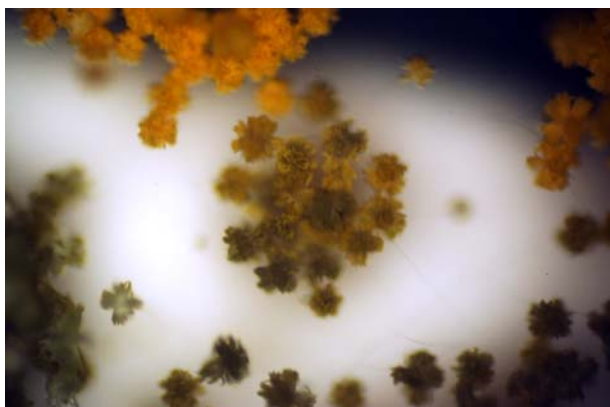
Obr. 14 Nárůst plísní po čtyřech týdnech na FOMABROM



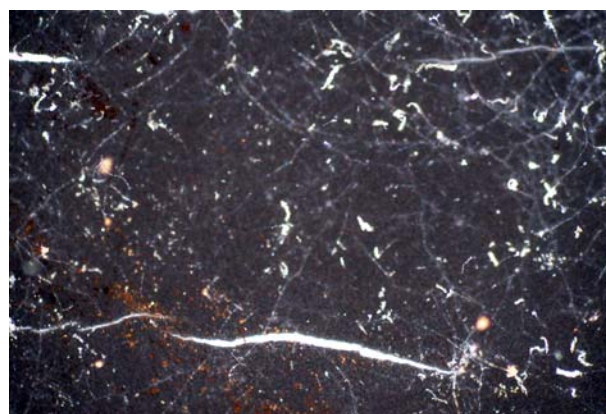
Obr. 12 Detailní záběr plísní *Penicillium chrysogenum*



Obr. 15 Nárůst plísní po čtyřech týdnech na FOMABROM



Obr. 13 Detailní záběr plísní *Penicillium chrysogenu*



Obr. 16 Poškození fotografického materiálu plísněmi



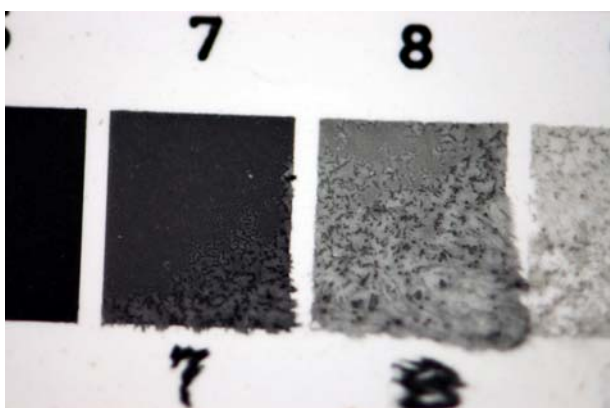
Obr. 17 Detailní záběr poškození fotografického materiálu



Obr. 20 Po desinfekci



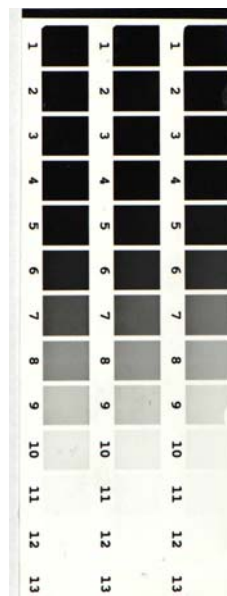
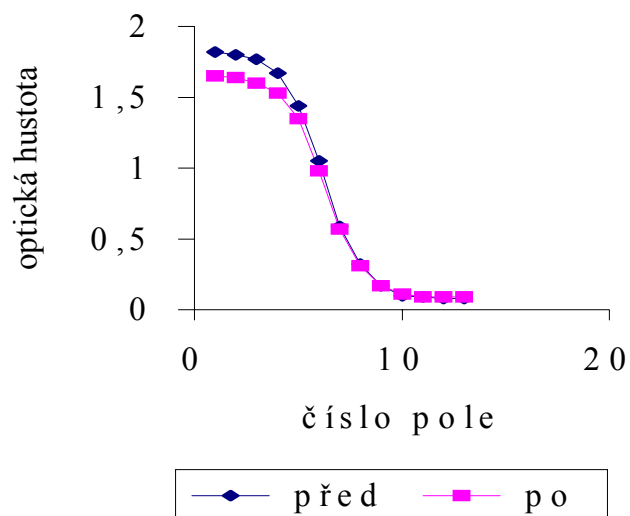
Obr. 18 Nárůst plísní po čtyřech týdnech na FOMASPEED



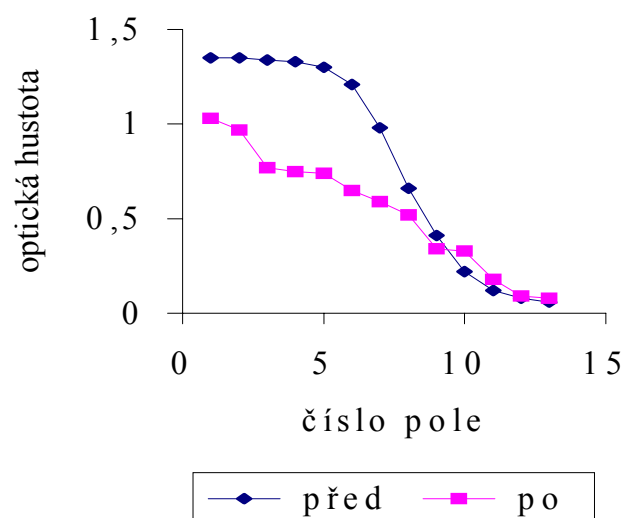
Obr. 19 Detailní záměr nárůstu plísní po čtyřech týdnech na FOMASPEED



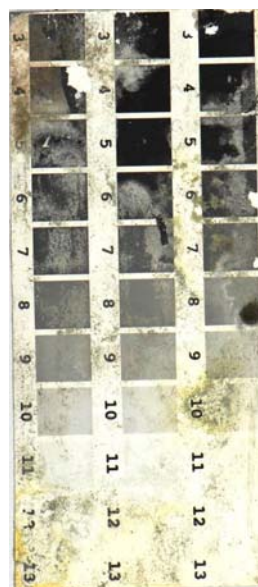
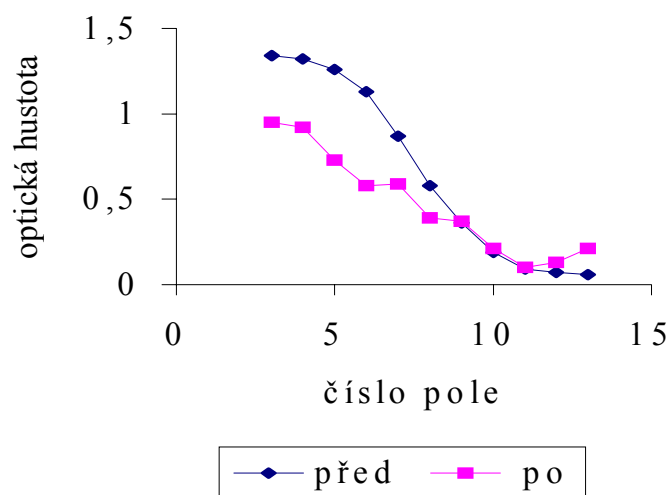
Obr. 21 Po desinfekci – detail



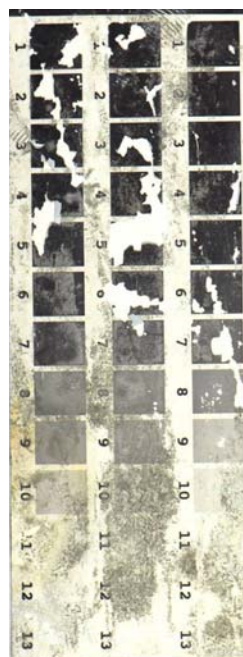
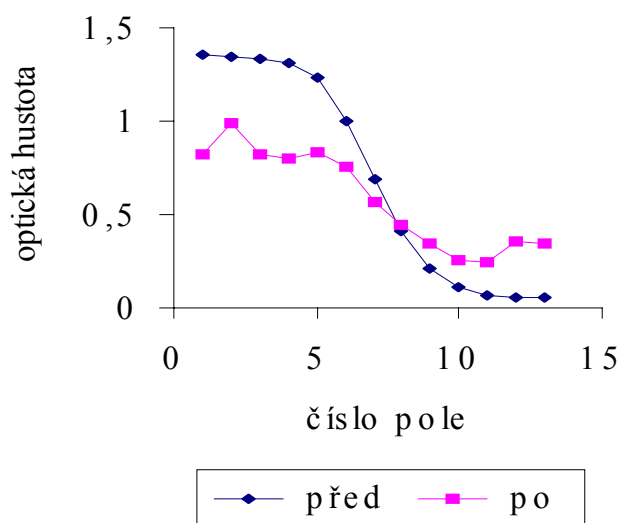
Obr.22 Optická hustota před a po inokulaci *Penicillium chrysogenum* (FOMASPEED)



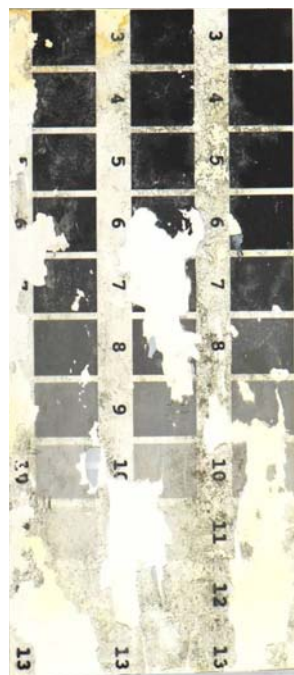
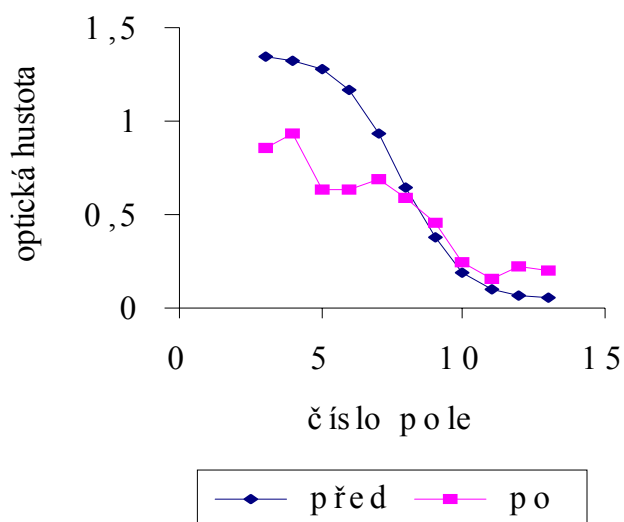
Obr.23 Optická hustota před a po inokulaci *Penicillium chrysogenum* (FOMABROM)



Obr.24 Optická hustota před a po inokulaci *Penicillium chrysogenum* (FOMABROM)



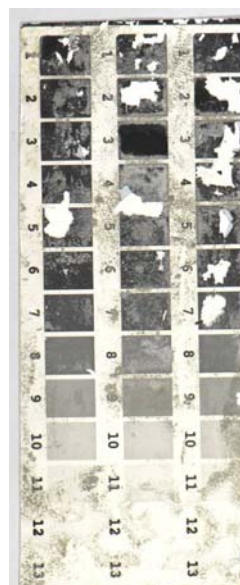
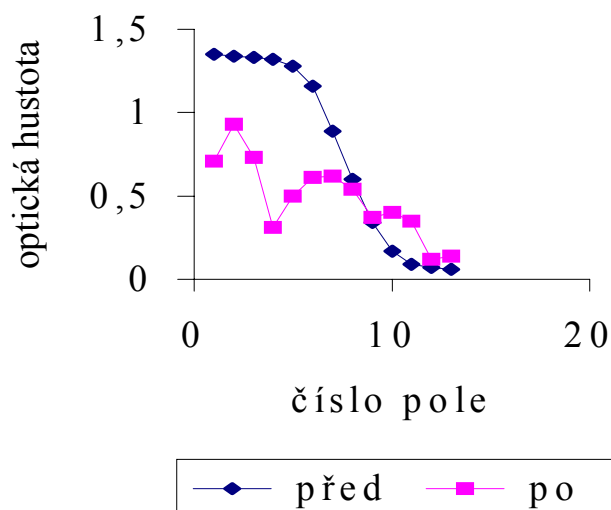
Obr.25 Optická hustota před a po inokulaci *Penicillium chrysogenum* (FOMABROM)



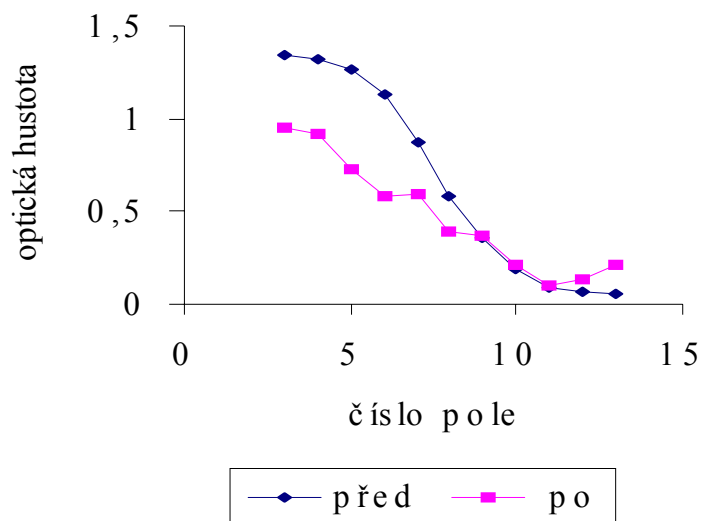
Obr.26 Optická hustota před a po inokulaci *Penicillium chrysogenum* (FOMABROM)

4.3 Vliv koncentrací spor plísňí na poškození fotografií

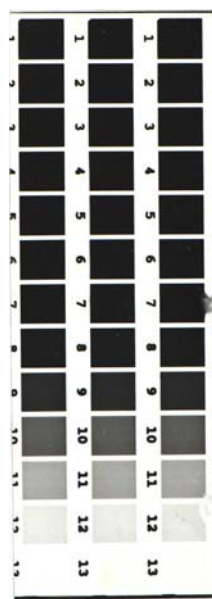
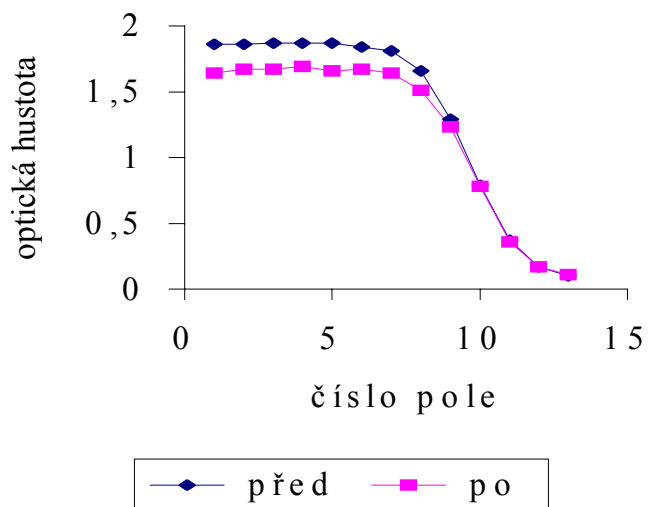
Jedním z dalších cílů diplomové práce bylo zjistit, zda mají použité koncentrace spor ($1 \cdot 10^7 \text{ ml}^{-1}$, $1 \cdot 10^6 \text{ ml}^{-1}$, $1 \cdot 10^5 \text{ ml}^{-1}$, $1 \cdot 10^4 \text{ ml}^{-1}$ a $1 \cdot 10^3 \text{ ml}^{-1}$) plísňí *Aspergillus niger* a *Penicillium chrysogenum* vliv na míru poškození fotografických papírů (FOMABROM, FOMASPEED).



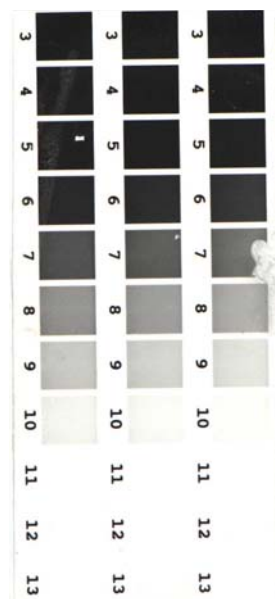
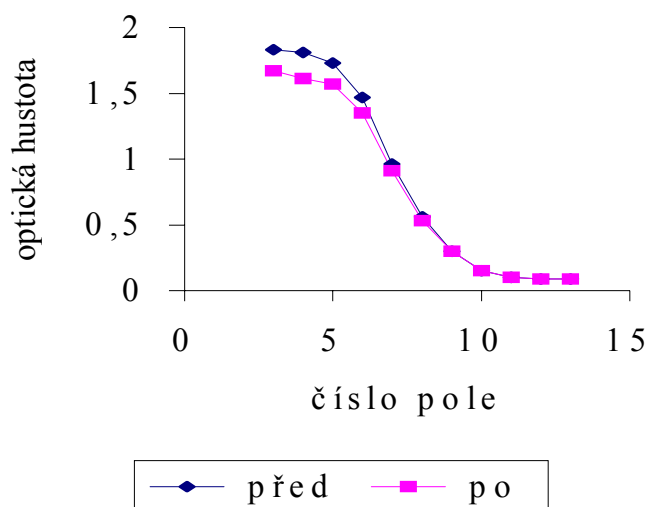
Obr.27 Optická hustota před a po inokulaci *Penicillium chrysogenum* při použité koncentraci $1 \cdot 10^7 \text{ ml}^{-1}$ (FOMABROM)



Obr.28 Optická hustota před a po inokulaci *Penicillium chrysogenum* při použité koncentraci $1 \cdot 10^4 \text{ ml}^{-1}$ (FOMABROM)



Obr.29 Optická hustota před a po inokulaci *Penicillium chrysogenum* při použité koncentraci $1 \cdot 10^7 \text{ ml}^{-1}$ (FOMASPEED)

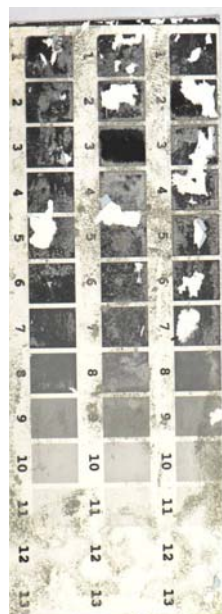
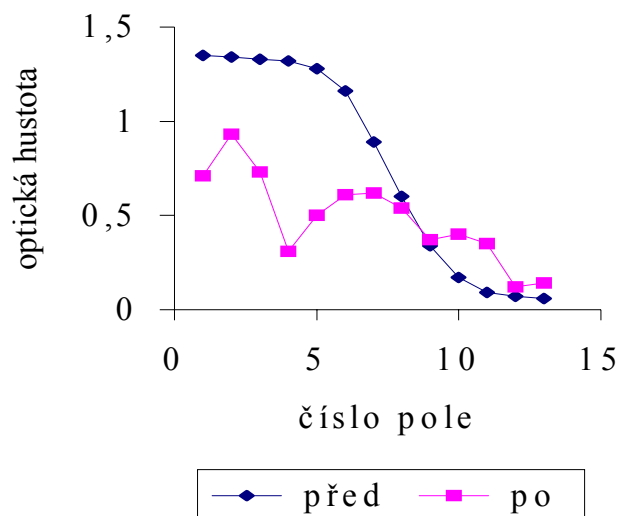


Obr.30 Optická hustota před a po inokulaci *Penicillium chrysogenum* při použité koncentraci $1 \cdot 10^4 \text{ ml}^{-1}$ (FOMASPEED)

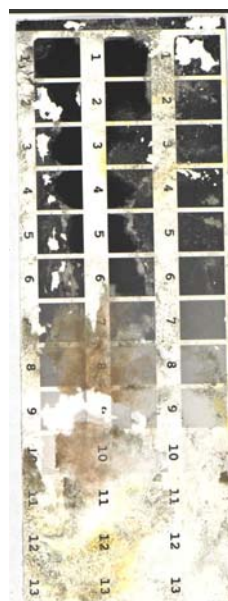
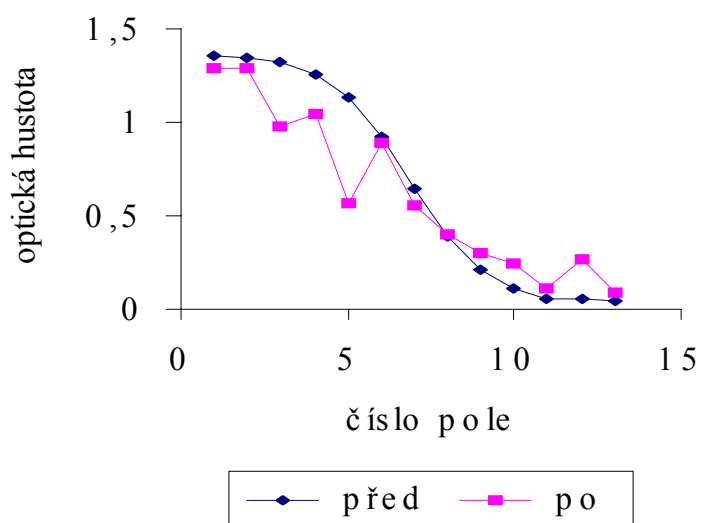
Z uvedených grafů pro FOMABROM (obr. 27, 28) a FOMASPEED (obr.29, 30) je jasné patrné, že výraznější degradace se objevuje zejména u vyšších koncentrací spor plísní (použitá koncentrace $1 \cdot 10^7 \text{ ml}^{-1}$) než u koncentrací nižších ($1 \cdot 10^4 \text{ ml}^{-1}$), což je jistě způsobené vyšším počtem partikulí na fotografickém papíru. Z uvedených grafů si opět můžeme ověřit fakt, že při stejné koncentraci spor je fotografický papír FOMABROM více narušen, zatímco papír FOMASPEED odolal působení plísní. Zřejmě želatinová fotografická vrstva tohoto materiálu je lépe stabilizovaná proti účinkům plísní.

4.4 Degradční účinek *Aspergillus niger* a *Penicillium chrysogenum* na fotografický materiál

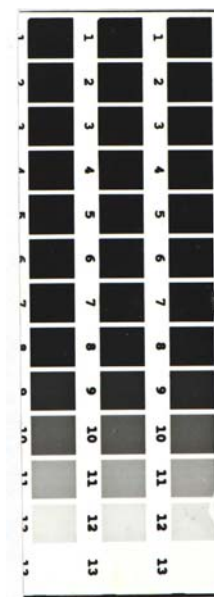
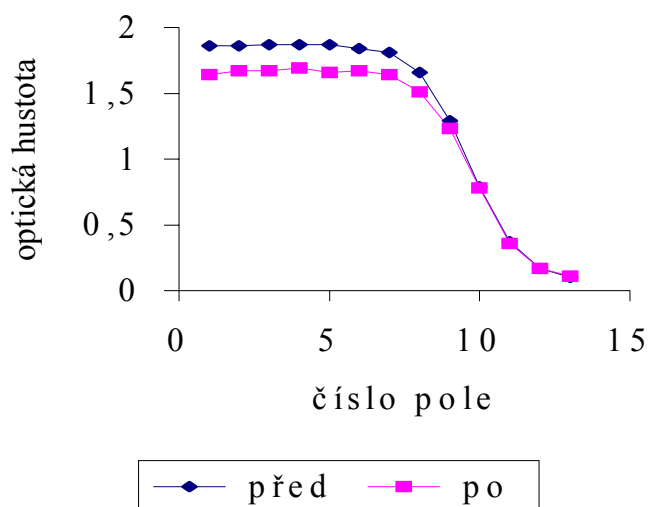
Dalším cílem bylo zjistit, která z plísní *Aspergillus niger*, *Penicillium chrysogenum* má výraznější degradační účinek. K tomuto porovnání byla použita stejná koncentrace $1 \cdot 10^7 \text{ ml}^{-1}$, fotografický papír FOMABROM a FOMASPEED



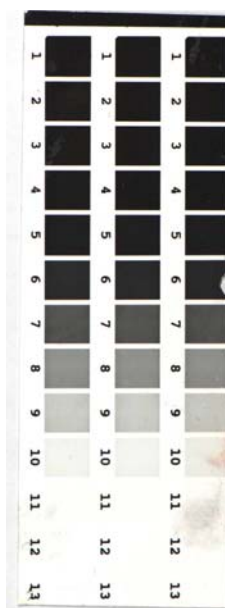
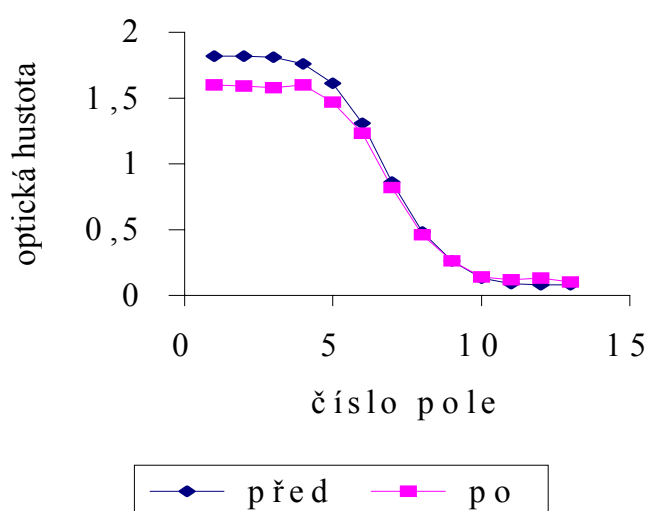
Obr.31 Optická hustota před a po inokulaci *Penicillium chrysogenum* při použité koncentraci $1 \cdot 10^7 \text{ ml}^{-1}$ (FOMABROM)



Obr.32 Optická hustota před a po inokulaci *Aspergillus niger* při použité koncentraci $1 \cdot 10^7 \text{ ml}^{-1}$ (FOMABROM)



Obr.33 Optická hustota před a po inokulaci *Penicillium chrysogenum* při použité koncentraci $1 \cdot 10^7 \text{ ml}^{-1}$ (FOMASPEED)



Obr.34 Optická hustota před a po inokulaci *Aspergillus niger* při použité koncentraci $1 \cdot 10^7 \text{ ml}^{-1}$ (FOMASPEED)

Z uvedených grafů je vidět, že výraznější degradační účinek způsobuje plíseň *Penicillium chrysogenum*, což je zřejmě způsobeno její výraznější proteolytickou aktivitou. Opět je jasné vidět, že zřetelnější degradační účinek je bez ohledu na použitou plíseň vidět u fotografického materiálu FOMABROM.

5 ZÁVĚR

Problém mikrobiální degradace fotografií v muzejních a archivních sbírkách je stále celosvětově aktuální. Především je to způsobené nevhodným skladováním archiválií, kde se uplatňuje zřetelný vliv faktorů jako jsou nevhodná teplota, vlhkost, nečistoty, nevhodný obalový materiál, špatná cirkulace vzduchu.

Existence značného množství fotografických materiálů nesoucí cenné historické, umělecké a estetické, vědecké obrazové záznamy s sebou přináší i povinnost ochrany našeho kulturního dědictví.

Pro studium mikrobiální degradace fotografických materiálů byly vybrány mikroskopické vláknité houby *Aspergillus niger* F-330 a *Penicillium chrysogenum* F-432, které jsou bohatě vybavené proteolytickými enzymy a napadají tak nejcitlivější místo fotografického materiálu želatinu.

V experimentální části byl použit spektrodensitometr X-Rite 500, pro měření optické hustoty, která se měřila před a po inokulaci. Byl použit fotografický materiál FOMABROM a FOMASPEED. Po skončení experimentu jsme za pomoci fotoaparátu Nikon Eclipse E200 s nástavcem pro polarizované světlo celý experiment zdokumentovali. Takto získané fotografie jsou důležitou součástí našeho experimentu a některé z nich jsou uvedené v kapitole 4. Výsledky a diskuze.

Pokusem jsme ověřili účinnost desinfekčního prostředku OrthosanBF 12, tento desinfekční prostředek nepoškozuje fotografické papíry FOMABROM, ale snižuje optické hustoty u fotografických papíru FOMASPEED. Proto je zapotřebí hledat nové desinfekční prostředky pro tento druh papíru.

Potvrdili jsme, fotografický materiál FOMASPEED je skutečně odolný vůči působení spor mikroskopických vláknitých hub, neboť želatinová fotografická vrstva u FOMASPEED je lépe stabilizovaná fungicidními přísadami.

Při použití různě velkých koncentrací ($1 \cdot 10^7 \text{ ml}^{-1}$, $1 \cdot 10^6 \text{ ml}^{-1}$, $1 \cdot 10^5 \text{ ml}^{-1}$, $1 \cdot 10^4 \text{ ml}^{-1}$ a $1 \cdot 10^3 \text{ ml}^{-1}$) jsme potvrdili, že koncentrace spor má při inokulaci významný efekt. Největší degradační účinek se projevil u nejvyšší koncentrace ($1 \cdot 10^7 \text{ ml}^{-1}$).

Ve všech pokusech se ukázalo, že degradační účinek plísně *Penicillium chrysogenum* je značně agresivnější než *Aspergillus niger*. Docházelo i k jevu, že citlivá vrstva se oddělovala od podkladu po silném působení dané plísně.

Experimentální práce prokázali, že při dlouhodobém působení 92% relativní vlhkosti by docházelo k nenávratnému poškození fotografických materiálů, proto je důležité dodržovat preventivní opatření a zabránit tak účinně tomuto negativnímu efektu. Třeba neustále monitorovat životaschopnost spor, které můžou přilnout na povrch fotografických materiálů a tím je značně znehodnotit.

6 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

1. SCHLEMMER, J. *Technologie fotografie*. Praha, 1972. 252 s.
2. *Fotografie*[online]. [2004] [cit.2008-05-03]. Dostupný z www: <<http://cs.wikipedia.org/wiki/fotografie>>.
3. JIRÁČEK, M., et al. *Technické základy fotografie*. Praha: 2002. 208 s.
4. Van de BOSH, Edith, GIELENS, Constant. Gelatin degradation at elevated temperature. *International Journal of biological Macromolecules* [online]. 2003 [cit.2009-01-28], s. 129-136. Dostupný z www: <http://www.sciencedirect.com/science?_ob=ArticleListURL&_method=list&_ArticleListID=586795695&_sort=d&view=c&_acct=C000050221&_version=1&_urlVersion=0&_userid=10&md5=ad16029988cef2a7a9340d7d04bcebb8>.
5. ROSICKÁ, J. *Mikrobiální degradace želatiny*. Brno, 2007. 39 s. Bakalářská práce na Fakultě chemické Vysokého učení technického v Brně, Ústavu chemie potravin a biotechnologií. Vedoucí bakalářské práce RNDr. Mária Veselá, Ph.D.
6. URBAN, M. *Filmová laboratoř*. Praha: Akademie múzických umění, 2001. 120 s.
7. FM Brom. Dostupné z www: <<http://www.foma.cz>>
8. FM Speed. Dostupné z www: <<http://www.foma.cz>>.
9. *Gelatin* [online]. c.2007 [cit.2009-02-02]. Dostupný z www: <<http://www.answers.com/topic/gelatin?cat=health>>.
10. *Produkty: želatina* [online]. c2005 [cit.2009-05-03]. Dostupný z www: <<http://www.hages.cz/produkty.htm>>.
11. COLE, B. *Food science* [online]. 2000 [cit.2008-11-4]. Dostupný z www: <<http://www.gelatin.co.za/glt1.html>>.
12. BACILKOVÁ, B. *XIII.Seminář restaurátorů a historiků*. Třeboň: 2006. s 200-213.
13. ABRUSCI, C., et al. Biodegradation of type - B gelatine by bacteria isolated from cinematographic film. *Elsevier* [online]. 2004 [cit.2007-06-02]. s. 283-291. Dostupný z www: <http://www.sciencedirect.com/science?_ob=ArticleListURL&_method=list&_ArticleListID=582578592&_sort=d&view=c&_acct=C000050221&_version=1&_urlVersion=0&_userid=10&md5=ee4445440b39a75c48df66372d03fdd1>.
14. FILIPČÍKOVÁ, M. *Výskyt mikroorganismů v muzejních sbírkách*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2007. 35 s. Vedoucí bakalářské práce RNDr. Mária Veselá, Ph.D.
15. VESELÁ, M. *Praktikum z obecné mikrobiologie*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2004. 100 s.
16. ŠILHÁNKOVÁ, L. *Mikrobiologie pro potravináře a biotechnology*. Praha : Academia, 2002. 363 s.
17. VODRÁŽKA, Z. *Biochemie*. Sv. 1. Praha: Academia, 2002.
18. ŠUPINOVÁ, L. *Fotokatalytická inaktivace kvasinek*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2008. 74 s. Vedoucí diplomové práce RNDr. Mária Veselá, Ph.D.
19. FASSATIOVÁ, O. *Plísňe a vláknité houby v technické mikrobiologii*. Praha: Nakladatelství technické literatury, 1979. 210 s.
20. *Mucor fungus* [online] c.2000 [cit.2009-03-21]. Dostupný z www:

- <<http://www.allergyconsumerreview.com/mold-spore-mucor-fungus.html>>.
21. DUROVIČ, M. *Restaurování a konzervování archiválií a knih*. Praha: Nakladatelství Paseka, 2002. 517 s.
 22. VESELÝ, M., DZIK, P., ZITA, J. *Fotografické procesy*. Brno: Vysoké učení technické, Fakulta chemická. 2005. 116 s.
 23. ODVÁRKOVÁ, J. *Mikrobiologická kontaminace rukopisu a vzácných tisku a jejich kontrola*. [online]. 2002 [cit.2008-03-03]. Dostupný z [www](http://www.svkol.cz/konf/98hrad06.html): <<http://www.svkol.cz/konf/98hrad06.html>>.
 24. BUKOVSKÝ, V. Plesně v knihnách a archívech. Dostupné z [www](http://www.snk.sk/knihnica/11_12_2001/ochr_3.html): <http://www.snk.sk/knihnica/11_12_2001/ochr_3.html>.
 25. ŠTOURAČOVÁ, J. *Úvod do archivnictví*. Brno: Masarykova univerzita. 2002. 139 s.
 26. ROSYPAL, S., et al. *Nový přehled biologie*. Praha: Scientia, 2003.
 27. *Gelatine : products* [online]. 2007 [cit. 2008-08-10]. Dostupný z [www](http://www.gelita.com/): <<http://www.gelita.com/>>.
 28. LOURENCO, M, et al. Microbial deterioration of gelatin emulsion photographs: differences of susceptibility between black and white and colour materials. *Elsevier* [online]. 2008 [cit.2009-05-05], s. 496-503.
 29. ABRUSCI, C, et al. Isolation and identification of bacteria and fungi from cinematographic films. *Elsevier* [online]. 2005 [cit.2008-08-28], s. 58-68. Dostupný z [www](http://www.sciencedirect.com/science?_ob=ArticleListURL&_method=list&_ArticleListID=582578592&_sort=d&view=c&_acct=C000050221&_version=1&_urlVersion=0&_userid=10&md5=ee4445440b39a75c48df66372d03fdd1): <http://www.sciencedirect.com/science?_ob=ArticleListURL&_method=list&_ArticleListID=582578592&_sort=d&view=c&_acct=C000050221&_version=1&_urlVersion=0&_userid=10&md5=ee4445440b39a75c48df66372d03fdd1>.