

فصلنامه علمی - پژوهشی زیست‌شناسی میکروارگانیسم‌ها
سال دوم، شماره ۷، پاییز ۱۳۹۲، صفحه ۵۳-۶۸
تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۱۲/۰۶ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۰۶/۱۵

شناسایی و تفکیک قارچ‌ها به روش ATR-FTIR در یک مجموعه آثار چرمی مربوط به عصر سلجوقی

علیرضا کوچکزایی: دانشجوی دکتری مرمت اشیاء فرهنگی و تاریخی، دانشگاه هنر اصفهان، ایران، alireza.k.1989@gmail.com*
حسین احمدی: استادیار مرمت اشیاء فرهنگی و تاریخی، دانشگاه هنر اصفهان، ایران، h.ahmadi@ui.ac.ir
محسن محمدی آچاجلویی: دانشجوی دکتری مرمت اشیاء فرهنگی و تاریخی، دانشگاه هنر اصفهان، ایران، mohsen.mohammadi@ui.ac.ir

چکیده

مقدمه: آسیب‌های زیستی نقش مهمی در تخریب آثار تاریخی از جمله چرم، دارند. در این میان میکروارگانیسم‌ها، از مهم‌ترین عوامل تخریب زیستی هستند. شناخت قارچ‌ها و سایر میکروارگانیسم‌های موجود بر چرم و سایر آثار تاریخی، در درک بهتر صدمات و خسارات احتمالی ناشی از آن‌ها که زمینه‌ساز انتخاب راهکار صحیح برخورد با اشیاء است، ضرورت و اهمیت دارد. روش‌های معمول شناسایی پاتوژن‌ها و قارچ‌ها، بسته به نوع روش، معمولاً همراه با مشکلاتی است و در این بین طیف‌سنجی FTIR به‌عنوان روشی موفق در تشخیص و شناسایی میکروارگانیسم‌ها معرفی شده‌است.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه، نمونه‌هایی از اشیاء چرمی تاریخی مربوط به عصر سلجوقی، برای شناسایی جنس قارچ‌ها، در محیط SDA کشت یافت و بر اساس ویژگی‌های ماکروسکوپی، میکروسکوپی و ریخت‌شناسی شناسایی شد. سپس میکروارگانیسم‌ها با هدف امکان‌سنجی تفکیک و شناسایی بر اساس ویژگی‌ها ساختاری به روش ATR-FTIR، ارزیابی شدند. در این راستا، از دو شیوه‌ی ارزیابی ویژگی‌های طیفی بر اساس شکل و موقعیت پیک و تحلیل خوشه‌ای بر اساس مساحت زیر نمودار و موقعیت پیک استفاده شد.

نتایج: قارچ‌های شناسایی شده مربوط به جنس‌های پنی‌سیلیوم (۹ مورد، ۳۳/۳ درصد)، آسپرژیلوس (۵ مورد، ۱۸/۵ درصد)، کلادوسپوریوم (۴ مورد، ۱۴/۸ درصد)، رایزوکتونیا (۲ مورد، ۷/۴ درصد)، تریکوفیتون (۱ مورد، ۳/۷ درصد) و مخمر (۱ مورد، ۳/۷ درصد) بود. جنس دو گونه از قارچ‌ها (۲ مورد، ۷/۴ درصد) نیز شناسایی نشد و در ۳ نمونه (۱۱/۱ درصد) نیز رشد میکروارگانیسم‌ها مشاهده نشد. بررسی نوارهای جذبی طیف‌های ATR-FTIR نمونه‌های کشت‌یافته، گویای برخی تفاوت‌های ساختاری در بین میکروارگانیسم‌ها (قارچ، مخمر، باکتری) و نیز در سطح جنس و بعضاً گونه‌ی قارچ‌ها بود.

بحث و نتیجه‌گیری: فعالیت قارچ‌ها آسیب‌هایی چون تجزیه، هیدرولیز و تخریب ساختار چرم و تانن‌های گیاهی، تغییرات بصری و نیز مشکلات متعدد برای افرادی که با این آثار در تماس‌اند را در پی دارد. از این‌رو، حذف این عوامل و درمان مناسب آثار، برای جلوگیری از گسترش آسیب به ساختار چرم، امری ضروری است. بررسی ساختار قارچ با استفاده از طیف‌سنجی ATR-FTIR نتایج مناسبی در مورد امکان تفکیک قارچ، مخمر و باکتری به دست داد. FTIR، ابزاری کمابیش مناسب برای تفکیک و شناسایی آسان و سریع میکروارگانیسم‌ها و جنس‌های مختلف قارچ است. همچنین، در برخی موارد امکان تفکیک در سطح گونه نیز وجود دارد. مزایای این روش در مقایسه با روش‌های معمول دیگر، FTIR را به ابزاری مناسب در بررسی قارچ‌ها در مقیاس بزرگ تبدیل می‌کند. از این‌رو طیف‌سنجی IR در کنار سایر روش‌های معمول شناسایی، بهبود بهره‌وری در طبقه‌بندی و شناسایی قارچ‌ها را در پی دارد. علاوه بر این، با توجه به مشخص کردن ترکیب شیمیایی در این روش، می‌توان از آن در درک بهتر فرآیندهای شیمیایی پیچیده در رشد قارچ و تخریب بستر، استفاده کرد.

واژه‌های کلیدی: چرم‌های تاریخی، تخریب زیستی، قارچ، ATR-FTIR، ویژگی‌های طیفی

مقدمه

آسیب‌های زیستی نقش مهمی در تخریب آثار تاریخی از جمله چرم، دارند. در این میان میکروارگانیسم‌ها، از مهم‌ترین عوامل تخریب زیستی هستند (۱). گونه‌های مختلفی از قارچ و کپک، معمولاً به موادی مانند کاغذ، پارچه، چوب، رنگ‌ها و چرم حمله و علایم شناخت مناسبی بر روی اشیاء ایجاد می‌کنند (۲). اکثر این قارچ‌ها از گونه‌های آلرژن شایع هستند و برخی قابلیت تولید مایکوتوکسین^۱ را دارند. بنابراین، برای انسان‌های در تماس با این آثار، خطرناک هستند (۳). آن‌ها از راه استنشاق اسپور سمی و تماس مستقیم پوستی وارد بدن شده و می‌توانند باعث بیماری‌های مختلفی شوند (۴). همچنین، یکی دیگر از نگرانی‌های اصلی در زمینه‌ی کلونیزاسیون قارچی، تغییرات در ویژگی‌های بصری از طریق تغییر رنگ به وسیله‌ی اسیدهای ضعیف تولید شده توسط قارچ و یا تجمع رنگدانه‌ها که ایجاد لکه‌های مختلفی می‌کند، است (۵). همه آثار چرمی دارای ساختاری پروتئینی هستند، که شرایط مناسبی برای رشد قارچ‌های پروتئولیتیک^۲ دارند که به تجزیه ساختار چرم و صدمات جبران‌ناپذیر به آن‌ها منجر می‌شود (۶). تخریب زیستی مواد آلی به‌عنوان یک فرآیند بازیافت بسیار با اهمیت است، اما در مورد آثار موزه‌ای، این فرآیند آسیب به مستندات تاریخی را در بر دارد و موجب از دست دادن اطلاعات با ارزشی می‌شود (۷). بنابراین، شناخت قارچ‌های موجود بر چرم و سایر آثار تاریخی، در درک بهتر صدمات و خسارات احتمالی ناشی از آن‌ها، که زمینه‌ساز انتخاب راهکار صحیح برخورد با اشیاء است، ضرورت و اهمیت دارد. در ارتباط با بررسی قارچ‌های

آسیب‌رسان در آثار تاریخی چرمی و آسیب‌های زیستی ناشی از آن‌ها گزارش‌هایی منتشر شده‌است (۱، ۲، ۸-۱۰). در این میان، اسپرژیلوس و پنی‌سیلیوم از شایع‌ترین کپک‌ها در ارتباط با کپک‌زدگی چرم و کاغذ پوست معرفی شده‌اند (۱۱). با این حال کپک‌های دیگری نیز وجود دارند که به تخریب اشیاء پوستی منجر می‌شوند (۱۲ و ۱۳). فعالیت میکروارگانیسم‌ها محدود به قارچ‌ها و کپک‌ها نیست و گروهی از باکتری‌ها همچون *استرپتومایست‌ها*^۳ نیز، نقش مهمی در تخریب آثار دارند (۱۴). روش‌های معمول شناسایی پاتوژن‌ها و قارچ‌ها، بسته به نوع روش، معمولاً همراه با مشکلاتی چون حساسیت کم، زمان‌بر بودن، هزینه‌ی بالا و عدم شناسایی گونه‌های جدید است و به‌طور معمول در تعداد نمونه‌های زیاد قابل استفاده نیستند (۱۵-۱۸). در میان روش‌های پیشنهادی برای بررسی سریع، روش‌های زیست‌شناسی مولکولی^۴ به‌عنوان روش‌های سریع و حساس برای شناسایی در نظر گرفته می‌شوند. اما این روش‌ها هنوز در مقیاس بزرگ کارآمد نیستند (۱۶ و ۱۸). در این بین تشخیص و شناسایی میکروارگانیسم‌ها با استفاده از روش‌های اسپکتروسکوپی^۵ به‌دلیل حساسیت، سرعت، هزینه‌ی پایین، سادگی روش و عدم استفاده از ترکیبات مضر شیمیایی قابل بررسی و مطالعه است (۱۶ و ۱۹). طیف‌سنجی مادون قرمز تبدیل فوریه (FTIR) از جمله تکنیک‌های طیف‌سنجی در بررسی ساختاری مواد است که با توجه به میزان جذب پرتوهای عبوری مادون قرمز بر اساس ارتعاش مولکولی پیوندهای موجود در ساختار مواد (به ویژه ترکیبات آلی)، می‌تواند برای ارزیابی ساختاری به کار رود. با توجه به مشخص شدن ویژگی‌های ساختاری و مولکولی در این شیوه، از این

مواد و روش‌ها

در این بررسی نمونه‌هایی مربوط به یک مجموعه شیء چرمی شامل: مشکک، کفش و بقایایی از خز، پوست و سایر اشیاء چرمی که در جریان آواربرداری سال ۱۳۸۵ محوطه‌ی تاریخی قلعه کوه قاین در استان خراسان جنوبی کشف شده‌بود، مطالعه شد. این آثار که منسوب به دوره‌ی سلجوقی‌اند (قرن ۱۱ تا ۱۳ میلادی)، از زمان کشف تا کنون، تحت مالکیت سازمان میراث فرهنگی، صنایع دستی و گردشگری استان خراسان جنوبی واقع در بیرجند، هستند. برای شناسایی نوع قارچ، از روش کشت در محیط سابورو دکستروز آگار (SDA؛ محصول شرکت کیولب^۷ کانادا) استفاده شد. شیوه‌ی تهیه، مطابق روش پیشنهادی تولیدکننده (۶۵ گرم در هر لیتر) بود. روش کشت، بر اساس اصول مطرح شده در استانداردهای ملی ایران، شماره‌ی ۹۸۹۹ و ۳۱۹۴ بود (۳۳ و ۳۴). ابزار و محل نمونه برداری، با استفاده از آب ژاول، اتانول و اشعه‌ی UV، و محیط کشت تهیه شده در اتوکلاو با دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد و فشار ۲۰ psi به مدت ۱۵ دقیقه استریل شدند. نمونه‌ها پس از کشت، به مدت ۱۸ روز در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۷۰ درصد، قرار گرفتند. شایان ذکر است محفظه انکوباتور نیز پیش از قرارگیری نمونه‌ها، ضد عفونی شده بود. برای شناسایی قارچ‌ها، ویژگی‌های میکروسکوپی آن‌ها از جمله شکل، رنگ و سرعت رشد کلونی بررسی شدند. پس از آن ویژگی‌های میکروسکوپی شامل: صفات ریخت‌شناسی و ویژگی‌های ظاهری قارچ‌ها با میکروسکوپ نوری (مدل BK-POL/BK-POLR ساخت کمپانی آلشن^۸ کشور چین) بررسی شد. پس از شناسایی جنس قارچ‌ها،

روش می‌توان در ابعاد گسترده‌ای از علوم زیستی برای دستیابی به اهداف مختلف، استفاده کرد. از جمله روش‌های این طیف‌سنجی شیوه‌ی انعکاسی یا طیف‌بینی انعکاس کل تضعیف‌شده تبدیل فوریه مادون قرمز (ATR-FTIR^۶) است که به ارزیابی پرتوهای انعکاس یافته از نمونه می‌پردازد. یکی از مزایای این شیوه نسبت به روش عبوری، حداقل مراحل مورد نیاز برای آماده‌سازی نمونه و نیز ارزیابی نمونه‌های مختلف که امکان ثبت طیف عبوری آن‌ها وجود ندارد، است. طیف FTIR از هر ترکیب شناخته شده، اثر انگشت منحصر به فردی را ارائه می‌کند (۲۰). از این رو بر اساس برخی مطالعات، طیف‌سنجی FTIR به‌عنوان روشی موفق در تشخیص و شناسایی میکروارگانیسم‌ها مطرح شده‌است (۱۷ و ۲۱). از این روش در موارد گوناگونی همچون تشخیص و شناسایی سلول‌های سرطانی (۲۲ و ۲۳)، سلول‌های آلوده به ویروس (۲۴) و میکروارگانیسم‌ها همچون قارچ‌ها (۱۶، ۱۸، ۱۹، ۲۵-۳۰) استفاده شده است. این روش، شیوه‌ای سریع در تفکیک قارچ‌ها در سطح جنس است (۱۸) و در برخی موارد نیز امکان تفکیک در سطح گونه نیز وجود دارد (۳۱ و ۳۲). در راستای آنچه گفته شد، تعدادی شیء چرمی تاریخی مربوط به دوره‌ی سلجوقی (با قدمتی حدود ۸۰۰ سال) با هدف شناسایی قارچ‌های موجود بر روی آن‌ها بر اساس ویژگی‌های میکروسکوپی، میکروسکوپی و ریخت‌شناسی بررسی شدند. پس از شناسایی، برخی از آن‌ها با هدف امکان‌سنجی تفکیک و شناسایی میکروارگانیسم‌ها به وسیله‌ی طیف‌بینی انعکاس کل تضعیف‌شده تبدیل فوریه مادون قرمز (ATR-FTIR) بر اساس ویژگی‌های ساختاری، ارزیابی شدند.

ساختار پروتئینی چرم منجر می‌شوند. پروتئازهایی مانند کلاژنازها و کراتینازهای حاصل از آسپرژیلوس و پنی‌سیلیوم را می‌توان از عوامل شایع در آسیب آثار بررسی شده دانست (۴۴). فعالیت قارچ‌ها به تجزیه پروتئین‌ها به آمینو اسیدها منجر می‌شود و برخی از اسیدهای آلی را تولید می‌کند؛ که نتیجه‌ی آن هیدرولیز الیاف کلاژن و تخریب چرم است (شکل ۱).

در بین قارچ‌های شناسایی شده، بیش‌تر گونه‌ها مربوط به دو جنس آسپرژیلوس و پنی‌سیلیوم است، که با توجه به همه‌جایی بودن این دو جنس، قابل توجیه است (۳۶). در گزارش‌های منتشر شده نیز، معمولاً بیش‌ترین درصد قارچ‌ها را در آرشیو و موزه‌ها دارا هستند (۱، ۳۷ و ۳۸). در آثار چرمی و پوستی، کلاژن و کراتین، بخش اعظم پروتئین موجود در ساختار آن‌ها را شامل می‌شود. این قارچ‌ها با تولید آنزیم‌های پروتئاز (۳۹-۴۳) به تجزیه



شکل ۱- چپ: بقایای لنگه کفشی چرمی (SH2 Tri)؛ a: کلونی‌های سفید تشکیل شده بر روی سطح چرم مربوط به قارچ تریکوفیتون؛ b: لکه‌های قرمز ایجاد شده توسط فعالیت قارچ؛ راست: شکل^{۱۵} SEM از مقطع عرضی لکه‌های قرمز با بزرگنمایی ۵۰۰۰ برابر که نشان‌دهنده نفوذ قارچ به لایه‌های زیرین چرم و تخریب شدید الیاف کلاژن است که به شکل کاهش استحکام و پودری شدن الیاف سطحی چرم دیده می‌شود (آرشیو نگارنده)

می‌شود که در نهایت به تشکیل سیتریک اسید و پروئیک اسید منجر می‌شوند (۴۵-۵۰). تشکیل این اسیدها افزایش شدت هیدرولیز در الیاف کلاژن را نیز در پی دارد. این قارچ‌ها علاوه بر تخریب ساختار چرم، سمومی را تولید می‌کنند که می‌تواند برای افرادی که در تماس با آن‌ها هستند، مضر باشد. این قارچ‌های آلرژی‌زا با توجه به قابلیت تولید مایکوتوکسین (۲، ۳ و ۳۵) مشکلات متعددی را برای افراد ایجاد می‌کنند و از راه استنشاق اسپور سمی و تماس مستقیم پوستی وارد بدن شده و می‌توانند باعث بیماری‌های مختلفی شوند (۴).

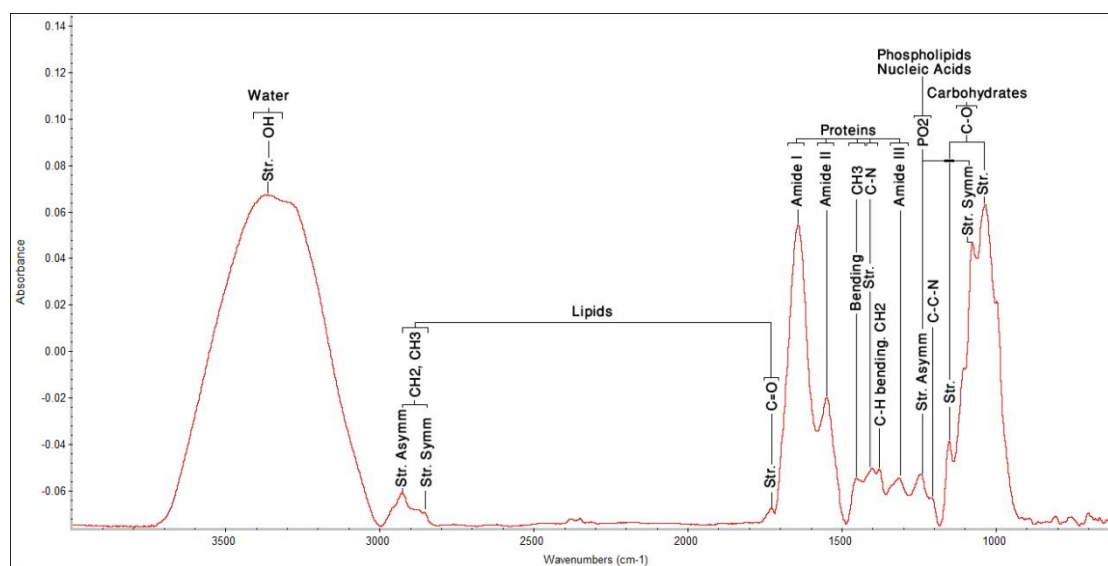
همچنین قارچ‌ها و باکتری‌ها چه در شرایط هوازی و غیر هوازی، جدا از هیدرولیز و تخریب الیاف کلاژن، هیدرولیز تانن‌های گیاهی را نیز در پی دارند. به‌عنوان مثال، کاتشین^{۱۶} که از مهم‌ترین تانن‌های گروه متراکم^{۱۷} شونده است، تحت تأثیر قارچ‌ها و باکتری‌ها هیدرولیز شده، که نتیجه‌ی آن تشکیل اسیدهای آلی است. نتیجه فعالیت در شرایط بی‌هوازی، هیدرولیز کاتشین و تشکیل متابولیت‌های اسیدی^{۱۸} است. در شرایط هوازی نیز ترکیباتی چون بتا-کتوآدیپات^{۱۹}، پروتوکاتکوئیک^{۲۰}، فلوروگلوکوسینول کربوکسیلیک اسید^{۲۱} و کاتکول^{۲۲} تولید

(۱۶) و 1417cm^{-1} (C-N) (۱۸) مربوط به ترکیبات پروتئینی موجود در قارچ است. جذب‌هایی در محدوده‌ی 1730cm^{-1} (C=O) (۱۶ و ۵۴)، 2856cm^{-1} و 2930cm^{-1} (CH_3 و CH_2) (۱۸، ۳۰ و ۵۵) اشاره به ساختار چربی‌های قارچ دارد. پیک‌های موجود در 1076cm^{-1} و 1243cm^{-1} مربوط به PO_2 در فسفولیپیدها (۱۶، ۱۹ و ۵۴) و یا اسیدهای نوکلئیک (۱۸) است. همچنین، پیک‌های 1034cm^{-1} و 1152cm^{-1} اشاره به C-O در کربوهیدرات‌ها (پلی ساکاریدها) دارند (۱۸ و ۵۶). در این محدوده، بتا (۱-۳) پلی ساکاریدها^{۳۳} در حدود 1150 ، 1100 و 1078cm^{-1} ، بتا (۱-۳) گلوکان^{۳۴} در 1035cm^{-1} ، گالاکتومانان‌ها^{۳۵}، بتا (۱-۳) پلی ساکاریدها در 1015cm^{-1} ، بتا (۱-۶) گلوکان‌ها^{۳۶} در 990cm^{-1} و مانان‌ها^{۳۷} در حدود 965cm^{-1} جذب‌هایی را دارند (۱۸). طیف جذبی در 3372cm^{-1} به OH آب (۱۸) مربوط است و 1378cm^{-1} نیز اشاره به پیوند C-H در CH_2 (۱۶) دارد. همچنین جذب در حدود 1209cm^{-1} اشاره به C-C-N دارد (۱۶).

آسپرژیلوس قابلیت تولید زهرابه‌های آفلاتوکسین B1^{۳۳}، G1 و M1، اکراتوکسین A^{۳۴}، پاتولین^{۲۵}، استریگما توسیستین^{۲۶} و سیکلوپیزونسور^{۲۷} و پنی‌سیلیوم توانایی تولید اکراتوکسین A، سیتترین^{۲۸}، پاتولین، سیکلوپیزونسور و پنی‌ترم A^{۲۹} را دارد. همچنین کلادوسپوریوم می‌تواند فاگی کلادوسپوریک اسید^{۳۰} و اپی کلادوسپوریک اسید^{۳۱} تولید کند (۵۱ و ۵۲). قارچ‌های جنس کلادوسپوریوم و پنی‌سیلیوم به‌عنوان عوامل ایجاد آسم شناخته شده‌اند و جنس آسپرژیلوس عامل طیف وسیعی از بیماری‌هایی است که تحت عنوان آسپرژیلوزیس^{۳۲} شناخته می‌شود (۵۳).

تفکیک بر اساس شکل و موقعیت پیک در طیف ATR-FTIR

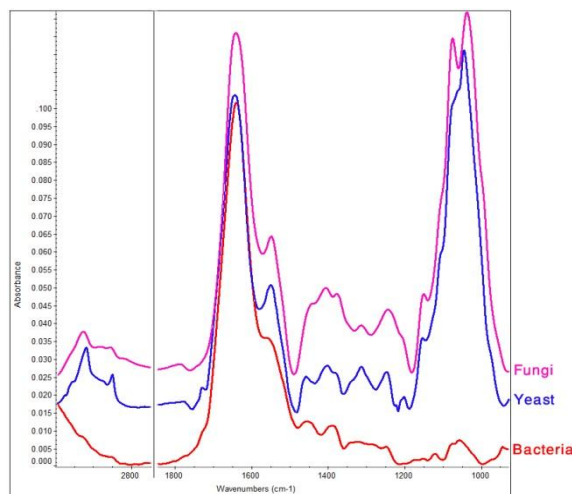
شکل ۲، دیاگرام ATR-FTIR، مربوط به قارچ (کد نمونه‌ی P8 در جدول ۲) را نشان می‌دهد. در این دیاگرام، برخی از مهم‌ترین گروه‌های عاملی موجود در ساختار قارچ مشخص شده‌است. باندهای جذبی 1642cm^{-1} (Amide I)، 1550cm^{-1} (Amide II) و 1453cm^{-1} (Amide III) (۱۸)، 1315cm^{-1} (CH₃) (۵۴)



شکل ۲- گروه‌های عاملی کلی موجود در طیف ATR-FTIR قارچ (پنی‌سیلیوم) در محدوده‌ی $4000-600\text{cm}^{-1}$ پس از تصحیح خط زمینه

دارد. در کلادوسپوریوم، در حدود 997cm^{-1} (برای پلی‌ساکاریدها) بر خلاف جنس‌های دیگر جذبی نمی‌توان مشاهده کرد و در تریکوفیتون جذب مربوط به گالاکتومانان‌ها و بتا (۱-۳) پلی‌ساکاریدها در دیواره‌ی سلولی، در حدود 1010cm^{-1} دیده می‌شود. علاوه بر این، نوار جذبی قارچ تریکوفیتون از نظر شکل و شدت جذب، به روشنی با جنس‌های دیگر، متفاوت است. نمونه‌ی آسپرژیلوس نیز با داشتن دو جذب مشخص در 1222 و 1349cm^{-1} که در نمونه‌های دیگر چندان قابل مشاهده نیست و عدم مشاهده‌ی دو جذب در حدود 1315 و 1378cm^{-1} بر خلاف سایر نمونه‌ها، از قارچ‌های دیگر تفکیک پذیر است. همچنین شدت جذب حدود 1450cm^{-1} در آسپرژیلوس کاهش قابل توجهی دارد. در نمونه‌ی رایزوکتونیا، جذب در 1378cm^{-1} ، شدت آن افزایش یافته و همچنین در 1325cm^{-1} طیف جذبی مربوط به پلی‌ساکاریدها نسبت به سایر قارچ‌ها شکلی شارپ‌تر و نوک تیزتر دارد، که در دیگر نمونه‌ی بررسی شده نیز (کد نمونه Rh2 در جدول ۲)، قابل مشاهده بود و علاوه بر آن سایر قارچ‌ها این جذب را در حدود 1035cm^{-1} نشان می‌دهند. تفاوت‌های جزئی دیگری نیز همچون 1743cm^{-1} برای C=O در کلادوسپوریوم و برخی موارد دیگر نیز قابل مشاهده است. براساس ویژگی‌های ماکروسکوپی در نمونه‌های جنس کلادوسپوریوم، احتمالاً سه گونه با ویژگی‌های کلونی متفاوت وجود دارد. شکل ۵، طیف‌های ATR-FTIR این قارچ‌ها را نشان می‌دهد. براساس ویژگی‌های ماکروسکوپی، Cla1 و Cla2 مربوط به یک گونه، Cla3 نیز گونه‌ای دیگر و همچنین Cla4 و Cla5 نیز احتمالاً متعلق به گونه‌ی دیگری از جنس کلادوسپوریوم هستند. بر این اساس، طیف‌های

در شکل ۳، تفاوت‌های ساختاری بین قارچ، مخمر و باکتری بر اساس تفاوت در نوارهای جذبی طیف ATR-FTIR ارزیابی شده است. تفاوت واضحی میان نوار جذبی باکتری (رنگ قرمز) با طیف‌های مخمر و قارچ به ویژه در بازه‌ی ۹۰۰ تا 1200cm^{-1} مربوط به ترکیبات پلی‌ساکارید (۲۹) وجود دارد. همچنین شدت جذب در محدوده‌ی ۲۸۰۰ تا 3000cm^{-1} برای گروه‌های CH_2 و CH_3 بسیار کاهش یافته است. تفکیک نوارهای جذبی ATR-FTIR مربوط به مخمر و قارچ کمی مشکل‌تر است. مطابقت طیف مخمر با طیف‌های جذبی کلیه قارچ‌های بررسی شده، گویای کاهش شدید شدت جذب مخمر در حدود ۱۰۷۵ تا 1080cm^{-1} نسبت به قارچ‌هاست. این طیف اشاره به بتا (۱-۳) پلی‌ساکاریدها در دیواره‌ی سلولی قارچ‌ها و یا گروه عاملی PO_2 در فسفولپید و نوکلئیک اسیدها دارد.

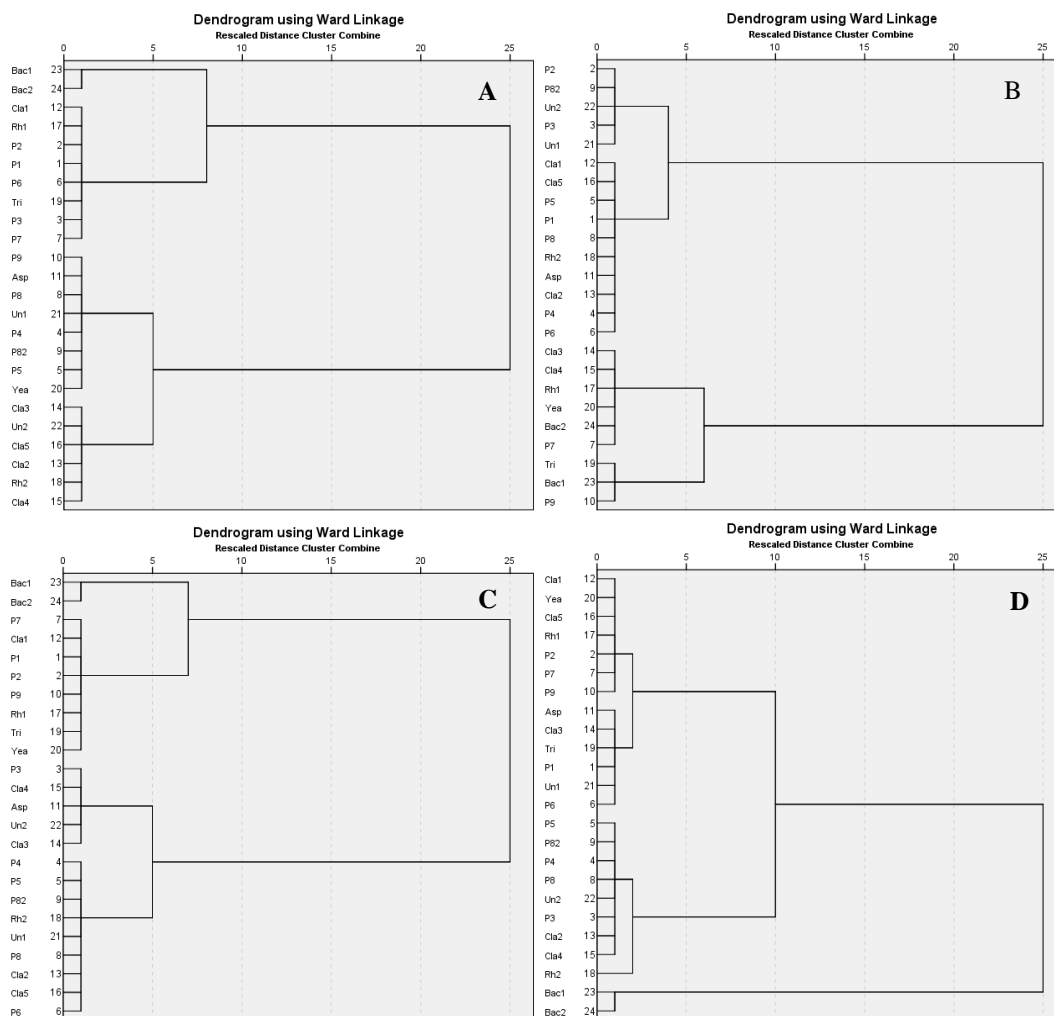


شکل ۳- مقایسه نوار جذبی طیف ATR-FTIR قارچ، مخمر و باکتری

بررسی طیف ATR-FTIR گونه‌هایی از جنس‌های رایزوکتونیا، کلادوسپوریوم، آسپرژیلوس، پنی‌سیلیوم و تریکوفیتون در شکل ۴، نشان از برخی تفاوت‌های ساختاری در نوارهای جذبی جنس‌های مختلف قارچ

نمونه‌های کلادوسپوریوم (شکل ۴)، می‌توان عنوان کرد که میزان چربی در قارچ کلادوسپوریوم به مراتب بیش‌تر از پنی‌سیلیوم است. باکتری‌ها نیز با توجه به نتایج حاصل، در بازه‌های ۲۸۰۰ تا 3000 cm^{-1} و 1185 cm^{-1} از جنس‌های مختلف قارچ تفکیک‌پذیر هستند و در محدوده‌ی ۹۰۰ تا 1185 cm^{-1} به طور کامل از قارچ‌ها و مخمرها جداسازی شده‌اند. این بازه به ترکیبات پلی‌ساکاریدی مربوط است که در ساختار باکتری میزان آن بسیار کم‌تر از قارچ و مخمر است و می‌تواند در تفکیک آن‌ها استفاده شود.

با توجه به تعداد نمونه‌های هر گروه از قارچ‌ها، هدف از خوشه‌بندی بیش‌تر تفکیک کلادوسپوریوم و پنی‌سیلیوم است. در مورد سایر قارچ‌ها، با توجه به تعداد محدود آن‌ها که در حدود ۱ یا ۲ نمونه است، تفکیک به این روش ممکن نیست. با وجود این، ارزیابی در محدوده‌ی ۲۸۰۰ تا 3000 cm^{-1} ، امکان جداسازی قارچ‌های کلادوسپوریوم را تا حدودی فراهم می‌آورد. این محدوده که به گروه‌های CH_2 و CH_3 مربوط است، در نمونه‌های کلادوسپوریوم، تقریباً مساحت بیش‌تری را نسبت به قارچ پنی‌سیلیوم در بر می‌گیرد و با در نظر گرفتن میزان بیش‌تر $\text{C}=\text{O}$ در محدوده‌ی 1740 cm^{-1}



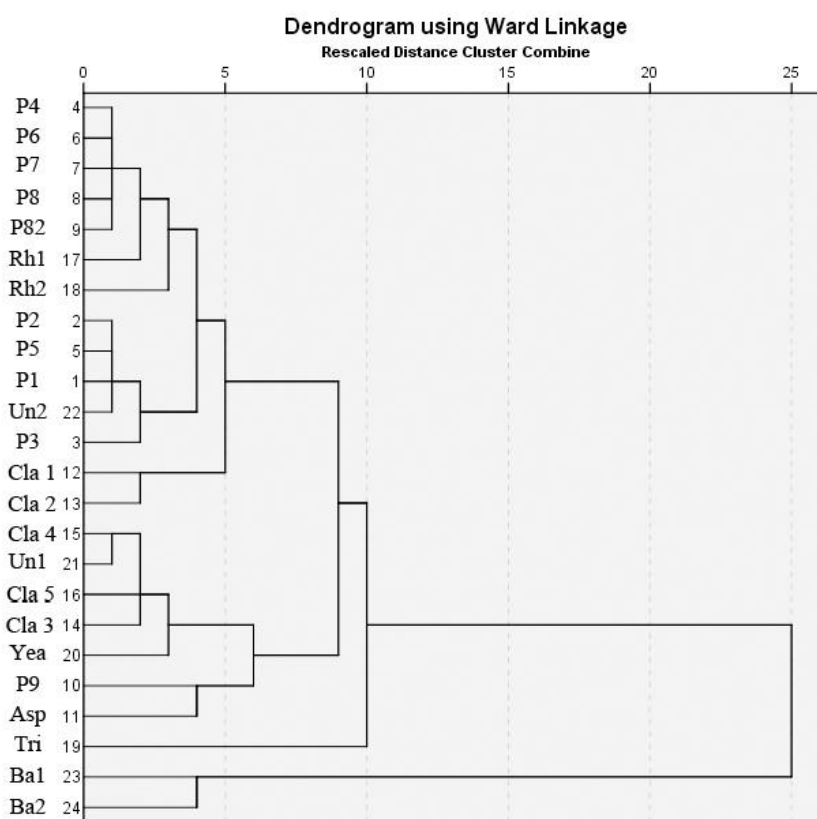
شکل ۶- نتایج تحلیل خوشه‌ای بر اساس مساحت زیر نمودار طیف‌های ATR-FTIR، پس از تصحیح خط زمینه در چهار محدوده‌ی

(A) 2800 تا 3000 cm^{-1} ، (B) 1485 تا 1780 cm^{-1} ، (C) 1185 تا 1485 cm^{-1} و (D) 900 تا 1185 cm^{-1}

دهنده‌ی امکان تفکیک این قارچ به این شیوه‌است. اما در مورد قارچ کلادوسپوریوم، گونه‌های این قارچ در دو دسته‌ی مجزا قرار دارند. با وجود این، گونه‌های مشابه Cla1,2 و Cla4,5، خوشه‌هایی مشابه دارند، که نشان دهنده‌ی تفکیک‌پذیری این قارچ در سطح گونه‌است. در این بررسی، مخمر و آسپرژیلوس نیز، تا حدودی نسبت به سایر قارچ‌ها تفکیک‌پذیر هستند. اما در این نمودار، با وجود تشابه قارچ‌های رایزوکتونیایا، امکان تفکیک آن‌ها از جنس پنی‌سیلیوم امکان‌پذیر نیست.

تحلیل خوشه‌ای بر اساس موقعیت پیک در طیف‌های ATR-FTIR

شکل ۷، نمودار تحلیل خوشه‌ای بر اساس عدد موجی پیک‌های مربوط به آزمون ATR-FTIR نمونه‌های قارچ و دیگر میکروارگانیسم‌ها را نشان می‌دهد. در این بررسی، باکتری‌ها به طور کامل از سایر میکروارگانیسم‌های بررسی شده تفکیک‌پذیر هستند و قارچ تریکوفیتون نیز در خوشه‌ای مجزا نسبت به سایر قارچ‌ها قرار گرفته‌است. نمونه‌های پنی‌سیلیوم نیز به جز کد نمونه‌ی P9، در خوشه‌های مشابه قرار دارند که نشان



شکل ۷- نتایج تحلیل خوشه‌ای بر اساس عدد موجی مربوط به پیک‌های ATR-FTIR در محدوده‌ی ۶۰۰ تا 4000cm^{-1}

عوامل متعددی در تخریب آثار چرمی دخیل‌اند؛ که دسته‌ی مهمی از آن‌ها عوامل زیستی و به ویژه قارچ‌ها هستند. بررسی اشیاء چرمی قلعه کوه قاین، نشان‌دهنده‌ی فعالیت قارچ‌هایی از جنس پنی‌سیلیوم، آسپرژیلوس، کلادوسپوریوم، رایزوکتونیایا و تریکوفیتون و نیز باکتری

بحث و نتیجه‌گیری

آثار چرمی با ارزشی در گذر زمان، باقی مانده و امروزه در بسیاری از موزه‌ها و آرشیوها دیده می‌شوند. ساختار چرم بسیار آسیب‌پذیر بوده و از این رو سرعت تخریب آن نسبت به بسیاری از آثار دیگر، بیش‌تر است.

بر اساس موقعیت و شکل پیک، امکان تفکیک گونه‌های قارچ نیز، وجود دارد. در موارد بررسی شده، این روش در تفکیک گونه‌های مورد بررسی جنس کلادوسپوریوم عملکرد مناسبی از خود نشان داد. بر اساس نتایج تحلیل آماری مساحت زیر نمودار به روش خوشه‌ای نیز می‌توان گفت، این شیوه به سبب تفاوت در میزان چربی در جنس‌های پنی‌سیلیوم و کلادوسپوریوم، تا حدودی می‌تواند در تفکیک آن‌ها، در محدوده‌ی 2800 تا 3000 cm^{-1} مورد استفاده قرار گیرد و عملکرد مناسبی در تفکیک قارچ و باکتری به ویژه در ناحیه 900 تا 1185 cm^{-1} مربوط به پلی‌ساکاریدها دارد. اما تحلیل آماری خوشه‌ای بر اساس عدد موجی مربوط به پیک‌ها، عملکرد مناسب‌تری در تفکیک قارچ‌ها و سایر میکروارگانیسم‌ها از خود نشان داد. در این شیوه تفکیک‌پذیری تعداد بیش‌تری از قارچ‌ها ممکن بود. جدا از آن، نمونه‌های P8 و P82 که به یک کلونی مربوط هستند، در این شیوه، تشابه بیش‌تری را نسبت به ارزیابی مساحت زیر نمودار نشان می‌دهند. از این رو، می‌توان FTIR را در کنار سایر روش‌های شناسایی، به عنوان ابزاری کمابیش مناسب برای تفکیک آسان و سریع قارچ و دیگر میکروارگانیسم‌ها، به کار برد. سادگی در آماده‌سازی نمونه، اجتناب از استفاده از مواد شیمیایی با توجه به هزینه و اثرات منفی زیست محیطی آن‌ها، قابل اطمینان بودن نتایج، زمان کوتاه در هر تحلیل در مقایسه با روش‌های معمول دیگر، روش ATR-FTIR را به ابزاری مناسب در بررسی قارچ‌ها در مقیاس بزرگ تبدیل می‌کند. با وجود این نمی‌توان تنها با استناد به نتایج این شیوه در ارتباط با قارچ‌ها و سایر میکروارگانیسم‌ها اظهار نظر کرد و به نظر می‌رسد نتایج این روش در ارتباط با شناسایی و تفکیک

و مخمر بود. این قارچ‌ها با توجه به تولید زهرابه‌های گوناگون، توانایی ایجاد مشکلات و بیماری‌های گوناگونی را برای کارکنانی که با این اشیاء در ارتباطند دارند. از طرفی فعالیت این قارچ‌ها که همراه با تولید آنزیم‌های پروتئاز است، موجب تخریب چرم شده و جدا از آسیب‌های ساختاری چون تجزیه و هیدرولیز الیاف، در ویژگی‌های ظاهری اثر نیز تأثیر می‌گذارند. میکروارگانیسم‌ها علاوه بر ساختار کلاژن، تانن‌های گیاهی را نیز تخریب می‌کنند که معمولاً محصول نهایی آن، اسیدهای آلی است. این اسیدهای آلی، که حاصل فعالیت قارچ بر روی چرم است، هیدرولیز اسیدی زنجیره‌های کلاژن چرم را در پی دارد. هر چند شرایط مخازن، محیط ایده آل رشد قارچ نیست، اما این عوامل قابلیت فعالیت آرام، اما پیوسته را دارند؛ که نتیجه‌ی آن، از دست دادن اطلاعات و آثار ارزشمند تاریخی است. از این رو، نتایج حاصل می‌تواند در انتخاب راهکار مناسب درمانی برای این آثار، مفید واقع شود. بررسی ساختار قارچ با استفاده از طیف‌سنجی ATR-FTIR و بر اساس شکل و موقعیت پیک، نتایج مناسبی در مورد امکان تفکیک قارچ، مخمر و باکتری عرضه کرد. باکتری‌ها در محدوده 900 تا 1200 cm^{-1} مربوط به پلی‌ساکاریدها و 2800 تا 3000 cm^{-1} برای CH_2 و CH_3 با قارچ‌ها و مخمرها تفاوت واضحی دارد. همچنین شدت جذب در حدود 1075 تا 1080 cm^{-1} مربوط به بتا (۱-۳) پلی‌ساکاریدها در دیواره‌ی سلولی و یا گروه عاملی PO_2 در فسفولیپید و نوکلئیک اسیدها در مخمر نسبت به قارچ کاهش یافته‌است. بررسی جنس‌های رایزوکتونیا، کلادوسپوریوم، آسپرژیلوس، پنی‌سیلیوم و تریکوفیتون، برخی تفاوت‌های ساختاری در بازه‌ی 900 تا 1750 cm^{-1} را نشان می‌دهد. همچنین در برخی موارد،

- (4) Bennett JW, Klich M. Mycotoxins. *Clinical Microbiology Reviews* 2003; 16 (3): 497-516.
- (5) Arai H. Foxing caused by Fungi: twenty-five years of study. *International Biodeterioration & Biodegradation* 2000; 46 (3): 181-8.
- (6) Strzelczyk AB. Observations on aesthetic and structural changes induced in Polish historic objects by microorganisms. *International Biodeterioration & Biodegradation* 2004; 53 (3): 151-6.
- (7) Cappitelli F, Sorlini C. From Papyrus to Compact Disc: The Microbial Deterioration of Documentary Heritage. *Critical Reviews in Microbiology* 2005; 31 (1): 1-10.
- (8) Nigam N, Dhawan S, Nair MV. Deterioration of feather and leather objects of some Indian museums by keratinophilic and non-keratinophilic fungi. *International Biodeterioration & Biodegradation* 1994; 33 (2): 145-52.
- (9) Strzelczyk AB, Bannach L, Kurowska A. Biodeterioration of archeological leather. *International Biodeterioration & Biodegradation* 1997; 39 (4): 301-9.
- (10) Pinzari F, Colaizzi P, Maggi O, Persiani AM, Schütz R, Rabin I. Fungal bioleaching of mineral components in a twentieth-century illuminated parchment. *Anal Bioanal Chem* 2012; 402 (4): 1541-50.
- (11) Polacheck I, Salkin IF, Schenhav D, Ofer L, Maggen M, Haines JH. Damage to an ancient parchment document by *Aspergillus*. *Mycopathologia* 1989; 106 (2): 89-93.
- (12) Allsopp D, Seal KJ. *An Introduction to Biodeterioration*. London: Edward Arnold; 1986.
- (13) Nigam N, Kushwaha RKS. Biodegradation of keratinous substrates. In: Toishi K, editor. *Biodeterioration of Cultural Property 2. Proceedings of the 2nd International Conference on Biodeterioration of Cultural Property*; 1992 Oct 5-8; Yokohama, Japan. Tokyo: International Communications Specialists; 1993. p:180-5.

میکروارگانیسم‌ها، تنها در تلفیق با سایر روش‌های شناسایی قابل بررسی و بحث است. از این رو طیف‌سنجی IR در کنار سایر روش‌های معمول مورد استفاده، بهبود بهره‌وری در طبقه‌بندی و شناسایی قارچ‌ها را در پی دارد. علاوه بر این، با توجه به مشخص کردن ترکیب شیمیایی در این تحلیل، می‌توان از آن در درک بهتر فرآیندهای شیمیایی پیچیده در رشد قارچ و تخریب بستر، استفاده کرد.

تشکر و قدردانی

نگارندگان بر خود لازم می‌دانند از کارکنان اداره کل میراث فرهنگی، صنایع دستی و گردشگری خراسان جنوبی، به ویژه جناب آقای مهندس محمدعلی بزرگمهر به سبب در اختیار قرار دادن نمونه‌های مورد بررسی، کمال تشکر را داشته باشند.

References

- (1) Mesquita N, Portugal A, Videira S, Rodríguez-Echeverría S, Bandeira AML, Santos MJA, et al. Fungal diversity in ancient documents. A case study on the Archive of the University of Coimbra. *International Biodeterioration & Biodegradation* 2009; 63 (5): 626-9.
- (2) Ebrahimi A, Karimi S, Lotfalian S, Majidi F. Allergenic fungi in deteriorating historic objects of Shahrekord Museum, in Iran. *Jundishapur Journal of Microbiology* 2011; 4 (4): 261-5.
- (3) Milanese C, Baldi F, Vignani R, Ciampolini F, Faleri C, Cresti M. Fungal deterioration of medieval wall fresco determined by analysing small fragments containing copper. *International Biodeterioration & Biodegradation* 2006; 57 (1): 7-13.

- (14) Karbowska-Berent J, Strzelczyk A. *The Role of Streptomyces in the Biodeterioration of Historic Parchment*. Toruń, Poland: Wydawn, Uniwersytetu Mikołaja Kopernika; 2000.
- (15) Vaneechoutte M, Van Eldere J. The possibilities and limitations of nucleic acid amplification technology in diagnostic microbiology. *Journal of Medical Microbiology* 1997; 46 (3): 188-94.
- (16). Erukhimovitch V, Tsrer L, Hazanovsky M, Talyshinsky M, Mukmanov I, Souprun Y, et al. Identification of fungal phytopathogens by Fourier-transform infrared (FTIR) microscopy. *Journal of Agricultural Technology* 2005; 1 (1): 145-52.
- (۱۷) Lamprell H, Mazerolles G, Kodjo A, Chamba JF, Noël Y, Beuvier E. Discrimination of *Staphylococcus aureus* strains from different species of *Staphylococcus* using Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy. *International Journal of Food Microbiology* 2006; 108 (1): 125-9.
- (18) Salman A, Tsrer L, Pomerantz A, Moreh R, Mordechai S, Huleihel M. FTIR spectroscopy for detection and identification of fungal phytopathogenes. *Spectroscopy* 2010; 24: 261-7.
- (19) Erukhimovitch V, Pavlov V, Talyshinsky M, Souprun Y, Huleihel M. FTIR microscopy as a method for identification of bacterial and fungal infections. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 2005; 37 (5): 1105-8.
- (20) Naumann D, Helm D, Labischinski H. Microbiological characterizations by FT-IR spectroscopy. *Nature* 1991; 351 (6321): 81-2.
- (21) Gupta MJ, Irudayaraj JM, Debroy C, Schmilovitch Z, Mizrach A. Differentiation of food pathogens using FTIR and artificial neural networks. *Transactions of the ASABE* 2005; 48 (5): 1889-92.
- (22) Rigas B, Laguardia K, Qiao L, Bhandare PS, Caputo T, Cohenford MA. Infrared spectroscopic study of cervical smears in patients with HIV: Implications for cervical carcinogenesis. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine* 2000; 135 (1): 26-31.
- (23) Huleihel M, Erukhimovitch V, Talyshinsky M, Karpasas M. Spectroscopic Characterization of Normal Primary and Malignant Cells Transformed by Retroviruses. *Appl Spectrosc.* 2002; 56 (5): 640-5.
- (24) Salman A, Erukhimovitch V, Talyshinsky M, Huleihel M, Huleihel M. FTIR-Spectroscopic method for detection of cells infected with herpes viruses. *Biopolymers* 2002; 67: 406-12.
- (25) Gordon SH, Jones RW, McClelland JF, Wicklow DT, Greene RV. Transient Infrared Spectroscopy for Detection of Toxigenic Fungi in Corn: Potential for On-line Evaluation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 1999; 47 (12): 5267-72.
- (26) Mariey L, Signolle JP, Amiel C, Travert J. Discrimination, classification, identification of microorganisms using FTIR spectroscopy and chemometrics. *Vibrational Spectroscopy*. 2001; 26 (2): 151-9.
- (27) Maquelin K, Kirschner C, Choo-Smith L-P, Ngo-Thi NA, van Vreeswijk T, Stämmeler M, et al. Prospective Study of the Performance of Vibrational Spectroscopies for Rapid Identification of Bacterial and Fungal Pathogens Recovered from Blood Cultures. *Journal of Clinical Microbiology* 2003; 41 (1): 324-9.
- (28) Naumann A, Navarro-González M, Peddireddi S, Kües U, Polle A. Fourier transform infrared microscopy and imaging: Detection of fungi in wood. *Fungal Genetics and Biology* 2005; 42 (10): 829-35.

- (29) Fischer G, Braun S, Thissen R, Dott W. FT-IR spectroscopy as a tool for rapid identification and intra-species characterization of airborne filamentous fungi. *Journal of Microbiological Methods* 2006; 64 (1): 63-77.
- (30) Szeghalmi A, Kaminskyj S, Gough K. A synchrotron FTIR microspectroscopy investigation of fungal hyphae grown under optimal and stressed conditions. *Anal Bioanal Chem* 2007; 387 (5): 1779-89.
- (31) Lefier D, Hirst D, Holt C, Williams AG. Effect of sampling procedure and strain variation in *Listeria monocytogenes* on the discrimination of species in the genus *Listeria* by Fourier transform infrared spectroscopy and canonical variates analysis. *FEMS Microbiology Letters* 1997; 147 (1): 45-50.
- (32) Beattie SH, Holt C, Hirst D, Williams AG. Discrimination among *Bacillus cereus*, *B. mycoides* and *B. thuringiensis* and some other species of the genus *Bacillus* by Fourier transform infrared spectroscopy. *FEMS Microbiology Letters* 1998; 164 (1): 201-6.
- (33) ISIRI 3194, Food microbiology – Heat resistant molds - Detection method of spore. 1386.
- (34) ISIRI 9899, Microbiology of food and animal feeding stuffs – Guideline of general requirements for examination. 1386.
- (35) Rezaeian F, Zamen Milani F, Kazemi G, Nia M, GhaemMaghami, Vahed Jabari M Survey of tea and traditional drinks contamination to mycotoxinogenic fungi in Tabriz city. Proceedings of the 9th Iranian Nutrition Congress; 2006 September 4-7; Tabriz university of medical sciences, Tabriz, Iran.
- (36) Singh A, Ganguli M, Singh AB. Fungal spores are an important component of library air. *Aerobiologia* 1995; 11 (4): 231-7.
- (37) Abrusci C, Martín-González A, Del Amo A, Catalina F, Collado J, Platas G. Isolation and identification of bacteria and fungi from cinematographic films. *International Biodeterioration & Biodegradation* 2005; 56 (1): 58-68.
- (38) Vivar I, Borrego S, Ellis G, Moreno DA, García AM. Fungal biodeterioration of color cinematographic films of the cultural heritage of Cuba. *International Biodeterioration & Biodegradation*. 2013; (accepted)
- (39) Hamdy HS. Extracellular collagenase from *Rhizoctonia solani*: Production, purification and characterization. *Indian Journal of Biotechnology (IJBT)* 2008; 7 (3): 333-40.
- (40) Krishna KV, Gupta M, Gupta N, Gaudani H, Trivedi S, Patil P, et al. Optimization of growth and production of protease by *Penicillium* species using submerged fermentation. *International Journal of Microbiology Research* 2009; 1 (1): 14-8.
- (41) Bensch K, Groenewald JZ, Dijksterhuis J, Starink-Willemsse M, Andersen B, Summerell BA, et al. Species and ecological diversity within the *Cladosporium cladosporioides* complex (Davidiellaceae, Capnodiales). *Studies in Mycology* 2010; 67 (1): 1-94.
- (42) Radha S, Nithya VJ, Himakiran Babu R, Sridevi A, Prasad N, Narasimha G. Production and optimization of acid protease by *Aspergillus* spp under submerged fermentation. *Archives of Applied Science Research* 2011; 3 (2): 155-63.
- (43) Mihali CV, Buruiana A, Turcus V, Covaci A, Ardelean A. Morphology and ultrastructure aspects in species belongs to *Trichophyton* genus using light and scanning electron microscopy. *Annals of RSCB* 2012; 17 (1): 90-5.
- (44) Popescu C, Budrugaec P, Wortmann FJ, Miu L, Demco DE, Baias M. Assessment of collagen-based materials which are supports

- of cultural and historical objects. *Polymer Degradation and Stability* 2008; 93 (5): 976-82.
- (45) Chandra T, Madhavakrishna W, Nayudamma Y. Astringency in fruits. I-Microbial degradation of catechin. *Canadian Journal of Microbiology* 1969; 15 (3): 303-6.
- (46) Arunakumari A, Mahadevan A. Utilization of aromatic substances by *Pseudomonas solanacearum*. *Indian journal of experimental biology* 1984; 22 (1): 32-6.
- (47) Groenewoud G, Hundt HK. The microbial metabolism of (+) -catechin to two novel diarylpropan-2-ol metabolites in vitro. *Xenobiotica* 1984; 14 (9): 711-7.
- (48) Sambandam T, Mahadevan A. Degradation of catechin and purification and partial characterization of catechin oxygenase from *Chaetomium cupreum*. *World J Microbiol Biotechnol* 1993; 9 (1): 37-44.
- (49) Waheeta H, Mahadevan A. Degradation and cometabolism of catechin by *Bradyrhizobium japonicum*. *Biodegradation* 1997; 13: 601-7.
- (50) Arunachalam M, Mohan Raj M, Mohan N, Mahadevan A. Biodegradation of Catechin. *Proceedings of the Indian National Science Academy* 2003; 69 (4): 353-70.
- (51) Mohammadi Achachluei M. *Pathologic assessment of manuscripts in the archive (Malek National Library and Museum Institution) respecting to biological deterioration*. Research project in Malek National Library and Museum Institution. Tehran, Iran; 2012.
- (52) Khodaparast SA. *Fungal Kingdom*. Rasht: University of Guilan Press; 2010.
- (53) De Hoog GS. *Atlas of Clinical Fungi*, Second Edition. Washington D.C.: Amer Society for Microbiology; 2000.
- (54) Dukor RK. Vibrational spectroscopy in the detection of cancer. In: Chalmers JM, Griffiths P, editors. *Handbook of Vibrational Spectroscopy*. 5. London: WILEY; 2002. p. 3335-60.
- (55) Sivakesava S, Irudayaraj J, DebRoy C. Differentiation of microorganisms by FTIR-ATR and NIR spectroscopy. *Transactions of the ASAE* 2004; 47 (3): 951-7.
- (56) Yang D, Castro D, EI-Sayed I, EI-Sayed M, Saxon R, Nancy Y. Fourier-transform infrared spectroscopic comparison of cultured human fibroblast and fibrosarcoma cells. *Proceedings of SPIE* 1995; 2389: 543-50.

-
1. Mycotoxin
 2. Proteolytic
 3. Streptomycetes
 4. Molecular biology methods
 5. Spectroscopic techniques
 6. Attenuated Total Reflectance Fourier Transform Infrared
 7. Quelab
 8. Alltion
 9. FTIR Spectrometer
 10. Nicolet Nexus 470
 11. Thermo Nicolet
 12. PIKE MIRacle attenuated total reflectance (ATR)
 13. Ward's algorithm
 14. Baseline correction
 15. Scanning Electron Microscope
 16. Catechin
 17. Condensed Tannins
 18. Acid metabolites
 19. β -keto adipate
 20. Protocatechuic
 21. Phloroglucinol carboxylic acid
 22. Catechol
 23. Aflatoxin B1
 24. Ochratoxin A
 25. Patulin
 26. Sterigmatocystin
 27. Cyclopiasonsaure
 28. Citrinin
 29. Penitrem A
 30. Fagcladosporic acid
 31. Epicladosporic acid
 32. Aspergillois
 33. β (1 \rightarrow 3) polysaccharides
 34. β (1 \rightarrow 3) glucan
 35. Galactomannans
 36. β (1 \rightarrow 6) glucans
 37. Mannans

Differentiation and identification of fungi by ATR-FTIR method in a leather collection relating back to Seljuk period

Alireza Koochakzaei *

Ph.D. student of conservation and restoration of historic and cultural property, Art University of Isfahan, Iran, alireza.k.1989@gmail.com

Hosseyh Ahmadi

Assistant Professor of conservation and restoration of historic and cultural property, Art University of Isfahan, Iran, h.ahmadi@au.ac.ir

Mohsen Mohammadi Achachluei

Ph.D. student of conservation and restoration of historic and cultural property, Art University of Isfahan, Iran, mohsen.mohammadi@au.ac.ir

Abstract

Introduction: Biodegradation is one of the main degrading factors of leather artifacts. Determination of fungi and other microorganisms has vital importance for conservation of valuable objects made from organic materials. Usual classic techniques for identification of pathogens and fungi have some difficulties, but FTIR spectroscopy has been introduced as useful technique for characterization and determination of microorganisms.

Materials and methods: In this study, historic leathers were related to the Seljuk period. The leathers were sampled in laboratory and fungi were cultivated in SDA medium. Genuses of fungi were identified according to macroscopic, microscopic and morphologic characteristics. Microorganisms were analyzed by ATR-FTIR spectrometer and differences of spectral properties were assessed. Spectral properties were assessed according to form and absorption region of peaks. Cluster analysis was used for evaluation of different regions and areas on the measured spectra.

Results: Results showed the presence of *Penicillium* sp. (9 samples, 33.3%), *Aspergillus* sp. (5 samples, 18.5%), *Cladosporium* sp. (4 samples, 14.8%), *Rhizoctonia* sp. (2 samples, 7.4%), *Trichophyton* sp. (1 sample, 3.7%) and also one sample of yeast (3.7%). Two species of fungi remained unidentified (7.4%) and there was not any growth in 3 samples (11.1%). Spectral properties indicated to structural differences between microorganisms (fungi, yeast, bacteria). It showed characteristics of fungi genus and species in some cases.

Discussion and conclusion: Active fungi induce decomposition, hydrolysis and decay of leather and its vegetable tannins. The decay leads to aesthetic change and health problems. Therefore, it is necessary to remove of fungi and appropriate treatment of leather artifacts. Application of ATR-FTIR spectroscopy had good results for identification of fungi, yeast and bacteria. Assessments showed the potential of ATR-FTIR spectroscopy for easy and rapid discrimination between microorganisms and specially fungi genus and species in some cases. This study indicated the possibility of developing FTIR-ATR spectroscopy as a reliable method for rapid identification of fungal pathogens. Advantages of the method showed that it was an appropriate technique for fungi evaluation in large scale. IR spectroscopy could help in identification and classification of fungi. Combining the advantages of FTIR spectroscopy with other used routine techniques, might improve the efficiency of fungal classification and identification. Chemical composition of the samples can be simultaneously analyzed. Chemical analysis by FTIR spectroscopy results to better understanding of fungi growth and complex chemical processes during fungal development and substrate degradation.

Key words: Historical leather, Biodeterioration, Fungi, ATR-FTIR, Spectral properties

* Corresponding Author

Received: February 24, 2013 / **Accepted:** September 6, 2013