Journal of Research on Archaeometry, 2023; 8 (2): 101-114

Journal of Research on
Archaeometry

Tabriz Islamic Art University 1999

DOI: 10.52547/jra.8.2.101

URL: https://jra-tabriziau.ir/

Original Paper

Comparative study of antifungal activity of three herbal essential oil of Thymus, Lavender, and Boswellia on paper

Leila Bidar [1], Nasrin Noohi [2], Manijhe Hadian Dehkordi [3*]

[1]. *M.A. in Conservation & Restoration, National Library and Archives of Iran, Tehran, IRAN.*

[2]. *Assistant Professor, Research Center for Conservation of Cultural Relics, Research Institute of Cultural Heritage & Tourism, Tehran, IRAN.*

[3]. *Assistant Professor, Research Center for Conservation of Cultural Relics, Research Institute of Cultural Heritage & Tourism, Tehran, IRAN.*

Received: 12/09/2022 **Accepted: 20/01/2023**

Abstract

Fungi play a significant role in the deterioration of cultural heritage. Due to their high enzyme activity, fungi are able to inhabit and destroy the various materials used for historical objects. Because of the cellulose structure of the paper, paper works in archival documents are very vulnerable to damage by microorganisms, including fungi, and they are always faced with the problem of biodeterioration. Considering the harmful effects of using chemicals on paper works as well as their toxic effect on museum curators and conservators in museum collections and libraries, it is very necessary to find a suitable alternative to deal with destructive fungi. In this regard, the use of herbal essential oils has always been considered. Considering the diversity and abundance of medicinal plants in our country, Iran, in this study, the antifungal effect of the essential oils of three plants including Thymus, Lavender, and Boswellia was evaluated against two common fungal strains isolated from historical documents, including Penicillium and Aspergillus niger. Also, the possible physical and chemical effects of these essential oils on paper were studied to determine which essential oil can be the most suitable option for the decontamination of paper documents. The results obtained in this study confirm that the three investigated essential oils have antifungal activity. But based on the dose required for antimicrobial activity, it can be said that thymus essential oil has more antifungal activity than lavender and Boswellia essential oils. Due to the thymus's high antimicrobial effect and also the absence of adverse effects on pH and physical properties on paper, it can be a suitable and promising option for protecting paper documents against fungal biodeterioration.

Keywords: Fungi, Biodeterioration, Paper, Essential oil, Decontamination, Penicillium and Aspergillus niger.

*Corresponding Author: m_hadian@yahoo.com

Introduction

Fungi play a significant role in the deterioration of cultural heritage. Due to their high enzymatic activity and their ability to grow at the low water activity levels, fungi can inhabit and destroy the various materials used for historical objects. Paper is an organic material made of cellulose of various origins and it is a source of nourishment for heterogeneous microorganisms especially fungi. Paper works in libraries and archival documents are very vulnerable to damage by fungi, and they are always faced with the problem of biodeterioration. Considering the harmful effects of using chemicals on paper works as well as their toxic effect on museum curators and conservators in museum collections and libraries, it is very necessary to find a suitable alternative to deal with destructive fungi. The antimicrobial properties of herbal essential oils have been known for many centuries and these eco-friendly and natural products are a suitable alternative to the use of toxic chemicals. Considering the diversity and abundance of medicinal plants in our country, Iran, various studies have been conducted regarding the antimicrobial activity of herbal essential oils, but very limited scientific publications have been conducted regarding their possible use in the field of preservation of cultural heritage, including paper. The aim of this study was the investigation of antifungal activity of essential oils of three native Iranian against two common fungal strains isolated from historical documents and evaluation of their possible physical changes (in thickness and weight) and chemical effects (color and pH changes) on paper to determine which essential oil can be the most suitable option for the decontamination of paper documents.

Materials and methods

In this study, the antifungal activity of the essential oils of three plants including Thymus (Zataria multiflora Boiss), Lavender (Lavandula angustifolia), and Boswellia (acarterii) was studied against two common fungal strains isolated from historical documents, including *Penicillium* and *Aspergillus niger*. Agar disk diffusion and agar well diffusion methods were used to evaluate the antifungal activity of each essential oil. Also, the antifungal effect of the volatile compounds of essential oils was investigated by fumigating them on contaminated paper samples. In order to investigate the possible physical and chemical effects of essential oils on paper, various factors including changes in color (ΔE_{ab}), thickness (ΔI), weight (Δm), and pH (ΔpH) were studied on all paper samples treated with essential oils, before and after aging, and the results were compared with the control samples.

Results

The results of the investigation of the inhibitory effect of essential oils on *Aspergillus* and *Penicillium* fungi strains with agar disk diffusion and agar well diffusion methods are shown in Fig. 1 and Table 1. All three herbal essential oils studied had antifungal effect, but the size of the inhibition zones around the wells indicated that the appropriate dose to inhibit the growth of the two studied fungal strains for essential oils of Thymus, Lavender, and Boswellia was 8, 12.5, and 25 µl/ml, respectively. Therefore, Thymus essential oil showed the highest and Boswellia showed the lowest inhibitory effect on the two studied fungal strains in both methods. The results of the paper fumigation test with the essential oils showed that there was no more fungal growth from the second day of fumigation and all cultures were free of fungal growth (Table 2). Respectively, Table 3 and Charts 1, 2, 3 and 4 summarize the results of the examination of weight, thickness, pH and color changes in paper samples treated with different essential oils, before and after aging.

Discussion

The results obtained in this study confirm that the three investigated essential oils are effective against the fungal strains which deteriorate paper works. But based on the dose required for antifungal activity, Thymus essential oil has more antifungal activity than those of Lavender and Boswellia. On the other hand, the highest color change of the samples after aging was related to the paper treated with Thymus and the least color change was determined for the paper treated with Lavender. In addition, Boswellia and Lavender essential oils increased the pH of the treated papers. Although these papers were associated with a greater decrease in pH after aging, this amount was still higher than other samples. It should be noted that there were no noticeable and significant changes in terms of weight and thickness after aging of the treated samples compared to the control sample.

Conclusions

Due to the Thymus's high antimicrobial effect and also the lack of adverse effects on pH and visual characteristics on paper, it can be a suitable and promising option for protecting paper documents against fungal biodeterioration. It is obvious that the mutual reactions between plant essential oils and paper works and their long-term effects require chemical studies and wider research in the future.

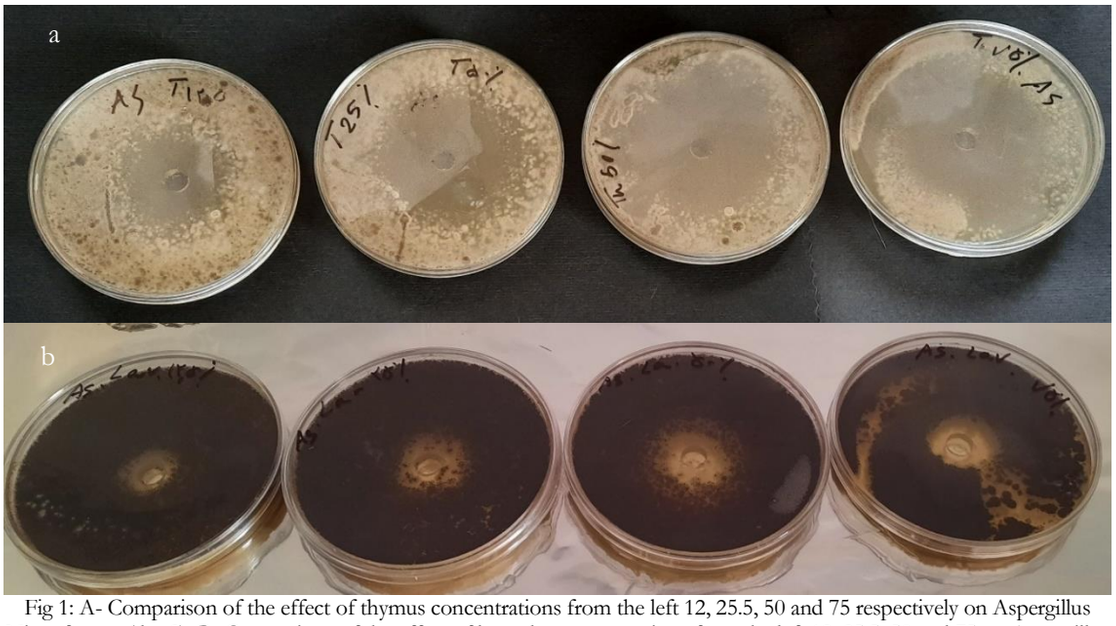


Fig 1: A- Comparison of the effect of thymus concentrations from the left 12, 25.5, 50 and 75 respectively on Aspergillus Niger fungus (day 3); B- Comparison of the effect of lavender concentrations from the left 12, 25.5, 50 and 75 on Aspergillus Niger fungus (day 7)

Table 1: The inhibitory effect of essential oils on two fungal strains of Penicillium and Aspergillus

essential oil	Agar Well Diffusion			Agar Disk Diffusion		
	C (µl/ml)	Inhibition zone (mm)		C (µl/ml)	(mm) Inhibition zone	
		Penicillium	Aspergillus niger		Penicillium	Aspergillus niger
Thymus	12.5	37	36	2	Reducing growth	Reducing growth
	25	46	44	6	6	6
	50	48	46	8	9	10
	75	51	50	10	11	10
	100	58	57	-	-	-
Lavender	12.5	13	14	2	-	-
	25	14	13	6	Reducing growth	-
	50	15	14	8	6	6
	75	17	15	10	7	6
	100	36	35	-	-	-
Boswellia	12.5	11	6	2	-	-
	25	13	10	6	-	-
	50	14	12	8	Reducing growth	Reducing growth
	75	18	15	10	7	6
	100	22	19	-	-	-

Table 2: The effect of fumigation of essential oils on fungal contamination on paper

	(Colony count) Penicillium				(Colony count) Aspergillus niger			
	After fumigation (7 days)	After fumigation (2 days)	After fumigation (1 day)	Before fumigation	After fumigation (7 days)	After fumigation (2 days)	After fumigation (1 day)	Before fumigation
Thymus	-	-	-	82	-	-	1	29
Lavender	-	-	-	30	-	-	-	19
Boswellia	-	-	-	15	-	-	-	7

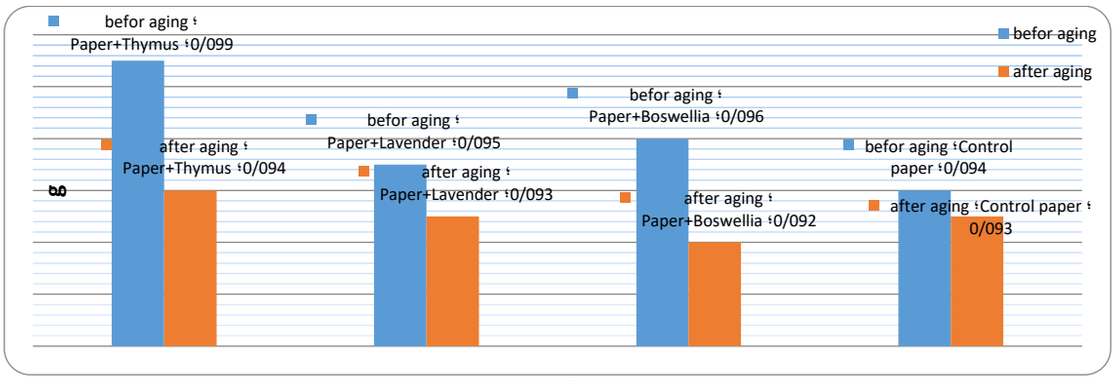


Chart 1: Comparison of average weight changes of Whatman paper samples treated with essential oils

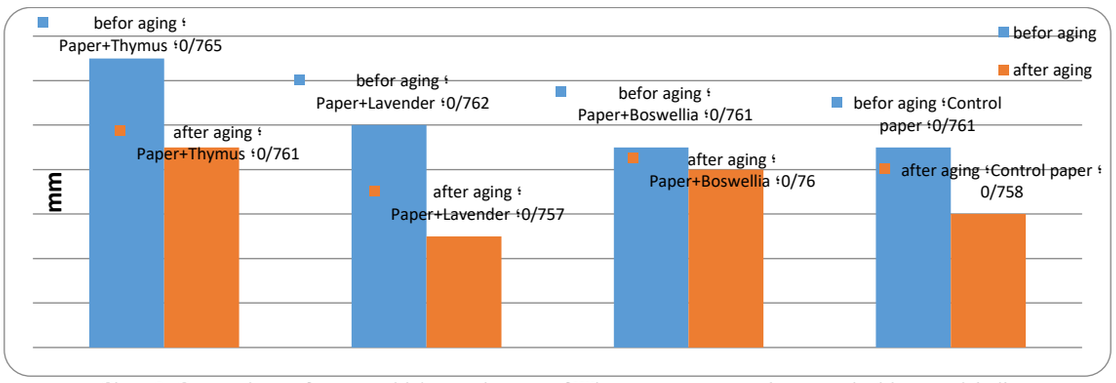


Chart 2: Comparison of average thickness changes of Whatman paper samples treated with essential oils

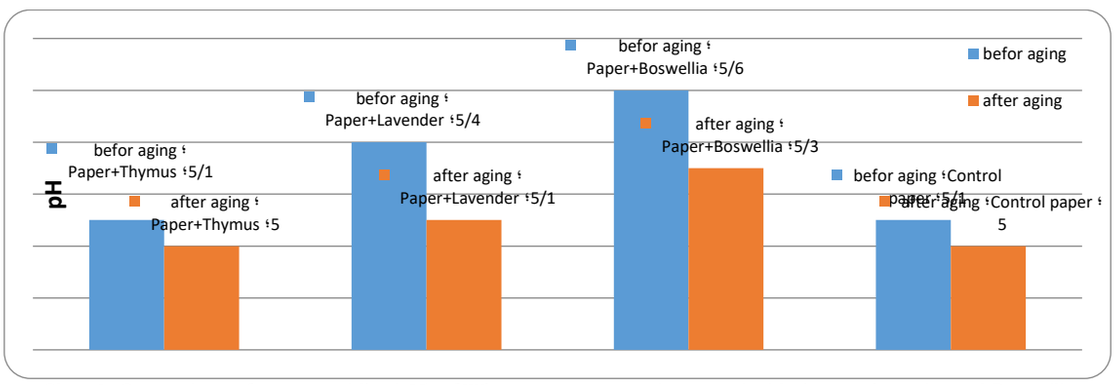
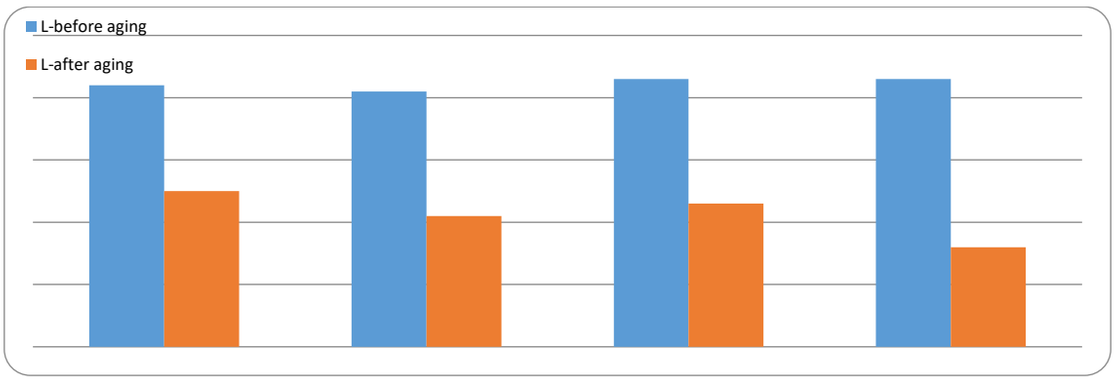


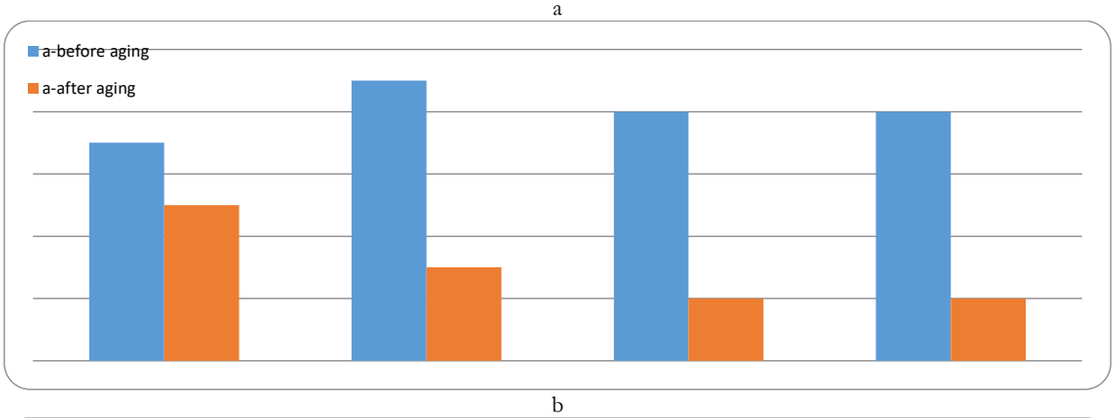
Chart 3: Comparison of average acidity (pH) of Whatman paper samples treated with thymus, lavender and Boswellia essential oils before and after aging.

Table 3: The average color change of the paper samples treated with the studied essential oils before and after aging in comparison with the control paper sample.

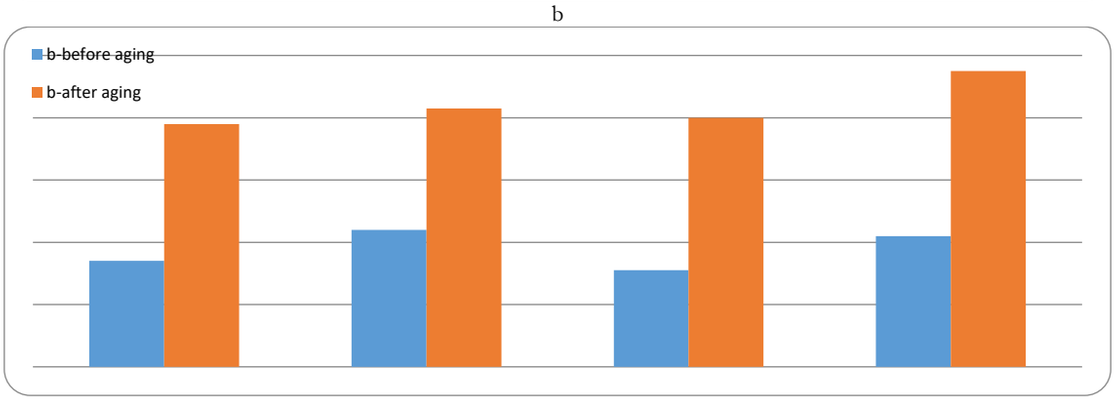
Color change / Sample		L	a	b	ΔEab
Control paper	Before aging	91.3± 0.1	0.8± 0.2	4.2± 0.7	-
	After aging	88.6± 0.3	0.2± 0.1	9.5± 0.9	-
Paper samples treated with Thymus	Before aging	91.2± 0.2	0.7± 0.1	3.4± 0.6	0.3
	After aging	89.5± 0.2	0.5± 0.1	7.8± 0.3	1.9
Paper samples treated with Lavender	Before aging	91.1± 0.2	0.9± 0.1	4.4± 0.4	0.0
	After aging	89.1± 0.3	0.3± 0.1	8.3± 0.6	0.9
Paper samples treated with Boswellia	Before aging	91.27± 0.1	0.8± 0.2	3.1± 0.4	0.6
	After aging	89.3± 0.2	0. 2± 0.1	8.0± 0.4	1.4



a



b



c

Chart 4- Comparison of the changes in L, a and b parameters of the treated samples compared to the control sample before and after aging in charts a, b and c respectively.

References

[1] Sterflinger K. Fungi: their role in deterioration of cultural heritage. Fungal biology reviews. 2010;24(1-2):47-55.
[2] Joseph E. Microorganisms in the Deterioration and Preservation of Cultural Heritage: Springer Nature; 2021.
[3] Pinzari F, Pasquariello G, De Mico A, editors. Biodeterioration of paper: a SEM study of fungal spoilage reproduced under controlled conditions. Macromolecular Symposia; 2006: Wiley Online Library.
[4] Koul B, Upadhyay H. Fungi-Mediated Biodeterioration of Household Materials ,Libraries, Cultural Heritage and Its Control. Fungi and their Role in Sustainable Development: Current Perspectives: Springer; 2018. p. 597-615.
[5] Ali M. Effect of Five Essential Oils as Green Disinfectants on Selected Photographic Prints: Experimental Study. Conservation Science in Cultural Heritage. 2020;20:79-97.
[6] Kakakhel MA, Wu F, Gu J-D, Feng H, Shah K, Wang W. Controlling biodeterioration of cultural heritage objects with biocides: A review. International Biodeterioration & Biodegradation. 2019;143:104721.
[7] Sequeira S, Cabrita EJ, Macedo MF. Antifungals on paper conservation: An overview. International Biodeterioration & Biodegradation. 2012;74:67-86..
[8] Taheri, Razieh, Thesis, Pesticide effect of plant extracts according to written sources from the 6th century to the present on paper works, 1390.
[9] Valentina ROTOLO, Plant extracts as green potential strategies to control the Biodeteration of cultural heritage, 2016.

پژوهه باستان‌سنجی ۱۴۰۱؛ ۸(۲): ۱۰۱-۱۱۴

پژوهه باستان‌سنجی

DOI: 10.52547/jra.8.2.101

URL: http://jra-tabriziau.ir/

دانشگاه هنر اسلامی تبریز ۱۳۷۸

مقاله پژوهشی

مطالعهٔ تطبیقی فعالیت ضد قارچی سه عصارهٔ گیاهی آویشن، اسطوخودوس و کُندر در آثار کاغذی

لیلا بیدار [۱]، نسرین نوحی [۲]، منیژه هادیان دهکردی*[۳]

۱. کارشناسی ارشد رشتهٔ حفاظت و مرمت، سازمان اسناد و کتابخانه ملی جمهوری اسلامی ایران، تهران، ایران.

۲. استادیار، پژوهشکدهٔ حفاظت و مرمت آثار تاریخی، پژوهشگاه میراث فرهنگی و گردشگری، تهران، ایران.

۳. استادیار، پژوهشکدهٔ حفاظت و مرمت آثار تاریخی، پژوهشگاه میراث فرهنگی و گردشگری، تهران، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۶/۲۱ **تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۰/۳۰**

چکیده

قارچ‌ها نقش غالبی در تخریب میراث فرهنگی دارند و به دلیل فعالیت آنزیمی بالا می‌توانند در مواد مختلفِ موجود در ساختار اشیای هنری تاریخی ساکن شوند و منجر به تخریب آن‌ها گردند. با توجه به ساختار سلولزی کاغذ، آثار کاغذی نگهداری‌شده در کتابخانه‌ها و مراکز اسناد بسیار در معرض آسیب میکروارگانیسم‌ها ازجمله قارچ‌ها قرار دارند و همواره بخش‌های بایگانیِ اسناد با معضل آلودگی‌های بیولوژیکی روبه‌رو هستند. با توجه به آثار مُضر استفاده از مواد شیمیایی بر آثار کاغذی و همچنین اثر سمی آن‌ها روی موزه‌داران و حفاظتگران در مجموعه‌های موزه‌ای و کتابخانه‌ها، یافتن جایگزینی مناسب برای مقابله با قارچ‌های مخرب بسیار لازم و ضروری است. در این راستا، استفاده از اسانس‌های گیاهی همواره مورد توجه بوده و هست. با توجه به تنوع و فراوانی گیاهان دارویی در کشورمان ایران، در این مطالعه اثر ضد قارچی اسانس سه گیاه آویشن شیرازی، اسطوخودوس و کُندر روی دو سویهٔ قارچی شایع جداسازی‌شده از اسناد تاریخی شامل پنیسیلیوم و آسپرژیلوس نیجر مورد ارزیابی قرار گرفت. همچنین تأثیرات فیزیکی (ضخامت و وزن) و شیمیاییِ (تغییرات اسیدیته و رنگ) احتمالیِ استفاده از این اسانس‌ها به‌عنوان مادهٔ ضدعفونی‌کننده روی آثار کاغذی مورد مطالعه قرار گرفت تا مشخص شود کدام اسانس می‌تواند مناسب‌ترین گزینه برای آفت‌زدایی آثار مکتوب باشد. به این منظور، از روش انتشار دیسک در آگار و انتشار چاهک در آگار برای ارزیابی فعالیت ضد قارچی هر اسانس استفاده شد. همچنین اثر ضد قارچی ترکیبات فرار اسانس‌ها با بخوردادن نمونه‌های کاغذی آلوده بررسی شد. بررسی اثرات فیزیکی و شیمیایی احتمالی اسانس‌ها روی نمونه‌های کاغذ، با استفاده از متغیرهای تغییر رنگ (ΔEab)، ضخامت (ΔI)، وزن (Δm) و pH (ΔpH) روی کلیهٔ نمونه‌های کاغذ تیمارشده با اسانس در مقایسه با نمونهٔ شاهد انجام شد. نتایج به‌دست‌آمده در این مطالعه تأیید می‌کند که سه اسانس مورد بررسی دارای اثر ضد قارچی روی پنی‌سیلیوم و آسپرژیلوس نیجر هستند. ولی بر اساس دوز مورد نیاز برای فعالیت ضد قارچی، می‌توان گفت اسانس آویشن فعالیت ضد قارچی بیشتری نسبت‌به اسانس اسطوخودوس و کُندر دارد. آویشن به دلیل اثر ضد قارچی و میکروبی بالا و همچنین عدم مشاهدهٔ اثرات نامطلوب آن بر ویژگی‌های فیزیکی و pH کاغذ، گزینهٔ مناسب و امیدوارکننده‌ای برای حفاظت از آثار کاغذی در برابر تخریب زیستی ناشی از قارچ‌ها به‌شمار می‌آید.

واژگان کلیدی: قارچ، تخریب زیستی، کاغذ، اسانس گیاهی، ضدعفونی، پنی‌سیلیوم، آسپرژیلوس نیجر.

* نویسنده مسئول مکاتبات: تهران ، خیابان امام خمینی(ره) ، خیابان سی تیر، روبروی ساختمان موزه ملی ایران، شماره۲، کد پستی:۱۳۴۳۱-۱۱۳۶۹

پست الکترونیکی: m_hadian@yahoo.com

۱. مقدمه

کاغذ یک مادهٔ آلی است و عمدتاً از سلولز با منشأهای مختلف (پنبه، کتان، چوب سخت، چوب نرم، کنف) ساخته می‌شود، لذا به‌عنوان یک بستر عالی برای موجودات هتروتروف مختلف عمل می‌کند. این ماده در واقع منبع کربن آلی برای بسیاری از میکروارگانیسم‌هاست و هنگامی که در ساخت اشیایی مانند کتاب، اسناد چاپی و غیره استفاده می‌شود، با چندین مادهٔ آلی دیگر مانند چسب‌های حیوانی یا گیاهی، جوهر و غیره نیز همراه می‌شود که می‌توانند تجزیه‌پذیری زیستی آن را افزایش دهند [1, 2]. قارچ‌ها نقشِ غالبی در تخریب میراث فرهنگی دارند و به دلیل فعالیت آنزیمی بسیار زیاد و توانایی آن‌ها برای رشد در مقادیر فعالیت آب (aw)[1] کم، می‌توانند در نقاشی‌ها، منسوجات، کاغذ، پوست، چرم، روغن، کازئین، چسب و سایر مواد آلی مورد استفاده در اشیای هنری، تاریخی ساکن شوند و آن‌ها را تخریب کنند [3]. هیف‌های قارچی همچنین می‌توانند به فیبرهای سلولز نفوذ کرده آن‌ها را از طریق عمل مکانیکی تکه‌تکه کنند. آن‌ها می‌توانند از سلولز به‌عنوان یک بستر استفاده کنند و باعث شکننده‌شدن و تَرَک‌خوردن ورق‌های کاغذی شوند. گاهی اوقات قارچ‌ها مواد متابولیکی رنگی از انواع مختلف را بین الیاف آزاد می‌کنند که می‌تواند ورقه‌ها را لکه‌دار یا تغییرات شیمیایی مانند اکسیداسیون در آن‌ها ایجاد کنند [1]. بنابراین، تخریب بیولوژیکی کاغذ توسط قارچ‌ها همیشه مشکلی رایج در آرشیوها، کتابخانه‌ها و موزه‌ها بوده است. ازسوی دیگر، هاگ‌های قارچ حساسیت‌زا هستند و ممکن است مایکوتوکسین تولید کند که از طریق استنشاق یا تماس پوستی باعث بیماری‌های شدید مانند عفونت‌های مجرای تنفسی، مایکوز، آسم و مشکلات سیستم ایمنی در افراد شوند [4]. پنی‌سیلیوم و آسپرژیلوس دو گونهٔ شاخص و مهم در بحث فرسودگی زیستی آثار تاریخی به‌ویژه آثار کاغذی می‌باشند که علاوه‌بر اینکه در حفظ و نگهداری آثار کاغذی تأثیرگذارند، قادرند اثرات نامطلوبی بر سلامت انسان نیز داشته باشند [5, 6].

نحوهٔ برخورد حفاظتگران با این معضل و استفاده از روش‌های ضد عفونی و درمانی در طول سال‌های گذشته تغییر کرده است. اگرچه به‌طور معمول در طول قرن گذشته قارچ‌کش‌هایی مانند تیمول، الکل اتیلیک، اکسیدهای اتیلن، فرمالدئید و بسیاری دیگر از مواد شیمیایی به‌طور گسترده برای ضد عفونی‌کردن کاغذهای آلوده استفاده شده‌اند. بااین حال، استفاده از از این مواد به دلیل تأثیر مخرب آن‌ها بر محیط زیست و سلامت انسان به‌طور فزاینده‌ای محدود شده است [7, 8]. علاوه‌بر این، مشخص شده که برخی از این مواد ضد عفونی‌کننده منجر به بروز آسیب‌هایی به مجموعه‌های کاغذ می‌شوند. برای مثال، تیمول باعث تغییر در خصوصیات فیزیکی–شیمیایی کاغذ و همچنین زردشدن چاپ‌های مُهروموم‌شده در قاب‌ها می‌شود. این عوامل محققان را وادار به جست‌وجوی گزینه‌های جایگزین که مداخلات و سمیت کمتری دارند، کرده است [7, 9, 10].

روش‌های مورد استفاده برای جلوگیری از تخریب زیستی باید به مهار رشد ارگانیسم‌ها یا توقف فعالیت متابولیکی آن‌ها منجر شوند و حداقل آسیب زیست محیطی را به‌همراه داشته باشند. در سال‌های اخیر، علاقهٔ مجدد دانشمندان به استفاده از محصولات طبیعی (عصاره‌های طبیعی و روغن‌های گیاهی) به دلیل خواص ضد باکتریایی و ضد قارچی آن‌ها افزایش یافته است. محصولات طبیعی جایگزین مناسبی برای استفاده از مواد شیمیایی سمی و سایر آلاینده‌های زیست محیطی هستند. این محصولات مزایای بسیاری از نظر زیست محیطی، اقتصادی و اکولوژیکی دارند [10]. آنالیز ترکیبات مختلف موجود در این اسانس‌ها حاکی از وجود ترکیباتی با ویژگی‌های ضد میکروبی و ضد قارچی بالا در آن‌هاست. اسانس‌ها عمدتاً از ترکیبات ترپنوئیدی تشکیل شده‌اند. ترپن‌های معطر هیدروکربن‌های حلقوی هستند که به دلیل خاصیت آبگریزشان در دولایهٔ لیپیدی غشای سلولی میکروبی بر اساس ضریب تقسیمی که برای هر ترکیب خاص است تجمع می‌یابند. این تجمع به تغییر ساختار و عملکرد غشاء، یعنی اعمال اثرات منفی بر نیروی محرکه پروتون منجر می‌شود [11].

کشور ما ایران با آب‌وهوا و شرایط اکولوژیک متنوع، از تنوع و فراوانی گیاهان دارویی بالایی برخوردار است. لذا مطالعات روی این گیاهان از نظر بررسی خواص ضد میکروبی آن ها، بررسی ترکیب‌های ثانویه و مواد مؤثرهٔ موجود در این گیاهان و شناسایی مسیرهای بیوسنتزی مربوطه، به‌منظور فرمولاسیون این ترکیبات زمینهٔ مناسبی را فراهم نموده که از نتایج این بررسی‌ها برای جایگزین‌کردن سموم با ضدعفونی‌کننده‌های گیاهی برای کنترل فرسودگی زیستی استفاده شود. در ایران مطالعات مختلفی در خصوص تأثیر اسانس و عصاره‌های گیاهی روی عوامل بیماری‌زای انسانی و گیاهی انجام شده است [16-12]. ولی انتشارات علمی بسیار محدودی در مورد بهره‌برداری احتمالی از آن‌ها در حیطهٔ حفاظت از آثار تاریخی ازجمله کاغذ انجام شده است.

در این مطالعه اثر ضد قارچی اسانس سه گیاه آویشن شیرازی (Zataria multiflora Boiss)، اسطوخودوس (Lavandula angustifolia) و کُندر (Boswelli acarterii) (با توجه به دردسترس‌بودن، غیرسمی و ارزان و مقرون‌به‌صرفه بودن آویشن و اسطوخودوس در ایران با کُندر که ماده‌ای وارداتی است، مقایسه می‌شود) روی دوسویهٔ قارچی شایع جداسازی‌شده از اسناد تاریخی شامل پنیسیلیوم و آسپرژیلوس نیجر مورد ارزیابی قرار گرفت تا مشخص شود کدام اسانس می‌تواند مناسب‌ترین گزینه برای آفت‌زدایی آثار مکتوب باشد. همچنین تأثیرات فیزیکی و شیمیایی احتمالی استفاده از این اسانس‌ها به‌عنوان مادهٔ ضدعفونی‌کننده روی آثار کاغذی مورد مطالعه قرار گرفت.

۲. پیشینهٔ پژوهش

در دیگر کشورها، چندین مطالعه اثر اسانس‌های گیاهی مختلف روی میکروارگانیسم‌های مخرب جداسازی‌شده از چوب [17]، عکس‌های چاپی [7]، کاغذ [18,19]، چرم [20] را بررسی کردند. Rakotonirainy و همکارانش طی مطالعه‌ای اثر ضد قارچی اسانس‌های گیاهان مختلف ازجمله درمنه، میخک، بولدو، اکالیپتوس، راونسار (ravensare)، اسطوخودوس، درخت چای، تویا (thuya)، خاراگوش (wormseed) و ترکیبات اصلی آن‌ها در فاز بخار مورد آزمایش قرار داد. در بین ترکیبات این گیاهان، بخار لینالول بالاترین ویژگی ضد قارچی را داشت. ارزیابی اثرات مخرب احتمالی بخارات لینالول روی دو نوع کاغذ نشان داد که این ترکیب بر روشنایی و درجهٔ پلیمریزاسیون کاغذها تأثیری ندارد، اما مقادیر pH را کاهش می‌دهد [12]. مطالعهٔ دیگری که توسط Foksowicz-Flaczyk و همکاران [13] با هدف استفاده از مواد ضد عفونی سازگار با محیط زیست برای تیمار منسوجات آلوده به عوامل بیولوژیکی انجام شد. آن‌ها از روغن نعناع (Mentha piperita) به‌عنوان یک مادهٔ ضد عفونی‌کننده استفاده کردند که فعالیت ضد قارچی قابل قبولی علیه *Aspergillus niger* نشان داد. مطالعهٔ مشابهی توسط *Stupar* و همکاران [14] انجام شد که در آن از اسانس گیاه *Lamiaceae* و کلرید بنزالکونیوم علیه گونه‌های قارچی جداشده از سطح سنگ استفاده شد. گونه‌های قارچ مورد آزمایش از لایه‌های زیرین سنگی (*Epicoccum* nigrum و *Bipolaris spicifera*) جداسازی شدند. در مطالعه‌ای دیگر توسط *Neveen* و همکارانش [15] فعالیت‌های ضد قارچی اسانس گیاهی مختلف ازجمله زیرهٔ سیاه، کرچک، دارچین، میخک، زیره، سیر، شمعدانی، اسطوخودوس، علف لیمو، نعناع، زیتون و آویشن علیه شانزده گونه قارچ جداشده از سه اثر باستان‌شناسی شامل دیوار سنگی نقاشی‌شده، مجسمهٔ چوبی و تابوت سفالی در مصر مورد بررسی قرار گرفت. بیشترین میزان فعالیت ضد قارچی در این مطالعه توسط اسانس گیاه آویشن و به‌دنبال آن اسانس گیاهان میخک و شمعدانی گزارش شد. در این مطالعه گونهٔ *Aspergillus niger* بیشترین مقاومت و گونه‌های *Fusarium oxysporum* و *Penicilium citrinium* حساس‌ترین گونه‌های قارچی گزارش شدند.

۳. مواد و روش‌ها

تهیهٔ اسانس گیاهی

صد گرم از پودر آسیاب‌شدهٔ هریک از گیاهان مورد مطالعه در یک بالن دو لیتری ریخته و هزار میلی‌لیتر آب مقطر به آن‌ها اضافه شد. سپس با استفاده از دستگاه کلونجر (Clevenger) اسانس آن‌ها استخراج شدند. اسانس تهیه

شده در یک ظرف تیرهٔ دردار جمع‌آوری و برای انجام مطالعات بعدی در یخچال نگهداری شدند.

سویه‌های قارچی

به‌منظور ارزیابی سویه‌های قارچی شایع روی منابع کاغذی، مطالعات میدانی در بانک اطلاعاتی ادارهٔ کل حفاظت و مرمت سازمان اسناد و کتابخانهٔ ملی جمهوری اسلامی ایران، در بازهٔ زمانی سه‌ساله طی سال‌های ۹۸-۱۳۹۵ در مخازن و اسناد بایگانی ادارهٔ کل اطلاع‌رسانی معاونت اسناد ملی انجام گرفت. نتایج بررسی‌ها نشان داد دو نوع قارچ پنی سیلیوم (*Penicillium*) و آسپرژیلوس نیجر (*Aspergillus niger*) درصد فراوانیِ بیشتری نسبت‌به سایر قارچ‌های شناسایی‌شده روی آثار کاغذی دارند. در این مطالعه از دو سویهٔ قارچی آسپرژیلوس نیجر و پنی‌سیلیوم جداسازی‌شده از اسناد و کتب آلودهٔ موجود در آزمایشگاه بیولوژی سازمان اسناد و کتابخانه ملی ایران برای انجام آزمایشات بیولوژیکی استفاده شد. سپس از دو نوع محیط کشت با درنظرگرفتن نوع آزمایش از سابرو دکستروز آگار (SDA: Sabouraud Dextrose Agar) (merck، آلمان) و پوتیتو دکستروز آگار (PDA: Potato Dextrose Agar) (merck، آلمان) مورد استفاده قرار گرفت.

بررسی اثر ضد قارچی غلظت‌های مختلف اسانس‌های گیاهی

روش انتشار دیسک در آگار (Agar Disk Diffusion)

در این روش رقت‌های کمتر از اسانس‌های تهیه‌شده آماده گردید. برای این منظور، به‌ترتیب ۲، ۶، ۸ و ۱۰ میکرولیتر [19] از هریک از اسانس‌ها در یک میلی‌لیتر اتانول ۹۶درصد رقیق و روی کاغذ واتمن ضخیم استریل با قطر ۶ میلی‌متر تلقیح شد. دیسک‌های تهیه‌شده در ظرف دردار به‌مدت یک روز در یخچال نگهداری شدند تا به‌طور کامل خشک شوند. به‌منظور تهیهٔ سوسپانسون‌ها طبق استاندارد مؤسسه استاندارد بالینی و آزمایشگاهی CLSI با تعداد مشخصی از اسپورهای قارچی، پس از کشت قارچ روی محیط SDA و انکوباسیون آن به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۲۵ درجهٔ سانتی‌گراد، با کمک لوپ استریل، اسپورهای قارچی برداشته و در داخل آب مقطر استریل حاوی توین ۸۰ درصد تلقیح و تکان داده شد. میزان نشر نور از سوسپانسیون قارچی تهیه‌شده توسط دستگاه اسپکتروفتومتر مدل Cecil Instruments (انگلستان) در طول موج ۵۳۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. معیار قابل قبول ۶۵درصد نشر برای این شاخص در نظر گرفته شد که معادل ۴×۱۰^{۶}-۰/۵ CFU/ml (Colony-forming unit) اسپور می‌باشد [16]. سوسپانسیون تهیه‌شده از اسپور هر قارچ به‌طور جداگانه به‌صورت چمنی روی محیط کشت PDA کشت شده و دیسک‌های آماده با غلظت‌های مختلف از اسانس‌ها روی هر پلیت قرار داده و در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. پلیت‌ها در زمان‌های ۲۴، ۳۶ و ۴۸ ساعت انکوباسیون کنترل شده و مناطق مهارشده در پلیت‌ها اندازه‌گیری شدند. یک مهارکنندهٔ خوب و مناسب قطر مهارکنندگی بیش از نه میلی‌متر، مهارکنندهٔ متوسط قطری حدود ۹-۶ میلی‌متر و قطر مهارکنندهٔ پایین‌تر از ۶ میلی‌متر ضعیف و به عبارتی منفی در نظر گرفته می‌شود [17]. در این مطالعه، دیسک ضدعفونی‌شده بدون اسانس به‌عنوان شاهد منفی و دیسک‌های تجاری کلوتریمازول ۲درصد به‌عنوان شاهد مثبت مورد استفاده قرار گرفتند.

روش انتشار چاهک در آگار (Agar Well Diffusion)

در این روش از کشت آمیخته، عمیق و یا پورپلیت استفاده شد به‌نحوی که بعد از توزیع محیط کشت PDA در داخل پلیت‌ها و قبل از ژله‌ای‌شدن محیط، میزان صد میکرولیتر از سوسپانسون قارچی تهیه‌شده در مرحلهٔ قبل به پلیت اضافه و پنج‌بار به‌صورت هشت انگلیسی حرکت داده شد تا پراکندگی کلونی‌ها پس از رشد در پلیت یکنواخت باشد. سپس با کمک سرسمپلر استریل، چاهک‌هایی به قطر حدود شش میلی‌متر در محیط کشت تلقیح شده ایجاد شد. در نهایت ۳۰ میکرولیتر از رقت‌های مختلف تهیه‌شده از اسانس‌ها داخل چاهک ریخته شده و پلیت‌ها در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد [18]. در این سری آزمایش، به‌منظور وسعت بیشتر کشت قارچی، از رقت‌های بالاتر

۱۲/۵، ۲۵، ۷۵ و ۱۰۰ میکرولیتر بر میلی‌لیتر اتانول استفاده شد [20]. در این مطالعه، به‌عنوان نمونهٔ شاهد، ۳۰ میکرولیتر آب مقطر استریل و ۳۰ میکرولیتر اتانول ۹۶ درصد به‌طور جداگانه در داخل چاهک‌ها ریخته و پس از انکوباسیون نتایج مورد بررسی قرار گرفتند.

کشت قارچ روی کاغذ

برای مقایسهٔ اثرپذیری اسانس‌ها روی نمونه‌های قارچی در ابتدا تکه‌های کاغذی واتمن (CatNo. 1442) با ابعاد یکسان تهیه نموده و به‌وسیلهٔ دستگاه اتوکلاو ضدعفونی شده، سپس با کمک آنس مقداری از قارچ پنیسیلیوم و آسپرژیلوس نیجر به‌طور جداگانه روی کاغذها تلقیح شدند. هرکدام از تکه‌های کاغذ تلقیح‌شده داخل پلیت‌های یک‌بار مصرف استریل قرار داده شد و در محفظه‌ای نگهداری شدند، رطوبت محیط توسط یک بشرآب، تحت کنترل قرار گرفته شد. این پلیت‌ها حدود شش‌ماه در دمای محیط انکوبه شدند. در این مطالعه تکه کاغذ استریل بدون تلقیح به‌عنوان نمونهٔ شاهد منفی در نظر گرفته شد.

آزمون بخوردهی (فوموگاسیون)

هجده نمونه کاغذ کشت‌داده‌شده با قارچ‌های پنیسیلیوم و آسپرژیلوس نیجر با سطح آلودگی کم، متوسط و زیاد انتخاب شده و توسط دستگاه پانچر استریل سوراخی در حاشیهٔ کاغذ ایجاد شد. سه عدد شیشهٔ استریل با حجم یکسان انتخاب و به‌وسیلهٔ نخ، قطعات کاغذهای آلوده، به تفکیک نوع قارچ و با فاصله از هم، در داخل ظرف شیشه‌ای به‌طور معلق آویزان شدند. سپس داخل هر ظرف شیشه‌ای بشرهای حاوی ۵ میلی‌لیتر اسانس آویشن با رقت ۸، اسطوخودوس با رقت ۱۲/۵ و کُندر با رقت ۲۵ به‌طور جداگانه و پس از مسدودکردن درب شیشه‌ها با پارافیلم در دمای محیط و در تاریکی انکوبه شدند. برای بررسی تأثیر اسانس روی قارچ‌ها پس از ۱ ، ۲ و ۷ روز کاغذهای بخوردهی را از ظرف خارج کرده و آزمایش کشت از کاغذهای تیمارشده انجام گرفت.

فرآیند پیرسازی تسریعی

برای بررسی تأثیرات فیزیکی احتمالی استفاده از اسانس به‌عنوان مادهٔ ضدعفونی‌کنندهٔ شیمیایی طبیعی، تمامی آزمایش‌ها روی کاغذ تیمار با اسانس باید پیش و پس از پیرسازی انجام شود. در این مطالعه برای انجام پیرسازی کاغذ از دستگاه Binder مدل ۹۵۷۱۲ – KBF ۱۱۵۰۶ ساخت کشور آلمان استفاده شد. نمونه‌های مورد آزمون طبق استاندارد شمارهٔ ۱۳۳ سازمان ملی استاندارد ایران نمونه‌برداری شده و طبق استاندارد ملی ایران، شماره ۱۰۶ طی مدت زمان ۷ روز در دمای ۸۰ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۶۵ درصد قرار گرفتند. طی بازدید به‌عمل آمده، همهٔ نمونه‌ها در وضعیت قابل قبولی بودند و بر اساس استاندارد مربوطه نمونه‌های کاغذی برای مدت ۲۵سال پیر شدند [21] و سپس خصوصیات مورد نظر نمونه‌های آزمونی قبل و بعد با یکدیگر مقایسه شدند.

بررسی تغییرات اسیدیتهٔ نمونه‌ها (pH)

در این مطالعه، میزان اسیدیتهٔ نمونه‌های کاغذی با استفاده از دستگاه pH متر Metrohm مدل ۸۲۶ با استفاده از یک الکترود سر تخت و طبق استاندارد شماره ۰۴ – TAPPI T529 اندازه‌گیری شد.

بررسی تغییرات وزنی نمونه‌ها

برای بررسی تغییرات وزنی نمونه‌های تیمارشده با اسانس‌ها پیش و پس از پیرسازی، از نمونه‌های کاغذ واتمن به ابعاد ۱/۵× ۱۴ سانتی‌متر استفاده شد. وزن نمونه‌ها با ترازوی Sartorius مدل TE313S ساخت کشور آلمان (با دقت ۰/۰۰۱) اندازه‌گیری و اختلاف وزن نمونه‌های تیمارشده قبل m_1 و پس از پیرسازی m_2 ($\Delta m = m_2 - m_1$) محاسبه شد.

بررسی تغییرات ضخامت نمونه‌ها

برای اندازه‌گیری این پارامتر از دستگاه ضخامت Messmer Buche مدل M۱۲۰ ساخت آمریکا استفاده شد. بدین منظور از سه قسمت مختلف نمونه‌های کاغذ واتمن به ابعاد ۱/۵×۱۴ سانتی‌متر اندازه‌گیری شده و متوسط آن را به‌دست آورده و

در نهایت اختلاف مقادیر در مرحلهٔ پیش و پس از پیرسازی نمونه‌های کاغذ تیمارشده با اسانس‌های گیاهی محاسبه شد.

بررسی تغییرات رنگ کاغذ در اثر بخوردهی با اسانس

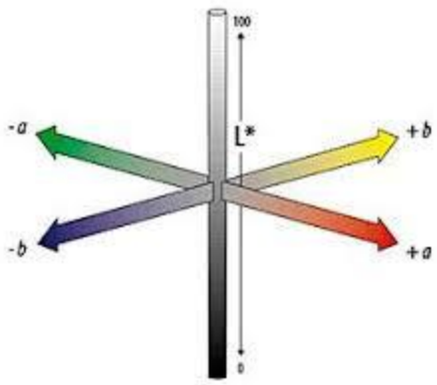
به‌منظور ارزیابی تأثیر اسانس‌ها روی کاغذ، به تعداد ۳۲ مورد کاغذ واتمن با ابعاد یکسان تهیه شد، سپس ۲۴ مورد به روش غوطه‌وری در معرض اسانس قرارگرفتند. لازم به توضیح است که غلظت اسانس‌ها طبق نتایج آزمون اثر بازدارندگی آن‌ها بر سویه‌های قارچی تعیین می‌شود. پس از خشک‌شدن ۱۲ مورد از آن‌ها داخل دستگاه تسریع پیرسازی قرار داده شده و ۱۲ نمونهٔ دیگر برای آزمایش‌های قبل از پیرسازی مورد بررسی قرار گرفت. سپس با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر CM-2600d ساخت کشور ژاپن با سیستم CIE lab رنگ‌سنجی نمونه‌ها انجام شد. همچنین اختلاف رنگ نمونه با فرمول زیر محاسبه شد:

$$\Delta E^*_{ab} = \sqrt{(L^*_2 - L^*_1)^2 + (a^*_2 - a^*_1)^2 + (b^*_2 - b^*_1)^2}$$

*a: محور قرمز– سبز

*b: محور زرد– آبی

*L: محور روشنی– تیرگی



شکل ۱: سیستم CIE lab– L: محور روشنی–تیرگی، a: محور قرمز– سبز و b: محور زرد–آبی

Fig 1: CIE lab system- L: lightness-darkness axis, a: red-green axis and b: yellow-blue axis

٤. نتایج، یافته‌ها و بحث

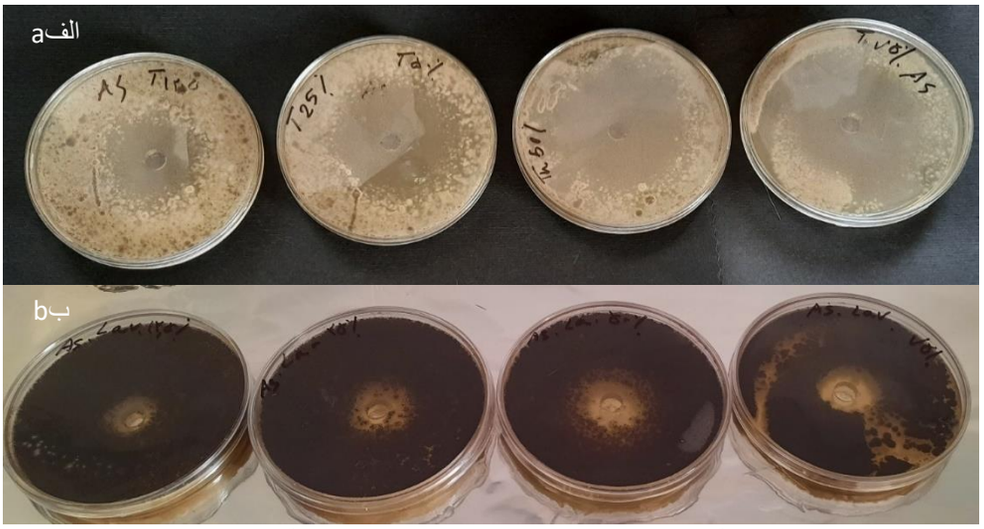
اثر بازدارندگی اسانس‌ها روی سویه‌های قارچی

نتایج حاصل از بررسی اثر بازدارندگی اسانس‌ها روی دو سویهٔ قارچی آسپرژیلوس و پنیسیلیوم با دو روش Agar disk diffusion و Agar well diffusion در جدول ۱ نشان داده شده است. هرسه اسانس گیاهی مورد بررسی دارای اثر ضد قارچی بودند، ولی بررسی اندازهٔ هالهٔ عدم رشد در اطراف چاهک‌ها حاکی از آن بود که دوز مناسب برای ممانعت رشد دو سویهٔ قارچی مورد مطالعه برای اسانس آویشن ۸، اسطوخودوس ۱۲/۵ و کُندر ۲۵ میکرولیتر در میلی‌لیتر اتانول است. لذا اسانس گیاه آویشن بیشترین اثر بازدارندگی و گیاه کُندر کمترین اثر بازدارندگی روی دو سویهٔ قارچی مورد مطالعه در هر دو روش دیسک‌گذاری و چاهک‌گذاری را نشان دادند.

تحقیقات انجام‌شده نشان داد نتایج این مطالعه با نتایج مطالعات پیشین انجام‌شده روی این سه اسانس در ایران روی قارچ‌های بیماری‌زای انسانی و گیاهی مطابقت دارد [22-25]. پیش از این اثر ضد قارچی اسانس گیاه اسطوخودوس روی قارچ *Fusarium oxysporum* گزارش شده‌است [23]. همچنین با توجه

به نتایج آزمون‌های آزمایشگاهی و انباری، اسانس اسطوخودوس ظرفیت بالایی برای کنترل بیماری‌های قارچ‌های خوراکی دارد [24]. علاوه‌بر این، اسانس آویشن شیرازی دارای اثر بازدارندگی قابل توجهی روی رشد قارچ آسپرژیلوس فلاووس نشان داده‌است [25]. دیگر اینکه اسانس گیاه کُندر اثر ضد میکروبی قابل قبولی علیه سویه‌های قارچی عامل فساد میوه توت‌فرنگی (بوتریتیس سینه‌را، آسپرژیلوس نیجر و رایزوپوس استولونیفر) دارد [26].

در شکل ۲ تفاوت اثر بازدارندگی آویشن و اسطوخودوس روی قارچ آسپرزیلوس نیجر نشان داده می‌شود. همان‌طور که در این شکل مشاهده می‌شود توان ضد قارچی آویشن به نحوی است که از کامل‌شدن شکل ظاهری آسپرژیلوس نیجر جلوگیری می‌کند.



شکل ۲: الف– مقایسه اثر غلظت‌های آویشن به ترتیب از چپ ۱۲، ۲۵/۵، ۵۰ و ۷۵ روی قارچ آسپرژیلوس نیجر (روز ۳) ، ب– مقایسه اثر غلظت‌های اسطوخودوس به ترتیب از چپ ۱۲، ۲۵/۵، ۵۰ و ۷۵ روی قارچ آسپرژیلوس نیجر (روز ۷)

Fig 2: A- Comparison of the effect of thymus concentrations from the left 12, 25.5, 50 and 75 respectively on Aspergillus Niger fungus (day 3), B- Comparison of the effect of lavender concentrations from the left 12, 25.5, 50 and 75 on Aspergillus Niger fungus (day 7)

جدول ۱: اثر بازدارندگی اسانس‌ها روی دو سویهٔ قارچی پنی‌سیلیوم و آسپرژیلوس

Table 1: The inhibitory effect of essential oils on two fungal strains of Penicillium and Aspergillus

اسانس	Agar Well Diffusion			Agar Disk Diffusion		
	غلظت (µl/ml)	هالهٔ عدم رشد (mm)		غلظت (µl/ml)	هالهٔ عدم رشد (mm)	
		پنی‌سیلیوم	آسپرژیلوس نیجر		پنی‌سیلیوم	آسپرژیلوس نیجر
آویشن	۱۲/۵	۳۷	۳۶	۲	کاهش بار رشد	کاهش بار رشد
	۲۵	۴۶	۴۴	۶	۶	۶
	۵۰	۴۸	۴۶	۸	۹	۱۰
	۷۵	۵۱	۵۰	۱۰	۱۱	۱۰
	۱۰۰	۵۸	۵۷	–	–	–
اسطوخودوس	۱۲/۵	۱۳	۱۴	۲	–	–
	۲۵	۱۴	۱۳	۶	کاهش بار رشد	–
	۵۰	۱۵	۱۴	۸	۶	۶
	۷۵	۱۷	۱۵	۱۰	۷	۶
	۱۰۰	۳۶	۳۵	–	–	–
کُندر	۱۲/۵	۱۱	۶	۲	–	–
	۲۵	۱۳	۱۰	۶	–	–
	۵۰	۱۴	۱۲	۸	کاهش بار رشد	کاهش بار رشد
	۷۵	۱۸	۱۵	۱۰	۷	۶
	۱۰۰	۲۲	۱۹	–	–	–

آزمون بخوردهی (فوموگاسیون)

نتیجهٔ آزمایش در نوبت اول ضدعفونی با سه اسانس مورد بررسی نشان داد، در هرسه، در روز اول به غیر از یک مورد (یک کلنی آسپرژیلوس نیجر از کشت‌های بعد از ضدعفونی مربوط به اسانس آویشن)، رشد قارچی دیده نشد. در روز دوم بخوردهی به بعد، تمامی کشت‌ها عاری از رشد قارچی بودند (جدول ۲). لذا طبق نتایج بصری ترکیبات فرار سه اسانس مورد آزمایش روی سویه‌های قارچی که پیش از این روی نمونه‌های کاغذ کشت داده شده بود، دارای اثر ضد قارچی بوده و از رشد کلی هر دو سویهٔ قارچی آزمایش شده جلوگیری می‌کنند.

سنجش تغییرات وزن و ضخامت کاغذ

میانگین نتایج به‌دست‌آمده از بررسی وزن و ضخامت کاغذ در دو مرحلهٔ قبل و پس از پیرسازی، روی نمونه‌های تیمارشده با اسانس‌های مورد مطالعه (چهار نمونه برای هر اسانس) و چهار نمونه شاهد در نمودارهای ۱ و۲ نشان داده شده است. بر اساس نتایج به‌دست‌آمده میزان تغییرات وزن (Δm) قبل و پس از پیرسازی روی نمونه کاغذ شاهد و کاغذهای تیمارشده با اسانس آویشن، اسطوخودوس و کُندر به ترتیب ۰/۰۰۱، ۰/۰۰۵، ۰/۰۰۲ و ۰/۰۰۴ بود (نمودار۱). همچنین میزان تغییرات ضخامت (ΔI) پیش و پس از پیرسازی روی نمونه کاغذ شاهد ۰/۰۰۳، نمونه کاغذ تیمارشده با آویشن ۰/۰۰۴، اسطوخودوس ۰/۰۰۵ و کُندر ۰/۰۰۱ بود (نمودار۲). با بررسی و ارزیابی نتایج به‌دست‌آمده از تغییرات وزن و ضخامت در کاغذ روی نمونه‌های تیمارشده با اسانس‌های مختلف می‌توان گفت تغییرات محسوس و معناداری از نظر وزن و ضخامت، پس از پیرسازی نسبت‌به نمونهٔ شاهد مشاهده نشد.

سنجش تغییرات pH

همان‌طور که نمودار ۳ نشان می‌دهد، میزان تغییرات pH یا ΔpH پیش و پس از پیرسازی در نمونهٔ کاغذ شاهد ۰/۰، کاغذ تیمارشده با آویشن ۰/۰، اسطوخودوس و کُندر ۰/۳ است. لذا طبق نتایج این بررسی میزان کاهش pH نمونه‌های کاغذ تیمارشده با اسانس‌های کُندر و اسطوخودوس پس از پیرسازی حدود ۰/۳ بیشتر از نمونه‌های شاهد و تیمارشده با آویشن است. با وجود این، همان‌طور که نتایج نشان می‌دهد، همچنان میزان pH کاغذهای تیمارشده با دو اسانس اسطوخودوس و کُندر قبل و پس از پیرسازی بیشتر از کاغذ شاهد و تیمارشده با آویشن است. به عبارت دیگر اسطوخودوس و کُندر می‌توانند اسیدیته کاغذ را افزایش دهد.

سنجش تغییرات رنگ در کاغذ

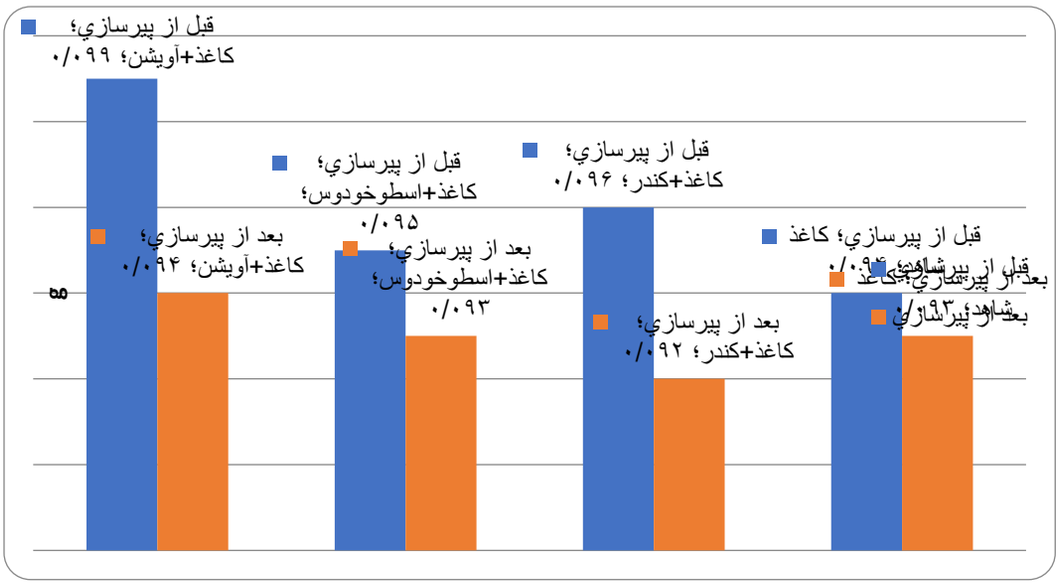
نتایج حاصل از مقایسهٔ تغییرات رنگ روی نمونه‌های کاغذ تیمارشده با اسانس‌های مختلف پیش و پس از پیرسازی در جدول ۳ خلاصه شده است. بر اساس نتایج، میزان تغییر رنگ یا ΔEab قبل از پیرسازی نمونه‌های تیمارشده با اسانس آویشن، اسطوخودوس و کُندر در مقایسه با نمونه شاهد به ترتیب ۰/۳، ۰/۰ و ۰/۶ محاسبه شد. همچنین و به همین ترتیب تغییر رنگ این نمونه‌ها بعد از پیرسازی عبارت‌اند از: ۱/۹، ۰/۹ و ۱/۴. لذا نتایج نشان می‌دهد که کمترین تغییر رنگ چه قبل چه بعد از پیرسازی مربوط به نمونه کاغذهای تیمارشده با اسطوخودوس است. درحالی‌که بیشترین تغییر رنگ در خصوص نمونه کاغذ تیمارشده با آویشن پس از پیرسازی یعنی ۱/۹ است. همچنین بیشترین تغییر رنگ قبل از پیرسازی نمونه‌های تیمارشده مربوط به کُندر به میزان ۰/۶ است.

نمودارهای ۴الف، ۴ب و ۴ج نیز تغییرات هریک از پارامترهای L، a و b نمونه‌های تیمارشده را نسبت‌به نمونهٔ شاهد قبل و بعد از پیرسازی نشان می‌دهند. همان‌طور که در نمودار ۴الف مشاهده می‌شود بیشترین تغییر میزان روشنی–تیرگی در نمونه شاهد پس از پیرسازی مشاهده می‌شود و کمترین تغییر در نمونهٔ تیمارشده با آویشن است. نمودار ۴ب نیز نشان می‌دهد پارامتر a مربوط به نمونهٔ شاهد و کاغذ تیماره‌شده با کُندر پس از پیرسازی کاهش زیاد داشته و به طرف رنگ سبز متمایل شده (مراجعه شود به شکل ۱) و همان‌طور که در نمودار ۴ج نشان می‌دهد افزایش پارامتر b پس از پیرسازی نشان‌دهندهٔ تمایل نمونه‌ها خصوصاً نمونهٔ شاهد و بعد از آن کاغذ تیمارشده با اسطوخودوس به طرف رنگ زرد است.

جدول ۲: اثر بخوردهی اسانس‌ها بر آلودگی‌های قارچی موجود روی کاغذ

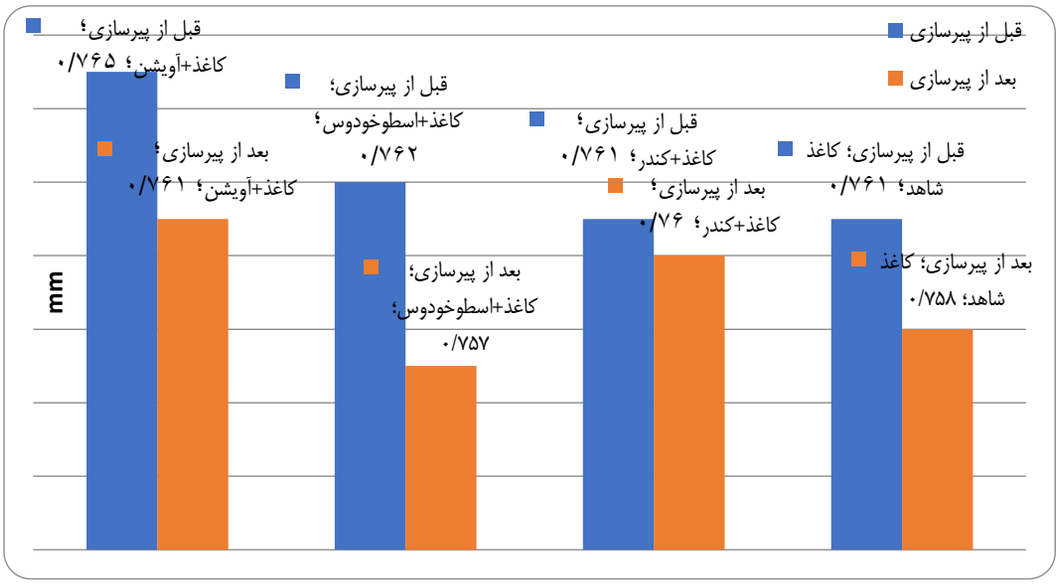
Table 2: The effect of fumigation of essential oils on fungal contamination on paper

کاغذ آلوده	قارچ آسپرژیلوس‌نیجر (تعداد کلنی)				قارچ پنی‌سیلیوم (تعداد کلنی)			
اسانس	قبل از بخوردهی	۱روز بعد از بخوردهی	۲روز بعد از بخوردهی	۷روز بعد از بخوردهی	قبل از بخوردهی	۱روز بعد از بخوردهی	۲روز بعد از بخوردهی	۷روز بعد از بخوردهی
آویشن	۲۹	۱	–	–	۸۲	–	–	–
اسطوخودوس	۱۹	–	–	–	۳۰	–	–	–
کُندر	۷	–	–	–	۱۵	–	–	–



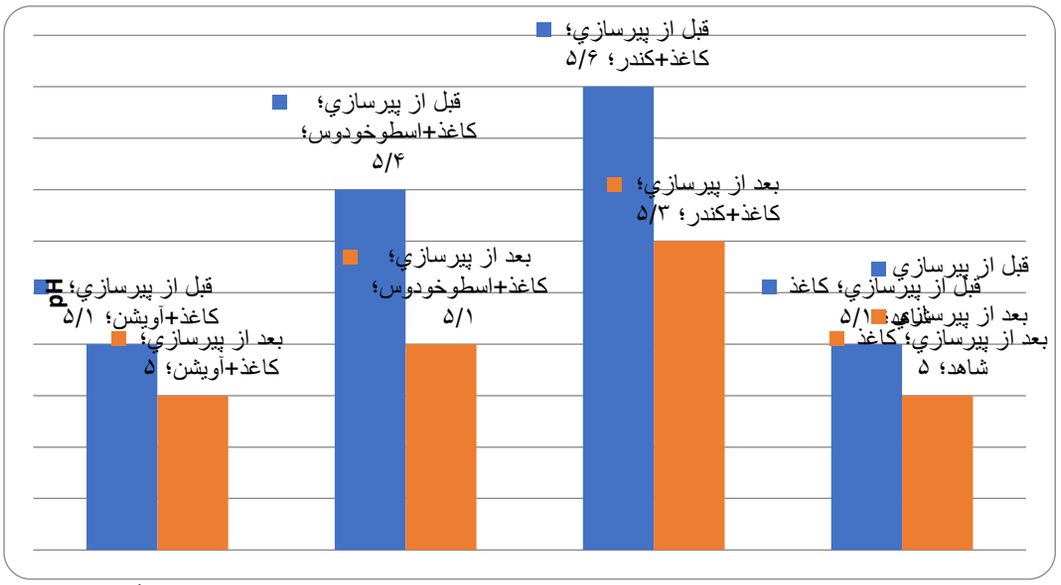
نمودار ۱: مقایسهٔ متوسط تغییرات وزن نمونه‌های کاغذ واتمن تیمارشده با اسانس‌ها

Chart 1: Comparison of average weight changes (g) of Whatman paper samples treated with essential oils



نمودار ۲: مقایسه متوسط تغییرات ضخامت نمونه‌های کاغذ واتمن تیمارشده با اسانس‌ها

Chart 2: Comparison of average thickness changes (mm) of Whatman paper samples treated with essential oils



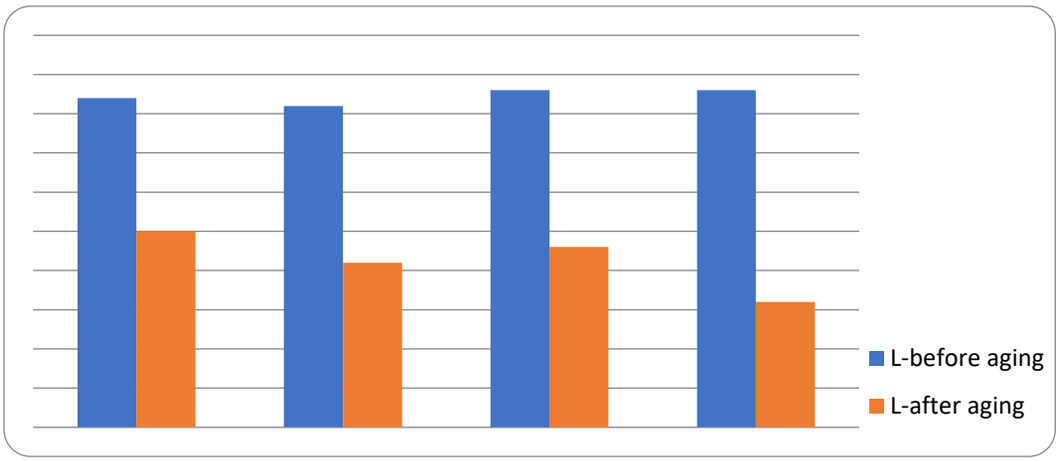
نمودار ۳: مقایسهٔ متوسط تغییرات اسیدیته (pH) نمونه‌های کاغذ واتمن تیمارشده با اسانس‌های آویشن، اسطوخودوس و کُندر پیش و پس از پیرسازی

Chart 3: Comparison of average acidity (pH) of Whatman paper samples treated with thymus, lavender and Boswellia essential oils before and after aging.

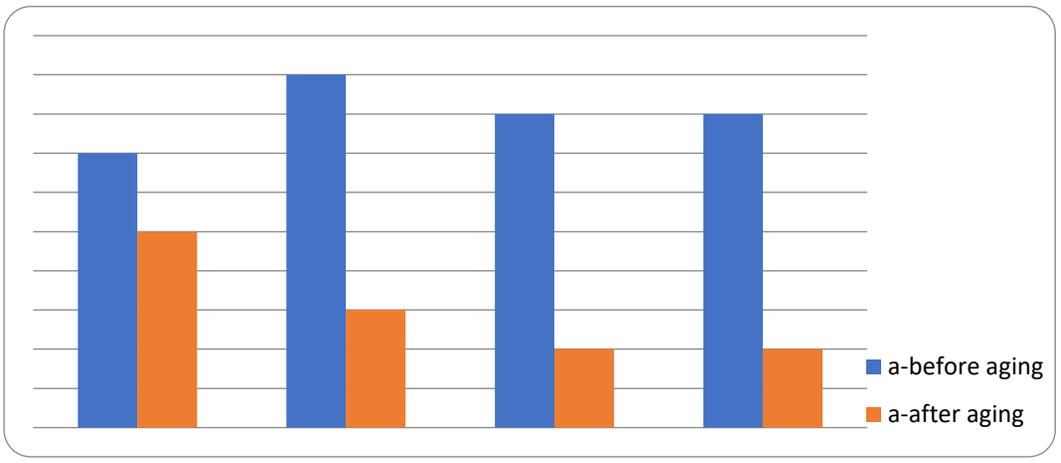
جدول ۳: میانگین تغییر رنگ نمونه‌های کاغذ تیمارشده با اسانس‌های مورد مطالعه قبل و بعد از پیرسازی در مقایسه با نمونه کاغذ شاهد

Table 3: The average color change of the paper samples treated with the studied essential oils before and after aging in comparison with the control paper sample.

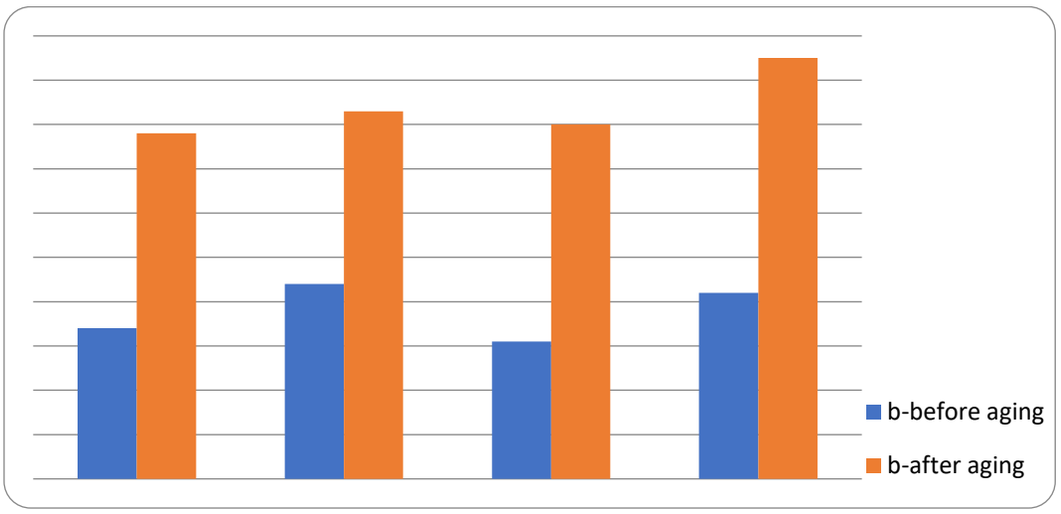
نمونه	تغییر رنگ	L	a	b	ΔEab
کاغذ شاهد	قبل از پیرسازی	۹۱/۳±۰/۱	۰/۸±۰/۲	۴/۲±۰/۷	–
	بعد از پیر سازی	۸۸/۶±۰/۳	۰/۲±۰/۱	۹/۵±۰/۹	–
کاغذ تیمارشده با آویشن	قبل از پیرسازی	۹۱/۲±۰/۲	۰/۷±۰/۱	۳/۴±۰/۶	۰/۳
	بعد از پیر سازی	۸۹/۵±۰/۲	۰/۵±۰/۱	۷/۸±۰/۳	۱/۹
کاغذ تیمارشده با اسطوخودوس	قبل از پیرسازی	۹۱/۱±۰/۲	۰/۹±۰/۱	۴/۴±۰/۴	۰/۰
	بعد از پیر سازی	۸۹/۱±۰/۳	۰/۳±۰/۱	۸/۳±۰/۶	۰/۹
کاغذ تیمارشده با کُندر	قبل از پیرسازی	۹۱/۳±۰/۱	۰/۸±۰/۱	۳/۱±۰/۴	۰/۶
	بعد از پیر سازی	۸۹/۳±۰/۲	۰/۲±۰/۱	۸/۰±۰/۴	۱/۴



(الف)



(ب)



(ج)

نمودار ۴: مقایسه تغییرات پارامترهای L، a و b نمونه‌های تیمارشده را نسبت‌به نمونهٔ شاهد قبل و بعد از پیری به ترتیب در نمودارهای الف، ب و ج

Chart 4: Comparison of the changes in L, a and b parameters of the treated samples compared to the control sample before and after aging in charts a, b and c respectively.

۵. نتیجه‌گیری

نتایج به‌دست‌آمده در این مطالعه تأیید می‌کند که سه اسانس آزمایش‌شده (آویشن با شروع دوز ۸، اسطوخودوس با دوز ۱۲/۵ و کُندر با دوز ۲۵) در برابر سویه های قارچی که باعث تخریب آثار کاغذی می‌شوند، مؤثر هستند. ولی بر اساس دوز مورد نیاز برای فعالیت ضد قارچ و باکتریایی، می‌توان گفت اسانس آویشن فعالیت ضد قارچی بیشتری نسبت‌به اسانس اسطوخودوس و کُندر دارد. در مقابل بیشترین تغییر رنگ نمونه‌ها پس از پیرسازی مربوط به کاغذ تیمارشده با آویشن بود و کمترین تغییر رنگ مربوط به کاغذ تیمارشده با اسطوخودوس تعیین شد. علاوه‌بر این، اسانس‌های کُندر و اسطوخودوس pH کاغذهای تیمارشده را افزایش داده و این کاغذها پس از پیرسازی اگرچه با کاهش بیشتری در pH همراه بودند، همچنان این میزان از نمونه‌های دیگر بالاتر بود. لازم به ذکر است که تغییرات محسوس و معناداری از نظر وزن و ضخامت، پس از پیرسازی نمونه‌های تیمارشده نسبت‌به نمونهٔ شاهد مشاهده نشد.

در مجموع، باید گفت آویشن به دلیل اثر ضد قارچی بالا و همچنین عدم مشاهده اثرات نامطلوب آن بر ویژگی‌های بصری و pH کاغذ گزینهٔ مناسب‌تر و امیدوارکننده‌ای برای حفاظت از آثار کاغذی در برابر تخریب زیستی ناشی از قارچ‌ها به‌شمار می‌آید.

بدیهی است که واکنش‌های متقابل میان اسانس‌های گیاهی و آثار کاغذی و تاثیرات دراز مدت آن‌ها نیازمند مطالعات شیمیایی و تحقیقات گسترده‌تری است که باید در آینده صورت گیرد.

٦. سپاسگزاری

این مقاله برگرفته از پایان‌نامهٔ کارشناسی ارشد خانم لیلا بیدار از دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکز است. شایسته است از همکاری و حمایت‌های جناب آقای دکتر جمالی‌فر، درگروه کنترل دارو و غذا مرکز تحقیقات علوم دارویی دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی- درمانی تهران؛ جناب آقای دکتر سنبلی، مدیریت پشتیبانی پژوهشی و فناوری و عضو هیئت علمی در پژوهشکده گیاهان و مواد اولیه دارویی دانشگاه شهید بهشتی؛ جناب آقای احدی، کارشناس آزمایشگاه کشاورزی دانشگاه شهید بهشتی و همکاری سازمان اسناد و کتابخانه ملی جمهوری اسلامی ایران تشکر و قدردانی گردد.

پی نوشت ها

۱. آب مورد نیاز برای میکروارگانیسم‌ها با عنوان آب قابل دسترس یا فعالیت آبی بیان می‌شود که عبارت است از نسبت فشار بخار آب محلول به فشار بخارآب خالص.

References

[1] Joseph E. Microorganisms in the Deterioration and Preservation of Cultural Heritage: Springer Nature; 2021.

[2] Pinzari F, Pasquariello G, De Mico A, editors. Biodeterioration of paper: a SEM study of fungal spoilage reproduced under controlled conditions. Macromolecular Symposia; 2006: Wiley Online Library.

[3] Sterflinger K. Fungi: their role in deterioration of cultural heritage. Fungal biology reviews. 2010;24(1-2):47-55.

[4] Koul B, Upadhyay H. Fungi-Mediated Biodeterioration of Household Materials ,Libraries, Cultural Heritage and Its Control. Fungi and their Role in Sustainable Development: Current Perspectives: Springer; 2018. p. 597-615.

[5] Pinheiro AC, Sequeira SO, Macedo MF. Fungi in archives, libraries, and museums: a review on paper conservation and human health. Critical reviews in microbiology. 2019;45(5-6):686-700.

[6] Romero SM, Giudicessi SL, Vitale RG. Is the fungus Aspergillus a threat to cultural heritage? Journal of Cultural

Heritage. 2021;51:107-24.

[7] Ali M. Effect of Five Essential Oils as Green Disinfectants on Selected Photographic Prints: Experimental Study. Conservation Science in Cultural Heritage. 2020;20:79-97.

[8] Kakakhel MA, Wu F, Gu J-D, Feng H, Shah K, Wang W. Controlling biodeterioration of cultural heritage objects with biocides: A review. International Biodeterioration & Biodegradation. 2019;143:104721.

[9] Sequeira SO, Cabrita EJ, Macedo MF. Fungal biodeterioration of paper: how are paper and book conservators dealing with it? An international survey. Restaurator International Journal for the Preservation of Library and Archival Material. 2014;35(2):181-99.

[10] Sequeira S, Cabrita EJ, Macedo MF. Antifungals on paper conservation: An overview. International Biodeterioration & Biodegradation. 2012;74:67-86.

[11] Sikkema J, de Bont JA, Poolman B. Interactions of cyclic hydrocarbons with biological membranes. Journal of biological Chemistry. 1994;269(11):8022-8.

[12] Rakotonirainy MS, Lavédrine B. Screening for antifungal activity of essential oils and related compounds to control the biocontamination in libraries and archives storage areas. International biodeterioration & biodegradation. 2005;55(2):141-7.

[13] Foksowicz-Flaczyk J, Walentowska J. Eco-friendly antimicrobial finishing of natural fibres. Molecular Crystals and Liquid Crystals. 2008;484(1):207–578.

[14] Stupar M, Grbić ML, Džamić A, Unković N, Ristić M, Jelikić A, et al. Antifungal activity of selected essential oils and biocide benzalkonium chloride against the fungi isolated from cultural heritage objects. South African Journal of Botany. 2014;93:118-24.

[15] Geweely NS, Afifi HA, Ibrahim DM, Soliman MM. Efficacy of essential oils on fungi isolated from archaeological objects in Saqqara excavation, Egypt. Geomicrobiology Journal. 2019;36(2):148-68.

[16] Zarai Z, Kadri A, Ben Chobba I, Ben Mansour R, Bekir A, Mejdoub H, et al. The in-vitro evaluation of antibacterial, antifungal and cytotoxic properties of Marrubium vulgare L. essential oil grown in Tunisia. Lipids in health and disease. 2011;10(1):1–8.

[17] Palla F, Bruno M, Mercurio F, Tantillo A, Rotolo V. Essential oils as natural biocides in conservation of cultural heritage. Molecules. 2020;25(3):730.

[18] Beressa TB, Deyno S, Alele PE. Antifungal activity of the essential oil of Echinops kebericho Mesfin: an in vitro study. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. 2020;e 3101324.

[19] Taheri, Razieh, Thesis, Pesticide effect of plant extracts according to written sources from the 6th century to the present on paper works, 1390.

[20] Valentina ROTOLO, Plant extracts as green potential strategies to control the Biodeteration of cultural heritage, 2016

[21] Shahani CJ, Hengemihle F, Lindsey N, Lee SB, Smith T, Weberg N, et al. Accelerated Aging of Paper: Can it Really Foretell the Permanence of Paper: Preservation Research and Testing Series No. 95031995.

[22] Salek H, Salek R, Tafresh KH. Investigating the antifungal activity of rosemary (Rosmarinus officinalis) and lavender (Lavandula angustifolia) essential oils against Fusarium oxysporum. Second International Conference on Applied Research in Agricultural Sciences. 2014.

[سالک معراجی هادی، سالک نقدی روح‌اله، تفرشی سید خشایار. بررسی فعالیت ضد قارچی اسانس گیاه رزماری (Rosmarinus officinalis) و اسطوخودوس (Lavandula angustifolia) علیه قارچ Fusarium oxysporum. دومین همایش ملی پژوهش‌های کاربردی در علوم کشاورزی۱۳۹۳.]

[23] Nouri F, Raoofi A, Dadfar S. Antifungal Activity of Lavandula Angustifolia and

M. Investigating the effect of lavender essence on dry bubble disease in Agaricus bisporus. Applied Plant Protection. 2018;7,(2):111-122.

[غلام‌نژاد ج، اللهیاری م، ملکی م. بررسی تأثیر اسانس گیاه اسطوخودوس برای کنترل بیماری حباب خشک در قارچ خوراکی دکمه‌ای گیاه‌پزشکی کاربردی۱۳۹۷ ۷ (۲): ۱۲۲-۱۱۱]

[26] Rahmati-Joneidabad M, Alizadeh behbahani B. Boswellia sacra essential oil: Antioxidant activity and antifungal effect on some spoilage fungi causing strawberry rot. Journal of food science and technology(Iran). 2021;18(114):25-34.

[رحمتی جنیدآباد مصطفی، علیزاده بهبهانی بهروز. اسانس کُندر (Boswellia sacra): قدرت آنتی‌اکسیدانی و اثر ضدقارچی آن بر تعدادی از سویه‌های عامل فساد میوهٔ توت فرنگی. علوم و صنایع غذایی ایران. ۱۴۰۰، ۱۸(۱۱۴): ۲۵ تا ۳۴.]

Quergues Infectoria Extracts in Comparison with Nystatin on Candida Albicans. Avicenna Journal of Clinical Medicine. 2016;23(2):172-8.

[نوری فهیمه، رئوفی امیر، دادفر سونیا. مقایسهٔ آزمایشگاهی اثر ضد قارچ عصاره‌های گیاهی اسطوخودوس و مازو بر مخمر کاندیدا آلبیکانس با نیستاتین. مجلهٔ پزشکی بالینی ابن‌سینا. ۱۳۹۵، ۲۳،(۲): ۱۷۲ تا ۱۷۸.]

[24] Panahi Rad S, Zare F, Alizadeh S, Safai N, Safaralizadeh, R. Investigating the effect of Shirazi thyme essential oil (Zataria multiflora Boiss) on preventing the growth of Aspergillus flavus. National Conference on Medicinal Plants. 2010.

[پناهی‌راد سیما، زارع نهندی فریبرز، علیزاده سعیده سالطه، صفایی ناصر، صفرعلیزاده راضیه. بررسی اثر اسانس آویشن شیرازی (Zataria multiflora Boiss) بر جلوگیری از رشد قارچ آسپرژیلوس فلاووس. همایش ملی گیاهان دارویی ۱۳۸۹.]

[25] Gholamnezhad J, Alahyari M, Maleki