

# PATENTOVÝ SPIS

(11) Číslo dokumentu:

## 306 676

(13) Druh dokumentu: **B6**

(51) Int. Cl.:

*A01N 25/00* (2006.01)  
*A01N 27/00* (2006.01)  
*A01N 31/14* (2006.01)

(19)  
ČESKÁ  
REPUBLIKA



ÚŘAD  
PRŮMYSLOVÉHO  
VLASTNICTVÍ

(21) Číslo přihlášky: **2015-597**  
(22) Přihlášeno: **02.09.2015**  
(40) Zveřejněno: **15.03.2017**  
**(Věstník č. 11/2017)**  
(47) Uděleno: **22.03.2017**  
(24) Oznámení o udělení ve věstníku: **03.05.2017**  
**(Věstník č. 18/2017)**

(56) Relevantní dokumenty:

J Agric Food Chem., 2005 Nov 30;53(24):9452-8; Kordali S. et al.: "Determination of the chemical composition and antioxidant activity of the essential oil of Artemisia dracunculus and of the antifungal and antibacterial activities of Turkish Artemisia absinthium, A. dracunculus, Artemisia santonicum, and Artemisia spicigera essential oils."; DOI: 10.1021/jf0516538; International Biodeterioration & Biodegradation 74 (2012) 67e86; S. Sequeira et al.: "Antifungals on paper conservation: An overview"; South African Journal of Botany 2014 Vol.93 pp.118-124; Stupar, M. et al.: "Antifungal activity of selected essential oils and biocide benzalkonium chloride against the fungi isolated from cultural heritage objects"; DOI : 10.1016/j.sajb.2014.03.016; Int J Pharm Bio Sci 2015 Jan; 6(1): (B) 656 - 663 ; NEERAJ SRIVASTAVA: "IN VITRO ASSESSMENT OF FUNGITOXICITY OF CINNAMON BARK OIL AGAINST ASPERGILLUS SPP.";

(73) Majitel patentu:

Ústav analytické chemie AV ČR, v. v. i., Brno, CZ

(72) Původce:

Ing. Kamil Křůmal, Ph.D., Jeseník, CZ  
Ing. Zbyněk Večeřa, CSc., Čebín, CZ

(54) Název vynálezu:

**Přípravek pro ošetření celulózy a/nebo ligno-celulózy proti napadení plísními a pro likvidaci plísní v těchto materiálech, jeho použití a způsob ochrany materiálů**

(57) Anotace:

Předkládané řešení poskytuje přípravek pro preventivní ošetření celulózy a/nebo ligno-celulózy proti napadení plísními a pro likvidaci plísní v celulózy a/nebo ligno-celulózy materiálech, který obsahuje směs limonenu, eukalyptolu a ocimenu v plynném skupenství, a je vhodný zejména pro použití ve vnitřních prostorách knihoven a depozitářích. Dále řešení poskytuje způsob ochrany celulózy a/nebo ligno-celulózy materiálů před napadením plísními a likvidace plísní v celulózy a/nebo ligno-celulózy materiálech, v němž se celulózy a/nebo ligno-celulózy materiál vystaví působení směsi limonenu, eukalyptolu a ocimenu v plynném skupenství. S výhodou se směs limonenu, eukalyptolu a ocimenu v plynném skupenství generuje z kapalné směsi limonenu, eukalyptolu a ocimenu probubláváním této kapalné směsi inertním plynem neobsahujícím kyslík, s výhodou dusíkem, a vzniklé páry se dále ředí suchým vzduchem.

CZ 306676 B6

## **Přípravek pro ošetření celulózových a/nebo ligno–celulózových materiálů proti napadení plísní a pro likvidaci plísní v těchto materiálech, jeho použití a způsob ochrany materiálů**

5

### Oblast techniky

Předkládaný vynález se týká plynného přípravku se širokým spektrem účinku proti plísním, který je vhodný zejména pro ochranu knižního fondu a dokumentů tvořených celulózovými a ligno–celulózovými materiály v depozitářích. Dále se týká kapalného prekurzoru tohoto přípravku, a rovněž způsobu ošetření celulózových a ligno–celulózových materiálů s použitím tohoto přípravku.

### Dosavadní stav techniky

Vynález řeší otázku ochrany knižního fondu a dokumentů proti mikrobiálnímu napadení a dále otázku dezinfekce ekologickým a zdravotně šetrným postupem pomocí přírodních látek. Papír podléhá přirozenému rozkladu vlivem kyselého nebo mikrobiálního prostředí. Vliv kyselého prostředí lze omezit nebo zcela zastavit. Podstatně složitější situace vzniká v případě, že je papír napaden mikroorganismy, které produkují enzymy, které způsobují hydrolytickou degradaci celulózové kostrové hmoty.

Mikrobiální procesy obvykle neprobíhají v abiotickém prostředí a prostředí o relativní vlhkosti vzduchu pod 50% a bez přístupu plynného kyslíku. V knihovnách a depozitářích, které jsou klimatizovány, je téměř zcela zabráněno mikrobiální degradaci celulózového materiálu. Vzhledem k tomu, že takovýchto prostor je v České republice minimální množství, má předběžné ošetření fondů proti mikrobiálnímu rozkladu zásadní význam. V České republice, pokud pomineme klimatizované depozitáře, předběžná ochrana proti plísním neprobíhá. V případě viditelného napadení v důsledku nevhodných podmínek uložení nebo havárie je prováděna dezinfekce.

K účelu dezinfekce byly například v Národní knihovně České republiky odzkoušeny vlastnosti pěti produktů (Promexal W 50, Mergal KM 265, Pregnolit Ultra, Pregnolit ONB a Uni). Výsledkem této studie bylo doporučení, za jakých podmínek je možné tyto látky používat. Při dodržení podmínek tyto látky materiál knih ovlivňují minimálně. Aplikace se provádí „zmlžováním“ vodného nebo alkoholického roztoku účinné látky v prostoru, kde jsou umístěny ošetřované knihy. Vzhledem k tomu, že aplikovaná mlha je dráždivá, je nutné, aby prostor, v němž se provádí ošetření, byl dobře izolován od ostatních prostor a po uplynutí potřebného času následuje odvětrání. Z toho důvodu se dezinfekce obvykle nemůže provádět přímo v depozitáři, ale knihy je nutné přesunout do dezinfekční místnosti. Pokud taková místnost v každé knihovně není, řeší se to převozem knih do instituce, kde tato možnost existuje.

„Zmlžovaná“ účinná složka je pevná látka, která přetrvává na povrchu ošetřených knih. Po určité době povrch knih chrání před rozvojem plísní i v případě nežádoucího zvýšení relativní vlhkosti, ať už následkem nějaké havárie nebo nedostatečným technickým vybavením skladovacího prostoru. S residui těchto látek jsou trvale v kontaktu knihovníci a v menší míře i čtenáři. Další jejich nevýhodou je, že nepůsobí uvnitř knih, ale jen na povrchu. Celkovou dezinfekci (i uvnitř knih) lze provést pouze pomocí dezinfikujících plynů. Práce s těmito plyny (formaldehydem, ethylenoxidem a methylbromidem) podléhá přísným hygienickým a bezpečnostním předpisům, takže ji lze provádět jen na specializovaných pracovištích. Pouze u ethylenoxidu bylo zjištěno, že jako jediný ze tří výše jmenovaných plynů nemá negativní vliv na vlastnosti materiálu knih (papír, kůže, pergamen).

V poslední době je snaha maximálně se vyvarovat dlouhodobého vlivu těchto látek na člověka a kde to je možné, nahradit je ekologicky příznivými přírodními produkty. Předkládaný vynález

si tedy klade za cíl nalézt ekologicky příznivé, pro člověka netoxické látky, které mají antimikrobiální, zejména fungicidní, vlastnosti, a zároveň nepoškozují celulóзовé a ligno–celulóзовé materiály, zejména různé druhy papíru.

5

#### Podstata vynálezu

Podstatou předkládaného vynálezu je použití směsi tří monoterpenů: limonenu, eukalyptolu a ocimenu, v plynném skupenství pro ochranu celulóзовých a/nebo ligno–celulóзовých materiálů před napadením plísněmi a pro likvidaci plísní v celulóзовých a/nebo ligno–celulóзовých materiálech, zejména ve vnitřních prostorách knihoven a depozitářích.

V rámci předkládaného vynálezu bylo zjištěno, že plynná směs uvedených látek má požadovanou specifickou kombinaci vlastností, tedy je netoxická pro člověka, přičemž má antimikrobiální, zejména významné fungicidní účinky a přitom látky v aplikovaných koncentracích nepoškozují celulóзовé a ligno–celulóзовé materiály. Při aplikaci kapalného skupenství by riziko poškození těchto materiálů existovalo. Je tedy možno preventivně uvedenou směs používat dlouhodobě bez rizika poškození knih a dokumentů, bez nutnosti ukládat je na dobu ošetření do oddělených místností, tedy lze ošetření provádět za provozu knihovny či depozitáře. Není třeba, dokonce není žádoucí, používat jako účinný přípravek aerosol kapalné fáze, používá se plynná fáze účinných látek.

Předmětem vynálezu je přípravek pro preventivní ošetření celulóзовých a/nebo ligno–celulóзовých materiálů proti napadení plísněmi a pro likvidaci plísní v celulóзовých a/nebo ligno–celulóзовých materiálech, který obsahuje směs limonenu, eukalyptolu a ocimenu v plynném skupenství.

Vynález zahrnuje i prekurzor přípravku pro preventivní ošetření celulóзовých a/nebo ligno–celulóзовých materiálů proti napadení plísněmi a pro likvidaci plísní v celulóзовých a/nebo ligno–celulóзовých materiálech, který obsahuje limonen, eukalyptol a ocimen v kapalném skupenství. Vlastní přípravek v plynném skupenství je generován z prekurzoru přípravku, který má kapalně skupenství.

Limonen, eukalyptol a ocimen jsou ve směsi obsaženy v množství 20 až 60 % objemových limonenu, 20 až 60 % objemových eukalyptolu a 20 až 60 % objemových ocimenu. Výhodněji obsahuje směs 20 až 40 % objemových limonenu, 20 až 40 % objemových eukalyptolu a 20 až 40 % objemových ocimenu. Nejvýhodněji je složení přípravku takové, že odpovídá složení kapalného prekurzoru přípravku s objemovým poměrem limonenu : eukalyptolu : ocimenu rovným 1:1:1.

Předmětem předkládaného vynálezu je dále způsob ochrany celulóзовých a/nebo ligno–celulóзовých materiálů před napadením plísněmi a likvidace plísní v celulóзовých a/nebo ligno–celulóзовých materiálech, zejména ve vnitřních prostorách knihoven a depozitářích, jehož podstata spočívá v tom, že se celulóзовý a/nebo ligno–celulóзовý materiál vystaví působení směsi limonenu, eukalyptolu a ocimenu v plynném skupenství. S výhodou se tomuto působení celulóзовý a/nebo ligno–celulóзовý materiál vystaví přímo ve vnitřních prostorách knihovny a/nebo depozitáře.

V jednom výhodném provedení se směs limonenu, eukalyptolu a ocimenu v plynném skupenství generuje z kapalného prekurzoru přípravku, tedy z kapalně směsi limonenu, eukalyptolu a ocimenu, probubláváním kapalného prekurzoru přípravku inertním plynem neobsahujícím kyslík, s výhodou dusíkem, a vzniklé páry se dále ředí suchým vzduchem.

Příklady uskutečnění vynálezu

## 5      Příklad 1: Příprava a složení přípravku

Všechny monoterpeny (limonen, eukalyptol a ocimen) jsou v kapalně formě. Roztoky limonenu eukalyptolu a ocimenu se za laboratorní teploty smíchají. Výsledkem je homogenní roztok obsahující limonen (33,3 obj. %), eukalyptol (33,3 obj. %) a ocimen (33,3 obj. %). Roztok je probub-  
 10      látván inertním plynem neobsahující kyslík (například dusíkem) a vzniklé páry jsou vedeny do ředicího systému, kde jsou zředěny čistým a suchým vzduchem. Tato směs je poté dávkována do vnitřního prostoru knihoven a depozitářů napadených plísněmi.

## 15      Příklad 2: Mikrobiologické testování

Testy byly provedeny v akreditované laboratoři Centra epidemiologie a mikrobiologie (Národní referenční laboratoř pro dezinfekci a sterilizaci) Státního zdravotního ústavu v Praze. Při testech byly mikroorganismy vystaveny účinkům nasycených par směsi účinných látek. Souhrn výsledků  
 20      je uveden v Tab 1: Fungicidní účinnost plynných složek dezinfekčního přípravku. Testy byly provedeny podle standardního operačního postupu SOP–NRL/DS–01, který vychází z české (evropské) normy ČSN EN 14562 – Chemické dezinfekční přípravky a antiseptika – Kvantitativní zkouška na nosiči ke stanovení fungicidního účinku nebo účinku proti kvasinkám pro lékařské nástroje – Metoda zkoušení a požadavky (fáze 2/stupeň 2).

25      Pro finální testování byli vybráni tři typičtí zástupci rodů mikroskopických vláknitých hub a plísní, které se vyskytují v depozitářích a které vykazují nejvyšší odolnost vůči dezinfekčním přípravkům.

## 30      Metody testování účinnosti dezinfekčního přípravku:

Byla připravena suspenze spor plísní ( $1,5 \times 10^8$  až  $5 \times 10^8$  cfu/ml; cfu = počet buněk v suspenzi, „colony-forming unit“) podle SOP–NRL/DS–01 a české (evropské) normy ČSN EN 14562. Na skleněné nosiče bylo nanášeno 0,1 ml suspenze mikroskopických vláknitých hub – plísní:  
 35      *Aspergillus brasiliensis ex niger* (CCM 8222), *Penicillium aurantiogriseum var aurantiogriseum* (CCM F–389), *Cladosporium cladosporioides f.sp. pisicola* (CCM F–348) z České sbírky mikroorganismů.

40      Do čistých exsikátorů byly vloženy kontaminované skleněné nosiče o velikosti 2,5 x 2,5 cm, sterilní Petriho miska s 5 ml směsi a sterilní Petriho miska s destilovanou vodou nasycenou chlořidem sodným k vytvoření 75% relativní vlhkosti vzduchu v exsikátoru. Se zkušebními pokusy probíhal vždy kontrolní pokus, za stejných podmínek, ale bez dezinfekční směsi. Experiment probíhal při teplotě  $24 \pm 2$  °C.

45      Účinnosti nasycených par směsi účinných látek na mikroskopické vláknité houby – plísně byly stanoveny v následujících časových intervalech: 1 den, 2 dny, 3 dny, 1 týden, 2 týdny, 3 týdny, 4 týdny a 5 týdnů.

50      Po skončení doby působení byly nosiče vytřepány do 10 ml standardního neutralizačního činidla (složení v destilované vodě: Tween 80 – 3 %, saponin – 3 %, lecithin – 0,3 %, histidin – 0,1 % a  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  – 0,5%) a byla udělána ředicí řada do  $10^{-5}$ , z každého ředění bylo nanášeno a rozetřeno 0,5ml (2x) na příslušné kultivační půdy a po odpovídající inkubaci byl kvantitativně vyhodnocen nárůst jednotlivých mikrobů a kvantitativně stanoven pokles růstu jednotlivých mikrobů oproti růstu kontroly při dané expozici.

55

Výsledek fungicidního účinku je považován za vyhovující pro normu ČSN EN 14562, jestliže prokáže redukci nejméně o 4 logaritmické řády. Z výsledků (Tab. 1) je patrné, že fungicidní účinek plyných složek (nasyčené páry) přípravku podle vynálezu se dostavil již po prvním dni.

5

Tab 1: Fungicidní účinnost plyných složek dezinfekčního přípravku.

Mikroorganismus	Pokles mikroorganismu v log řádech			
	1 den	2 dny	3 dny	1 týden
<i>Aspergillus brasiliensis</i>	5,3	5,51	5,6	5,3
<i>Penicillium aurantiogriseum</i>	6,26	5,6	5,6	4,7
<i>Cladosporium cladosporioides</i>	4,83	4,78	4,7	4,3

10

## PATENTOVÉ NÁROKY

15 **1.** Přípravek pro preventivní ošetření celulóзовých a/nebo ligno–celulóзовých materiálů proti napadení plísněmi a pro likvidaci plísní v celulóзовých a/nebo ligno–celulóзовých materiálech, **v y z n a ě n ý t í m**, že obsahuje směs limonenu, eukalyptolu a ocimenu v plynném skupenství a jehož prekurzor obsahuje 20 až 60 % objemových limonenu, 20 až 60 % objemových eukalyptolu a 20 až 60 % objemových ocimenu v kapalném skupenství.

20

**2.** Prekurzor přípravku pro preventivní ošetření celulóзовých a/nebo ligno–celulóзовých materiálů proti napadení plísněmi a pro likvidaci plísní v celulóзовých a/nebo ligno–celulóзовých materiálech podle nároku 1, **v y z n a ě n ý t í m**, že obsahuje směs 20 až 60 % objemových limonenu, 20 až 60 % objemových eukalyptolu a 20 až 60 % objemových ocimenu v kapalném skupenství.

25

**3.** Použití přípravku obsahujícího směs limonenu, eukalyptolu a ocimenu v plynném skupenství podle nároku 1 pro ochranu celulóзовých a/nebo ligno–celulóзовých materiálů před napadením plísněmi a pro likvidaci plísní v celulóзовých a/nebo ligno–celulóзовých materiálech, zejména ve vnitřních prostorách knihoven a depozitářích.

30

**4.** Způsob ochrany celulóзовých a/nebo ligno–celulóзовých materiálů před napadením plísněmi a likvidace plísní v celulóзовých a/nebo ligno–celulóзовých materiálech, **v y z n a ě n ý t í m**, že se celulóзовý a/nebo ligno–celulóзовý materiál vystaví působení přípravku obsahujícího směs limonenu, eukalyptolu a ocimenu v plynném skupenství podle nároku 1.

35

**5.** Způsob podle nároku 4, **v y z n a ě n ý t í m**, že se celulóзовý a/nebo ligno–celulóзовý materiál vystaví působení směsi limonenu, eukalyptolu a ocimenu v plynném skupenství ve vnitřních prostorách knihovny a/nebo depozitáře.

40

**6.** Způsob podle nároku 4 nebo 5, **v y z n a ě n ý t í m**, že se směs limonenu, eukalyptolu a ocimenu v plynném skupenství generuje z kapalně směsi limonenu, eukalyptolu a ocimenu probubláváním této kapalně směsi inertním plynem neobsahujícím kyslík, s výhodou dusíkem, a vzniklé páry se dále ředí suchým vzduchem.

45