



КАЗАНСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

Карамова Н.С., Надеева Г.В., Багаева Т.В.

**МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ОЦЕНКИ БИОПОВРЕЖДЕНИЙ,
ВЫЗЫВАЕМЫХ МИКРООРГАНИЗМАМИ**

Учебно-методическое пособие

КАЗАНЬ – 2014

УДК 579.69;699.874

*Печатается по решению Редакционно-издательского совета ФГАОУВПО
«Казанский (Приволжский) федеральный университет»*

*учебно-методической комиссии Института фундаментальной
медицины и биологии*

Протокол № 3 от 12 ноября 2013 г.

заседания кафедры микробиологии

Протокол № 5 от 5 ноября 2013 г.

заседания кафедры биотехнологии

Протокол № 4 от 1 ноября 2013 г.

Авторы-составители

канд. биол. наук, доц. Н.С. Карамова, инж. Г.В. Надеева, доктор биол.
наук, проф. Т.В. Багаева

Научный редактор

зав. каф. микробиологии, доктор биол. наук, проф. О.Н. Ильинская

Рецензенты:

доктор биол. наук, проф. КНИТУ Г. О. Ежкова
кандидат биол. наук, в.н.с. КНИЭМ С. Н. Куликов

Методы исследования и оценки биоповреждений, вызываемых микроорганизмами: Учебно-методическое пособие / Н.С. Карамова, Г.В. Надеева, Т.В. Багаева – Казанский университет, 2014. – 36 с.

Настоящее пособие посвящено проблеме биоповреждений, вызываемых микроорганизмами. Рассмотрены источники и условия возникновения биоповреждений, отдельно представлены материалы о биологических особенностях микроскопических грибов, занимающих доминирующее положение среди организмов-биодеструкторов, а также способах защиты материалов, зданий и сооружений от биоповреждений. Приведены методы микробиологических исследований биоповреждений, оценки биостойкости строительных материалов. Пособие предназначено для студентов, обучающихся по специальностям «Микробиология» и «Биотехнология».

© Казанский университет, 2014

© Н.С. Карамова, Г.В. Надеева, Т.В. Багаева, 2014

ОГЛАВЛЕНИЕ

Что такое биоповреждение ?	4
Проблема биоповреждений строительных материалов, зданий и сооружений, вызываемых микроорганизмами	6
Микроскопические грибы как доминирующие агенты биоповреждений	11
Методы защиты от биоповреждений	14
Методы исследования биоповреждений строительных материалов, зданий и сооружений, вызываемых микроорганизмами.....	20
Отбор проб строительных материалов с поврежденных строительных конструкций	23
Методы проведения микробиологического анализа	23
Метод отбора и анализа проб воздуха исследуемых зданий	25
Моделирование процессов биоповреждения строительных материалов	27
Метод определения степени биостойкости строительных материалов	27
Список использованных источников	31

Что такое биоповреждение?

Первое определение термину «биоповреждение» было предложено Ниеск Н.Д. как «нежелательное изменение в свойствах материала, вызванное деятельностью живых организмов» (Ниеск, 1965, 1968). В современной литературе приводится более развернутое определение: *биоповреждение* (биологическое повреждение) — это любое изменение (нарушение) структурных и функциональных характеристик у объекта антропогенного происхождения или используемых в качестве сырья природных объектов, которые возникают в результате деятельности живых организмов (*биологических факторов*) (Rose, 1981; Ильичев, 1987; Semenov *et al.*, 2003). Понятие биоповреждение следует отличать от понятия биодegradация. Биодegradация означает полезную деятельность организмов, направленную на разрушение и утилизацию отживших материалов, в то время как биоповреждение подразумевает негативные для человека последствия жизнедеятельности организмов-биодеструкторов (Allsopp *et al.*, 2004; Jayakumar, 2012).

Возникая в результате взаимоотношения биологических и антропогенно-технологических факторов, биоповреждающие воздействия развиваются во времени и пространстве в виде сложного процесса. Под *биологическим фактором* подразумевают живые организмы или их сообщества, воздействие которых на объект вызывает изменение его свойств в нежелательную для человека сторону (Семенов с соавт., 2007). Такие организмы называют также *агентами биоповреждения* или *повреждающими организмами* (Ильичев, 1987). Агентами биоповреждений могут быть различные организмы: бактерии, грибы, лишайники, водоросли, высшие растения, кишечнополостные, черви, моллюски, членистоногие, иглокожие, рыбы, птицы, млекопитающие (Анисимов, 1980; Jayakumar, 2012).

Сооружения, изделия, материалы и сырье, подвергающиеся негативному воздействию живых организмов, называют *объектами биоповреждений*. Биоповреждения могут осуществляться в водной и воздушной средах, почве и грунтах (Ильичев, 1987).

Защита от биоповреждений представляет собой глобальную научно-практическую проблему. Являясь одной из самых древних практических проблем, которую человечество решает с тех пор, как оно существует, особую актуальность данная проблема приобрела в современном мире. Этому в значительной степени способствуют массовая, интенсивная урбанизация и все возрастающие масштабы загрязнения окружающей среды. В современных

городах сложились условия, вызывающие трансформацию естественных экосистем, что способствует активизации и изменению механизма действия повреждающих организмов.

Мировой ущерб от биоповреждений в 1950-х гг. оценивался в 2% от объема промышленной продукции, в 1970-х гг. он превысил 5%. В настоящее время убытки от биоповреждений достигают колоссальных размеров: более 7% от общей стоимости промышленной продукции в мировом масштабе, что составляет сотни миллиардов долларов (Семенов с соавт., 2007; Allsopp *et al.*, 2004; Sanchez-Silva *et al.*, 2008).

Вместе с тем, следует отметить, что на сегодняшний день особенности и закономерности повреждающего воздействия биофакторов изучены гораздо в меньшей степени, чем небиологических факторов внешней среды, таких как температура, механические напряжения, световое излучение, агрессивные среды и др.

В настоящее время отечественные и зарубежные исследователи подчеркивают, что биоповреждения представляют собой комплексную проблему. Подходы к ее решению должны базироваться на законах биологии и химии, материаловедческих и природоведческих дисциплин. Рациональная борьба с биоповреждениями немыслима без изучения экологии повреждающих организмов, особенностей их существования, а также без знаний физико-химических свойств материалов и условий эксплуатации сооружений, без понимания вопросов природопользования и необходимости защиты природы от загрязнений.

Проблема биоповреждений строительных материалов, зданий и сооружений, вызываемых микроорганизмами

Практически все промышленные материалы способны подвергаться биоповреждениям. При этом биоповреждение – реакция окружающей среды, биосферы на то новое, что вносит в них человек. Создание и масштабное внедрение в строительную отрасль все новых и новых искусственно синтезированных материалов приводит к рождению других, ранее неизвестных проблем, связанных с адаптацией биоповреждающих агентов к современным строительным материалам и биоцидам одновременно, и с негативными последствиями загрязнения окружающей среды опасными ксенобиотиками.

Биоповреждение строительных материалов и конструкций является одним из основных факторов, определяющих скорость износа зданий, других инженерных сооружений и, в настоящее время, относится к числу серьезных проблем, которая способна нарушить безопасность эксплуатируемых объектов (Дергунова с соавт., 2010).

Таким образом, вопросы защиты строительных конструкций, зданий и сооружений от агрессивных химических и биологических воздействий окружающей среды должны обязательно учитываться при проектировании, строительстве и реконструкции зданий.

Интенсивность биоповреждения характеризует *биостойкость* объекта – свойство сохранять значение показателей в пределах, установленных нормативно-технической документацией в течение заданного времени в процессе или после воздействия биоповреждающего фактора (Семенов с соавт., 2007; РВСН 20-01-2006).

Основные негативные характеристики биоповреждений строительных материалов, зданий и сооружений:

- ухудшение физико-механических показателей строительных изделий и конструкций;
- увеличение финансовых затрат на восстановление пораженных частей зданий;
- увеличение риска возникновения респираторных, аллергических, сердечно-сосудистых, онкологических и др. заболеваний человека.

В условиях городской среды биохимическая коррозия приводит к повреждению как наружных, так и внутренних стен и других частей зданий. К концу XXI века в городах будет проживать не менее 90% населения планеты и находиться внутри городских зданий около 95% своего времени (Servises,

1990; Ярыгин с соавт., 1999). Это означает, что для сохранения здоровья человечества необходимо обеспечить высокое качество внутренней среды построек.

К основным причинам биоповреждений зданий и сооружений относятся следующие факторы (РВСН 20-01-2006):

- повышенная влажность строительных материалов;
- наличие в составе строительных материалов веществ (прежде всего органических), являющихся питательной средой для биодеструкторов;
- высокая запыленность наружного воздуха и воздуха внутри помещений;
- загрязнение атмосферы такими газами, как: SO_2 , SO_3 , CO_2 , NO_2 , NH_3 и т.п.;
- повреждение поверхности строительных материалов под воздействием других негативных факторов (появление трещин, напряженное состояние конструкции и т.д.);
- загрязнение поверхности строительных материалов веществами, способствующими развитию биодеструкторов;
- антисанитарные условия в эксплуатируемых, подсобных помещениях и на прилегающих территориях;
- использование материалов, зараженных биодеструкторами.

Питательной средой для биодеструкторов являются многие органические соединения, используемые в строительстве, например: олифа, столярный клей, дерево и деревянные стружки, целлюлоза, а также материалы на основе нефтепродуктов, синтетических полимеров и т.п.

Наиболее агрессивными биоповреждающими агентами строительных материалов, зданий и сооружений являются микроорганизмы (микроорганизмы-деструкторы, биодеструкторы): микроскопические грибы, бактерии, дрожжи (Allsopp *et al.*, 2004; Семенов с соавт., 2007; Jayakumar, 2012). Известно, что более 50% общего объема регистрируемых в настоящее время в мире повреждений связано с деятельностью микроорганизмов (Дергунова с соавт., 2010). Этот вид разрушения наиболее часто встречается при эксплуатации покрытий в условиях повышенной влажности при температуре 25-40°C.

Микроорганизмы являются самыми древними обитателями Земли, и в процессе своей длительной эволюции, адаптировались к жизни на различных субстратах и постоянно изменяющимся условиям внешней среды (Woese, Olsen, 1986; Woese, 1998; Wächtershäuser, 2006). Более того, микроорганизмы

способны к деградации широкого круга искусственно синтезированных химических соединений (ксенобиотиков) (Gibson, 1984; Gu *et al.*, 2000).

К сожалению, способность микроорганизмов поселяться на любых поверхностях приводит к серьезному экономическому ущербу из-за биоповреждения различных материалов (Gu, Mitchell, 2013), включая неорганические минералы, бетон и природный камень, металлы, природные и синтетические минералы (Allsopp *et al.*, 2004).

Все виды микроорганизмов, наиболее часто участвующих в процессах коррозии строительных материалов, специалисты разделяют на четыре основные группы (Grbić, Vukojević, 2009):

- **Фототрофные микроорганизмы** – цианобактерии. Фотосинтезирующие микроорганизмы, использующие энергию солнца, и углекислый газ в качестве единственного источника углерода. В экосистемах с ненарушенным равновесием заселение материала, как правило, начинается именно фотоавтотрофными микроорганизмами.
- **Литотрофные микроорганизмы** – бактерии, использующие в качестве источника энергии неорганические вещества. Из литотрофных микроорганизмов наиболее активными агентами биоповреждений являются сульфатредуцирующие, тионовые, нитрифицирующие и железобактерии. Вызывают коррозию металлов, разрушения кирпича, бетона, камня и других материалов неорганической природы.
- **Гетеротрофные микроорганизмы** – многие виды бактерий и микроскопические грибы, использующие в качестве источника энергии и углерода готовые органические соединения. Вызывают деградацию промышленных материалов на основе органических веществ. Также способны участвовать в коррозии металлов, биоповреждении бетона, камня за счет синтеза агрессивных метаболитов (органические кислоты, сероводород, аммиак, перекись водорода и др.).
- **Анаэробные микроорганизмы** – бактерии, получающие энергию при отсутствии доступа кислорода путем субстратного фосфорилирования. Большинство из них играют важнейшую роль в деструктивных процессах, протекающих в подземном пространстве города.

При обследовании биоповреждений материалов необходима идентификация этих групп микроорганизмов и изучение механизмов их воздействия.

В таблице 1. приведены основные факторы окружающей среды, которые необходимы для жизнедеятельности микроорганизмов, обуславливающих биоповреждение материалов.

Таблица 1. Необходимые факторы развития микроорганизмов в строительных материалах.

Факторы	Микроорганизмы			
	Фототрофы	Гетеротрофы	Литотрофы	Анаэробы
Вода	+	+	+	+
Свет	+	-	-	-
Кислород	+	+	+	-
Органические вещества	-	+	-	+

Присутствие всех перечисленных условий является возможной причиной заселения строительных материалов, зданий и сооружений соответствующей группой микроорганизмов.

Причинами биоповреждений при участии микроорганизмов являются три основных процесса биодegradации: **механический**, **ассимиляционный** (строительные материалы являются для микроорганизмов источником питания и энергии), **диссимиляционный** (взаимодействие строительных материалов с агрессивными метаболитами микроорганизмов, например, кислотами и ферментами) (Allsopp *et al.*, 2004; Jayakumar, 2012).

Механическое воздействие могут оказывать разные виды микроорганизмов. Попадая в трещины/микротрещины в строительных материалах, в места сочленения различных конструкций, при благоприятных условиях бактерии, микромицеты начинают развиваться, накапливая биомассу. Мицелии многих грибов способны проникать в микротрещины на любую глубину. Увеличение объема биомассы приводит к расширению заселенных трещин и появлению новых. Циклическое изменение относительной влажности воздуха, переход температуры окружающей среды через 0° С способствуют расширению трещин на фасадах зданий, заселенных микроорганизмами.

В процессе своей жизнедеятельности микроорганизмы продуцируют ферменты, кетоны, спирты и такие агрессивные метаболиты, как органические и неорганические кислоты, а также аммиак, сероводород, метан, углекислый газ. Продукты их жизнедеятельности могут играть роль мощных катализаторов, ускоряя химические реакции в несколько раз.

Неорганические кислоты. Микроорганизмы могут продуцировать два вида неорганических кислот – азотную и серную. Серная кислота образуется бактериями рода *Thiobacillus* при окислении восстановленных неорганических соединений серы, азотная – в результате окисления аммиака, мочевины нитрифицирующими бактериями родов *Nitrisomonas*, *Nitrosococcus*, *Nitrosolobus*, *Nitrobacter*, *Nitrospira*, *Nitrovibrio*, вызывая значительные повреждения минеральных материалов, таких как стекло, бетон, природный камень.

Органические кислоты (щавелевая, глюконовая, янтарная, уксусная, пропионовая, масляная, фумаровая и др.) образуются большинством видов микроорганизмов при метаболизме органических и неорганических соединений.

Солевой стресс. Анионы - конечные продукта микробного метаболизма, реагируя с катионными соединениями керамических материалов, образуют соли. При их гидратировании повышается содержание воды в пористых веществах, а при высыхании образуются кристаллы, вызывающие разбухание и, в конечном итоге, повреждение материала (Jayakumar, 2012).

Ферменты. Микроорганизмы обладают богатым и лабильным ферментативным аппаратом, который позволяет им приспособливаться к широкому кругу субстратов. Особо важную роль при росте на большинстве материалов играют оксидоредуктазы, гидролазы и липазы. Среди микроорганизмов, заселяющих материалы на основе целлюлозы, преобладают продуценты целлюлолитических ферментов. Углеводородсодержащие материалы разрушаются при участии микробных оксидоредуктаз и липаз. На строительных материалах, содержащие минеральные компоненты способны размножаться микроорганизмы, продуцирующие окислительные ферменты – пероксидазу и каталазу, глюкозооксидазу и полифенолоксидазу (Семенов с соавт., 2007).

Наиболее уязвимы при воздействии органогенных сред материалы, имеющие капиллярно-пористое строение, что облегчает проникновение микроорганизмов и агрессивных продуктов их жизнедеятельности вглубь материала. Например, виновниками биоповреждений цементных бетонов являются микроскопические грибы, авто- и гетеротрофные бактерии,

автотрофные микроскопические водоросли. Наиболее активные биодеструкторы вызывают не только плесневение, окрашивание и обрастание бетонных поверхностей, но и существенное ухудшение физико-технических свойств изделий, вплоть до разрушения.

При анализе основных видов и причин биоповреждения зданий и сооружений нельзя забывать о проблемах, связанных с жизнедеятельностью микроорганизмов в грунтах. Известно, что при участии микроорганизмов может происходить локальная трансформация грунтов в основании зданий вплоть до образования пливунов, а также повреждение самих строительных материалов и конструкций. Этому способствуют утечки из канализации, растительные остатки в грунте, загрязнение грунтов различными органическими веществами и т. п., а также утепляющий эффект, который создается различными подземными коммуникациями и самими зданиями и сооружениями.

Микроскопические грибы как доминирующие агенты биоповреждений

Грибы как неотъемлемый компонент наземных и водных биоценозов контролируют широкий спектр биосферных функций, среди которых разложение органических веществ является наиболее существенной (Одум, 1986). Этим микроорганизмам в экосистемах отводится особый экогоризонт и роль посредников между живым и косным веществами биосферы (Каратыгин, 1994).

Микроскопические грибы играют также ведущую роль в процессах повреждения промышленных материалов различной химической природы, эксплуатируемых в условиях повышенной температуры и влажности.

Микромицеты, вызывающие биоповреждения, относятся к группе гетеротрофных сапротрофов. Они тесно связаны с субстратом, обладают большой поверхностью всасывания и оказывают активное влияние на окружающую среду через продукты метаболизма. В настоящее время известно более 500 видов возбудителей деструкции, к которым в основном относятся сапрофитные грибы, обитающие в почве, и разного рода органических остатках (Сухаревич с соавт., 2009). Активное участие микромицетов в деструкции не только природных, но также и антропогенных субстратов и доминирующее положение среди организмов, вызывающих биоповреждения, обусловлено рядом биологических особенностей грибов:

- *Широкое распространение в природе* – присутствуют в воде, почве и воздухе.
- *Высокая энергия размножения*. Грибы образуют огромное количество мельчайших спор, которые способны проникать в пористые материалы и в самые незначительные трещины, а также адсорбироваться на гладких поверхностях.
- *Мицелиальное строение*. Мицелий грибов быстро распространяется по субстрату и захватывает большие площади.
- *Мощность и эффективность ферментативного аппарата*. В мицелиальных грибах найдены ферменты, относящиеся ко всем 6 классам по существующей международной квалификации. Грибы синтезируют множество разнообразных ферментов (амилаза, протеаза, инвертаза, липаза, фосфатаза, комплекс целлюлаз, полифенолоксидазу, каталазу и др.), что позволяет им трансформировать сложнейшие субстраты, недоступные другим микроорганизмам (Фельдман с соавт., 1983; Анисимов с соавт., 1985; Инсодене, Лугаускас, 1987; Толмачева, Александрова, 1989).
- *Способность образовывать органические кислоты и токсические вещества* (Заикина, Деранова, 1975; Palmer *et al.*, 1991; Allsopp *et al.*, 2004).
- *Способность расти в экстремальных условиях*. Споры грибов способны выдерживать высыхание и низкие температуры. Грибы-ксерофилы могут расти на твердых сухих субстратах при атмосферном увлажнении.
- *Гетерогенность вида* – наличие штаммов, различающихся по физиологическим, морфологическим и др. признакам. Так, внутривидовое разнообразие показано для *Aspergillus niger*, *Penicillium negricans*, *Cladosporium resinae*. Возникновение новых штаммов может быть индуцировано экстремальными экологическими условиями, УФ-излучением, а также биоцидами, используемыми для защиты материалов.
- *Гетерокариоз* – число ядер в гетерокариотическом мицелии может меняться, что обеспечивает приспособляемость грибов к меняющимся условиям среды, особенно в искусственно создаваемых биотопах.

Согласно данным литературы, наиболее часто из поврежденных объектов выделяются грибы классов *Ascomycetes*, *Basidiomycetes*, *Deuteromycetes*, *Zygomycetes*. К числу самых многочисленных групп грибов-биодеструкторов

относятся представители родов *Aspergillus* (*A. fumigatus*, *A. terreus*, *A. niger*, *A. flavus*, *A. luteus*), *Penicillium* (*P. glaucum*, *P. chrisogenum*, *P. purpurogenum*, *P. funiculosum*, *P. citronum*, *P. rugulosum*, *P. ochrochloron*), *Trichoderma* (*T. viride*, *T. sp.*), *Cladosporium* (*C. cladosporioides*, *C. sphaerospermum*), а также родов *Alternaria*, *Mucor*, *Scopulariopsis* (Сухаревич с соавт., 2009; Grbic, Vukojevic, 2009).

Следует подчеркнуть, что в биоповреждающем действии, как правило, участвуют не один, а несколько видов грибов одновременно, что приводит к возникновению качественно нового повреждающего агента. Состав микоценозов в первую очередь определяется химической природой объекта. При наличии сходного субстрата в экосистемах состав сообщества микодеструкторов может меняться в зависимости от температуры и влажности.

Результатом роста микромицетов на поверхности строительных материалов является снижение физико-механических и эксплуатационных характеристик материалов (снижение прочности, ухудшение адгезии между отдельными компонентами материала и т. д.), а также ухудшение их внешнего вида (обесцвечивание поверхности, образование пигментных пятен и т. д.). Крайним проявлением биоповреждающего действия в отношении бетонных элементов является их частичное или полное обрушение (Крыленков с соавт., 2000).

Известно, что присутствие плесневых грибов и их метаболитов в окружающей человека среде может оказывать токсическое действие, способствовать развитию микозов, а также провоцировать развитие аллергических реакций. Кроме того, существует группа заболеваний, объединяемых под общим названием «синдром больных зданий» (*sick building syndrome*), которыми страдают люди, длительное время находящиеся в «неблагополучных» помещениях, в том числе пораженных плесневыми грибами. Это подтверждается и тем, что количество только больничных микозов каждый год увеличивается на 5-7%, а общее количество микозов, как показано для ряда стран Европы и Азии, каждые 10 лет удваивается (Миракян, 1981, Антонов с соавт., 1998; Hospelthal, Rinaldi, 2007).

Особую опасность представляют возбудители микозов внутренних органов и глубоких микозов – *Aspergillus niger*, *A. flavus*, *A. nidulans*, *A. fumigatus*, *Fusarium oxysporium*, *F. moniliforme*, *Alternaria flavus* (Hoog *et al.*, 2000).

Микогенные аллергические реакции могут возникать в виде бронхиальной астмы, крапивницы, поражения слизистой оболочки глаз, носа,

трахеи. Аллергические заболевания могут быть индуцированы присутствием спор условно патогенных микромицетов в воздухе помещений (более 100 000 в 1 м³) (Flannigan, 2001).

Микотоксины, образуемые грибами, влияют на обмен веществ хозяина, обладают канцерогенной активностью (Кудинова, 1984). Наиболее изученными являются токсины, синтезируемые грибами рода *Aspergillus* (Болотнянская, 1977) и *Penicillium* (Козловский, 2000). Канцерогенные и мутагенные свойства показаны для таких метаболитов, как афлатоксины, стеригматоцистин, патулин (Li *et al.*, 1979; Lin 1980).

Таким образом, экономический ущерб является значительным, но не единственным негативным последствием биоповреждений, вызываемых микромицетами. Микодеструкторы, являясь источником токсичных, канцерогенных и аллергенных веществ, представляют собой особую опасность для здоровья человека.

В связи с вышеизложенным представляется необходимым контролировать развитие микромицетов внутри зданий, а также изыскивать эффективные способы предотвращения процесса биоповреждений строительных материалов, из которых возведены эти здания.

Методы защиты от биоповреждений

Огромные масштабы строительства и соответственно рост производства, потребления различных искусственно созданных материалов и сокращение запасов природных ресурсов диктуют необходимость поиска все более эффективных методов борьбы с биоповреждениями.

Существующие на сегодняшний день способы защиты от биоповреждений разделяют на 3 основные группы: физические, химические и биологические.

Физические методы: использование ультрафиолетового, ионизирующего излучений, ультразвука, лазерных лучей и др.

Химические методы: использование биоцидов – искусственно синтезированных химических веществ. На сегодняшний день известно несколько тысяч таких соединений и их композиций. Данный способ считается самым эффективным и наиболее широко применяемым способом защиты от биоповреждений различных материалов.

В качестве химических средств защиты находят применение вещества, относящиеся к различным классам химических соединений, в том числе:

- неорганические соединения (окислы и соли бора, меди, хрома, цинка, мышьяка и др.);
- органические соединения (фенолы и хлорфенолы, производные карбоновых, оксикарбоновых, карбаминовых и тиокарбаминовых кислот, гетероциклические и другие соединения);
- элементоорганические и комплексные соединения олова, меди, свинца, мышьяка, кремния, ртути и др.

Поскольку биоповреждения могут вызываться различными организмами, то химические вещества для защиты от них классифицируются по биологическому действию. Противомикробные биоциды подразделяют на *бактерициды* – от бактерий, *фунгициды* - от грибов, повреждающих материалы.

Основным требованием к биоцидам является высокая активность в отношении биофакторов, безопасность в обращении (низкая токсичность для человека) и отсутствие отрицательного влияния на окружающую среду. Строгие природоохранные требования к биоцидам обусловлены тем, что они, будучи ксенобиотиками, подвержены длительной химической и биodeградации, следовательно могут накапливаться в окружающей среде, оказывая негативное влияние на живые организмы. С другой стороны, продукты частичной биотрансформации некоторых биоцидов могут обладать более высоким токсическим потенциалом, чем исходное соединение. Также особую опасность представляют соединения, для которых показан мутагенный эффект (паранитрофенол, соединения олова и др.) (Ильичев с соавт., 1985).

К фунгицидам, наиболее часто применяемым для защиты от биоповреждений, относятся гетероциклические соединения (в настоящее время наибольший интерес представляют замещенные бензоксазолиноны); системные фунгициды – антифунгальные азолы; препараты группы тиазолов, имидазолов, пиримидинов и пиперазинов (Сухаревич с соавт., 2009).

Однако частое применение системных фунгицидов с избирательным механизмом действия сопряжено с появлением к ним резистентности у грибов. Более того, известны случаи, когда грибы могут трансформировать потенциально ядовитые биоциды до их полной деградации. Такие явления обусловлены особенностями строения генетического аппарата и лабильностью метаболизма грибов.

Один из подходов для предотвращения появления резистентности грибов – использование многокомпонентных смесей фунгицидов с разным механизмом действия. Биоцидные добавки, используемые в строительных

композитных материалах в России и за рубежом, включают 1,2-дибром-2,4-дицианобутан, гексахлорэтан, латекс АБП-40.

Для предотвращения поселения биологических агентов в теле бетона или в строительном растворе поверхность сооружений покрывают биоцидными и пленкообразующими составами, пропитывают биоцидными растворами или вводят модификаторы биоцидного действия в бетонную смесь с водой затворения (вода, которая подмешивается к раствору при приготовлении бетона).

Способы применения и защитное воздействие биоцидов определяются их растворимостью и рядом других физических и физико-химических свойств. По этим признакам биоциды подразделяют на водорастворимые, малорастворимые и растворимые в органических растворителях. По отношению к воде биоциды могут быть невымываемыми, трудновымываемыми и легковымываемыми. По агрегатному состоянию биоциды бывают твердые (порошки), жидкие и газообразные (фумиганты, летучие фунгициды и др.).

Для защиты от биологических агентов необходимы антисептики нового поколения - биоакциды, которые не просто обладают широким антисептическим спектром, но и длительным временем защитного действия. В основе таких препаратов должно лежать модифицирование подложки без разрушения последующих слоев конструкции и угнетение процесса жизнедеятельности биоразрушителей.

Следует отметить, что в большинстве исследований, посвященных разработке и оценке действия защитных средств, основное внимание уделяется их биоцидной активности и практически не учитывается влияние на физиологическую активность повреждающих организмов. Вместе с тем установлено, что, например, фунгициды, оказывают влияние на образование грибами-биодеструкторами агрессивных метаболитов (факторов биодеструкции), таких как органические кислоты, пигменты, гидролитические ферменты и др. (Анисимов с соавт., 1977; Фельдман с соавт., 1983; Гончарова, 1990). Показано, что под действием некоторых фунгицидов усиливается синтез грибами защитных метаболитов, процесс дыхания и возрастает их потенциальная вирулентность (Сухаревич с соавт., 2009).

В настоящее время, учитывая негативные последствия масштабного применения биоцидов для здоровья человека и окружающей среды, ведутся исследования по созданию природных экологически безопасных средств защиты от биоповреждений и, прежде всего, по разработке биологических

методов, основанных на явлении антагонизма между разными видами микроорганизмов. Один из перспективных экологически безопасных подходов для решения данной проблемы – использование биопрепаратов, содержащих продуцентов активных метаболитов для подавления повреждающих микроорганизмов. Основную группу таких биоцидов составляют микробные метаболиты с антифунгальной активностью и, прежде всего антибиотики

Таким образом, проблема биоповреждения строительных зданий конструкций не исчерпывается вопросами повреждения строительных материалов. Она значительно шире, и для принятия эффективных мер по защите зданий и сооружений от биологического воздействия окружающей среды, требуется комплексный подход, учитывающий взаимосвязь различных элементов инфраструктуры городской среды.

Первый в мире координирующий орган по проблеме биоповреждений – Научный совет АН по биоповреждениям - создан 14 сентября 1967 г. в нашей стране и занимается разработкой теоретических основ для решения этой проблемы, обобщением огромного практического опыта, накопленного учреждениями и ведомствами. Существует серия специализированных сборников-справочников «Биологические повреждения». Несмотря на это, практическому решению данной проблемы в нашей стране до сих пор не уделяется должного внимания. В настоящее время в системе отечественных нормативных строительных документов в области защиты зданий и сооружений от биологического воздействия практически нет нормативных документов (за исключением деревянных конструкций СНиП 2.03.11-85, СНиП II-25-80). В этих документах воздействие грибов на бетон (W4) относят к слабоагрессивному воздействию, а для бетонов W6 и W8 вообще не рассматривают. Применительно к деревянным конструкциям указывается: «Агрессивное воздействие на деревянные конструкции оказывают биологические агенты – дереворазрушающие грибы и др., вызывая биологическую коррозию древесины». Этими несколькими фразами, до недавнего времени практически исчерпывались упоминания об опасности биоповреждений строительных конструкций в отечественной нормативной строительной литературе. (Старцев, 2010.).

В развитых западных странах Европы и США этой проблеме уделяется серьезное внимание. Наличие плесневых грибов на стенах в большинстве стран считается недопустимым. К сожалению, в нашей стране не

осуществляется даже учет потерь от химической и биологической коррозии материалов и конструкций.

Первые практические шаги по решению данной проблемы в России были предприняты в Санкт-Петербурге - в середине 2006 года были приняты региональные временные строительные нормы в части защиты от химических агрессивных воздействий, основанные на федеральных СНиПах более раннего временного периода, – РВСН 20-01-2006 «Защита строительных конструкций зданий и сооружений от агрессивного химического и биологического воздействия окружающей среды». В них описаны виды поражений, сформулированы нормы защиты на различных этапах ведения строительных работ и предписано проводить микробиологическое обследование зданий, подлежащих ремонту, реставрации и реконструкции (Старцев, 2010).

В настоящее время экологическим аспектам биодegradации микроорганизмами материалов и сооружений в городской среде уделяется все большее внимание и в других регионах (Крыленков с соавт. 2001). Созданы местные программы по защите городской среды от биоповреждений в Москве, Волгограде и других городах.

Совершенно очевидно, что каждому региону, в зависимости от специфики промышленного развития, присущи свой набор и концентрация химически активных веществ. Региональная специфичность биологического воздействия на здания и сооружения еще более ярко выражена, чем специфичность химического воздействия. На состав и разнообразие биодеструкторов строительных материалов, кроме региональной особенности антропогенного воздействия на природную среду, существенное влияние оказывают географические, геологические и метеорологические особенности региона. В этой связи разработка именно региональных норм представляется наиболее оправданной.

Для осуществления таких программ необходимы сведения о концентрации, закономерностях распределения факторов биоповреждения в воздухе и на материалах, об их видовом многообразии в зданиях различного назначения, об экологических, физиологических, биохимических особенностях биодеструкторов.

В настоящее время основное внимание исследователей сосредоточено на эколого-биологической составляющей проблемы. Изучаются видовой состав, особенности свойств, способность микроорганизмов заселять материалы. Следует отметить, что до последнего времени изучение микобиоты построек в нашей стране проводилось в основном на промышленных объектах.

Фактическая база в отношении микромицетов, обитающих в гражданских зданиях, только формируется. Положение осложняется отсутствием в России единых норм содержания КОЕ (колониеобразующих единиц) для микромицетов при контроле за микологической обстановкой в зданиях (Марфенина, 2002; Шарыгина, Шилов, 2002) Особенно мало сведений о биоповреждении микромицетами бетонов - наиболее распространенных материалов современного домостроения.

Подбор средств защиты в большинстве случаев производится эмпирически. Несмотря на большой объем выполненных в этом направлении работ, используемые средства часто не обеспечивают достаточной стойкости изделий к воздействию микроорганизмов. Низкая эффективность защиты во много связана с недостаточной изученностью материаловедческих аспектов повреждающего воздействия микроорганизмов.

Успешное решение проблемы может быть достигнуто исследованиями причин и механизмов биоповреждения строительных конструкций, закономерностей взаимодействий материалов с биодеструкторами.

Эти исследования позволят обосновать научно-методические подходы к объективной, достоверной оценке и прогнозированию биостойкости строительных материалов, зданий и сооружений, будут способствовать разработке эффективных средств и методов защиты от биоповреждений.

Методы исследования и оценки биоповреждений строительных материалов, зданий и сооружений, вызываемых микроорганизмами

Представленные в настоящем разделе методы основаны на Региональных временных строительных нормах «Защита строительных конструкций зданий и сооружений от агрессивного химического и биологического воздействия окружающей среды» (РВСН 20-01-2006 Санкт-Петербург (ТСН 20-303-2006)).

При обнаружении очагов биоповреждения прежде всего проводится *визуальное обследование*. При осмотре строительных конструкций здания (сооружения) необходимо:

1. выявить все участки, имеющие визуальные признаки биоповреждения;
2. провести фотофиксацию поврежденных участков;
3. провести сравнительный анализ признаков повреждения различных участков. Участки, имеющие схожие (идентичные) признаки биоповреждений, объединить в группы. В одну группу следует включать участки, имеющие одинаковую степень биоповреждения, одинаковые поврежденные материалы, сходные окраску и характер повреждения, одинаковые причины, вызвавшие биоповреждение строительной конструкции. Количество групп определяет количество необходимых проб для микробиологического анализа;

В таблице 2 приведены сведения о характерных признаках, соответствующие разным стадиям биоповреждений строительных материалов, зданий и сооружений (Князева, 2005).

Таблица 2. Классификация тяжести биоповреждений.

Стадия	Проявления (характерные признаки)	
	Видимые	Невидимые
1	Локальные изменения в поверхностном слое (отдельные небольшие очаги пигментации, поверхностные шелушения), площадь повреждений до 10 мм.	Появление в микроструктуре микроводорослей и бактерий. Возможны следы новообразований (сотые доли процента).
2а	Мокрые пятна, видимая кромка	Появление в микроструктуре

	<p>капиллярного увлажнения, зеленый налет и локально расположенные темные пятна размером не более нескольких мм, как правило, заселенные сухопутными водорослями или темного цвета микролишайниками.</p>	<p>отдельных бактериальных колоний, возможно наличие единичных гифов грибов.</p>
2б	<p>Появление на фасадных поверхностях налета зеленого и серого цвета в местах постоянного увлажнения слизистых пленок.</p>	<p>Для стадии 2б явные следы новообразований (от десятых долей до одного процента).</p>
3а	<p>Заращение лишайниками, мхами. Появление признака слегка заметной шероховатости открытых поверхностей. Возможны белые солевые налеты, прочно сцементированные с материалом.</p>	<p>Преобладание биотических структур сообществ мхов и лишайников, наличие колоний бактерий. Перекристаллизация кальцита в рамках углекислотного равновесного процесса. Количество новообразований не более 1%.</p>
3б	<p>Концентрация налета от серого цвета до черного. Появление на фасадных поверхностях визуально легко определяемых контуров и площадей с наличием желто-серых масляно-влажных пятен. На соседних участках возможны высолы, легко удаляемые с поверхности, и вздутия. Интенсифицируется процесс отшелушивания наиболее плотных поверхностных слоев. Внутри помещений — интенсивное заращение влажных участков</p>	<p>Преобладание на поверхности гетеротрофных грибов и гифов внутри камня. Накапливание в поверхностных слоях кристаллогидратов и веществ, обладающих повышенной гигроскопичностью. На поврежденных участках под поверхностной коркой присутствуют новообразования с преобладанием сульфатов натрия, калия и кальция (сульфатизация свыше 5%).</p>

	<p>плесневыми грибами и колониями бактерий.</p> <p>Микроорганизмы присутствуют на площадях от десятков сантиметров до нескольких метров.</p>	
4а	<p>Отслоение поверхностных корок («патины») в случае нарушения баланса увлажнения в наружных ограждающих конструкциях.</p> <p>Локальные выкрашивания в лицевом слое материала.</p> <p>Нарушение связности отделочных материалов.</p> <p>Появление на горизонтальных поверхностях и в трещинах растительности.</p>	<p>Новообразования при перекристаллизации кальцита в поверхностных слоях.</p> <p>Присутствие в материале метастабильных соединений магния и железа.</p>
4б	<p>Растрескивание, отслоение штукатурных слоев.</p> <p>Скалывание, расслоение конструкционных материалов.</p> <p>Полное разрушение связующего кладочного и шовного растворов. Бурный рост культуры грибов или бактерий даже при незначительном нарушении тепловлажностного режима в помещениях.</p>	<p>Необратимые изменения фазового состава. Большое содержание загрязнителей — сульфатов, соединений натрия, новообразований, возникших при растворении основных минералов материала (сульфатизация свыше 15%). Частое присутствие хлорида натрия на испаряющих поверхностях конструкций и в объеме материала.</p>

Отбор проб строительных материалов с поврежденных строительных конструкций

Отбор проб производится с наиболее поврежденной зоны выбранного участка в группе.

Перед отбором осуществляется детальная характеристика места взятия пробы, которая включает: подробное описание признаков повреждения на анализируемом участке, оценку степени разрушения материала, характеристику внешних условий. Место отбора пробы фотографируется.

В тех случаях, когда имеется нарушение целостности поврежденной поверхности, образование сыпучих и порошащих структур, следует производить отбор разрушающегося материала в количестве не менее 25-30 граммов для проведения комплексного лабораторного исследования.

Отбор осуществляется в стерильные чашки Петри или другие стерильные емкости. Емкости должны быть герметичными. Для герметизации емкостей лучше всего использовать специальную пленку «парафильм», допустимо использовать пластырь или скотч.

Строительные материалы (штукатурка, краска, побелка, кирпичная кладка, цементный раствор между кирпичами, материалы звукоизоляции и теплоизоляции) отбирают методом соскобов и смывов с поверхностей.

Смывы с поверхностей берут стерильным ватным тампоном, помещенным в пробирку с 1 мл – 0,9% стерильного водного раствора хлорида натрия, делают смыв с площади 10 кв. см.

Соскобы отбирают с помощью стерильного скальпеля или хирургического шпателя.

В случае невозможности приступить к лабораторным исследованиям в тот же или на следующий день, отобранные пробы следует хранить в холодильнике при температуре (3-5°C). Срок хранения не должен превышать 20 дней.

Все отобранные пробы должны быть пронумерованы.

Методы проведения микробиологического анализа

Способы выделения микроскопических грибов в культуру с поверхности образца

Способ рассева крошек и мелких фрагментов отобранного поврежденного материала (субстрата) на поверхность питательной среды.

Перед рассевом материал следует растереть в стерильной керамической ступке, после чего равномерно распределить мелкие частицы (1-3 мм) по

поверхности питательной среды (картофельно-глюкозный агар - КГА) в чашках Петри.

Способ смыва с поверхности субстрата

Этот способ применяется для выявления микроорганизмов, часто развивающихся за счет поверхностного загрязнения материала. Материал желательно измельчить. 1 г материала перенести в 10 мл стерильного 0,001 % раствора Твина-80 в дистиллированной воде. Полученную суспензию следует размешивать в течение 1 часа при комнатной температуре для отделения клеток микроорганизмов от материала. 40 мкл суспензии равномерно распределяют по поверхности твердой питательной среды (КГА) в чашках Петри.

После посева чашки выдерживают в термостате при температуре 25-28°C. Проводят ежедневное наблюдение и фиксируют появление колоний микроорганизмов. По мере развития колоний осуществляют их пересев на свежий КГА для последующей идентификации.

Предварительная активация (возобновление развития) микромицетов во влажных камерах

Данный способ обеспечивает размягчение грибных структур, а также возобновление развития микромицетов, что существенно облегчает их перенос на питательную среду. Однако при использовании данного способа стимулируется развитие сопутствующих бактерий, загрязняющих получаемые культуры микромицетов. Для предотвращения подобного загрязнения при первом выделении микромицетов в культуру в состав питательных сред (КГА или Среда Чапека-Докса) целесообразно включать антибиотики (например, стрептомицин, окситетрациклин или актидион) из расчета 3 мг на 1 литр проавтоклавированной и охлажденной до 45-50 °С питательной среды.

Метод идентификации

Колонии грибов, выросшие после первого посева, пересевают на свежий КГА или среду Чапека-Докса в стерильных условиях, используя микробиологическую петлю.

Культивирование посевов проводят в термостате при температуре 25-28°C до получения развитых колоний с характерными морфологическими признаками и зрелым спороношением.

Перед идентификацией просматривают выросшие колонии в световом микроскопе и оценивают их чистоту. Для идентификации готовят препараты для световой микроскопии, используя консервирующую жидкость -

лактофенол. Препараты просматривают и идентифицируют с использованием стандартных определителей (Саттон, 2001).

Количественный метод

К 1 г измельченного исследуемого материала добавляют 100 мл стерильной дистиллированной воды, тщательно перемешивают и 1 мл полученной суспензии равномерно распределяют по поверхности агаризованной питательной среды (КГА или Среда Чапека-Докса) с помощью микробиологического шпателя.

Засеянные чашки Петри выдерживают в термостате при температуре 25-28 °С в течение 4-6-х суток.

Производят подсчет колоний на поверхности среды. Рассчитывают количество колониеобразующих единиц (КОЕ) на 1 г субстрата.

Состав питательных сред для микробиологического анализа

Картофельно-глюкозный агар - КГА (г/л): картофель - 200,0; глюкоза - 20,0; агар-агар - 20,0; дистиллированная вода.

Среда Чапека-Докса с агаром (г/л): KH_2PO_4 - 0,7; K_2HPO_4 - 0,3; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ - 0,5; NaNO_3 - 2,0; KCl - 0,5; $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ - 0,01; сахароза - 30,0; вода дистиллированная.

Среда Сусло-агар: неохмеленное пивное сусло (5-6 градусов по Баллингу) - 1 л; агар-агар - 20,0 г.

Среда Сабуро (г/л): глюкоза - 40,0; пептон - 10,0; агар-агар - 20,0; вода дистиллированная.

Среда LB (Лурия-Бертани) агаризованная (г/л): триптон - 10,0 г, хлорид натрия - 10,0 г, дрожжевой экстракт - 5 г, агар-агар - 20,0 г.

Метод отбора и анализа проб воздуха исследуемых зданий

В помещениях с биоповреждениями повышается контаминация воздуха микроорганизмами, особенно микромицетами. Поэтому результат анализа проб воздуха является важным показателем наличия и степени биоповреждения в здании.

Отбор проб осуществляется с помощью сертифицированного пробоотборника ПУ-1Б, обеспечивающего осаждение на питательную среду клеток микроорганизмов из определенного объема воздуха. При отсутствии прибора можно использовать *метод осаждения микроорганизмов* из воздуха на питательные среды в стандартных чашках Петри (время экспозиции - 1

час). Для первичного отбора проб воздуха следует использовать агаризованную среду LB, среду Сабуро и среду Чапека-Докса. Чашки располагают на высоте, соответствующей уровню дыхания сидящего или стоящего человека.

Культивирование посевов проводят в термостате при температуре: 37°C (чашки с агаризованной средой LB) – 24 ч.; 25-28°C - до получения развитых колоний с характерными морфологическими признаками и зрелым спороношением (чашки со средой Сабуро и средой Чапека-Докса). После завершения инкубации посевов подсчитывают число колоний микроорганизмов. Идентификацию грибов осуществляют, используя определители (Саттон, 2001).

Для пересчета количества микроорганизмов на 1 м³ воздуха используют формулу:

$$X = 5 \times A \times 10^4 / r^2 \times T,$$

где А - число колоний на чашке Петри, r - радиус чашки Петри, Т - время экспозиции, X - число микроорганизмов в 1 м³ воздуха.

Нормативов по оценке загрязненности воздуха микроорганизмами в настоящее время не существует. Положение осложняется отсутствием в России единых норм содержания КОЕ (колониеобразующих единиц) для микромицетов при контроле за микологической обстановкой в зданиях.

В качестве ориентировочных критериев по оценке чистоты воздуха помещений могут служить показатели, приведенные в таблице 3 (Вершигора с соавт., 1967). Следует отметить, что согласно СанПиН 2.1.3.1375-03 в "чистых" и "особо чистых" помещения не допускается обнаружение даже единичных КОЕ грибов в 1 дм³ воздуха (Антонов с соавт., 2008).

Таблица 3. Критерии оценки воздуха жилых помещений (количество КОЕ микроорганизмов в 1 м³ воздуха).

Оценка воздуха	Летний режим	Зимний режим
	Число КОЕ	Число КОЕ
Чистый	1500	4500
Загрязненный	2500	7000

Моделирование процессов биоповреждений строительных материалов

Метод определения степени биостойкости строительных материалов

Настоящая методика разработана для проверки на стойкость строительных материалов к воздействию микроорганизмов-биодеструкторов, а именно некоторых видов грибов и бактерий. В основу методики положены:

- ГОСТ 9.048-89;
- Результаты микробиологических исследований строительных конструкций зданий и сооружений различных назначений, памятников истории и архитектуры, которые проводились в Санкт-Петербурге в период 1995-2005 годов.

Существующие ГОСТы по биостойкости разработаны для технических изделий вообще и не учитывают специфику многих строительных материалов. В настоящей методике в перечень биодеструкторов строительных материалов включены грибы, предусмотренные ГОСТ 9.048, и наиболее часто встречаемые агрессивные биодеструкторы, специфичные для зданий и сооружений Санкт-Петербурга (РВСН 20-01-2006 Санкт-Петербург (ТСН 20-303-2006).

Подготовка образцов

Готовые изделия

Образцы материала отбираются из разных мест готового изделия. Размеры образца не должны превышать внутренние размеры стандартной чашки Петри (диаметр 90 мм), толщина образца не должна превышать 0,7 глубины чашки (1 см).

Каждый образец очищается от загрязнений, протирается тампоном или кистью, смоченными в этиловом спирте. Расход спирта 0,05-0,1л/м². Если образцы нестойкие к спирту, их очищают дистиллированной водой, нагретой до 50 ± 10 °С. Затем образцы помещают в стерильные чашки Петри.

Сухие строительные смеси

Сухие строительные смеси затворяют дистиллированной водой, если иное не предусмотрено в технических условиях для этой смеси. Раствор заливается в стерильные чашки Петри. Уровень раствора должен быть от 0,4 до 0,7 см.

Лакокрасочные материалы

Лакокрасочные материалы наносятся на дно стерильной чашки Петри сплошным слоем, не превышающим по толщине допустимое значение.

Сыпучие материалы

Сыпучие материалы равномерно засыпают в стерильные чашки Петри. Толщина слоя от 0,1 до 0,7 см.

При проведении подготовительных работ пользоваться резиновыми перчатками. Предусмотреть меры по предупреждению попадания посторонних веществ на образцы.

Проведение испытаний

Испытание на чувствительность проводят к следующим грибам-биодеструкторам:

1. *Aspergillus niger*
2. *Aspergillus terreus*
3. *Aspergillus versicolor*
4. *Alternaria alternata*
5. *Aurebasidium pullulans*
6. *Cladosporium cladosporioides*
7. *Cladosporium sphaerospermum*
8. *Mucor racemosus*
9. *Penicillium ochrochloron*
10. *Penicillium funiculosum*
11. *Paecilomyces variotii*
12. *Scopulariopsis brevicaulis*
13. *Trichoderma viride*

Испытания проводят на образцах, не подвергавшихся климатическим испытаниям.

Каждый образец материала тестируется с каждым тест-объектом в трехкратной повторности.

Тестирование проводится путем инокуляции испытуемых образцов микроорганизмом-деструктором (тест-объектом) или инкубацией образцов в

культуре тест-объекта. Одновременно осуществляется посев тех же видов микроорганизмов на контрольные питательные среды (КГА, Чапека-Докса) - тест-контроль. Дополнительным (положительным) контролем являются образцы материала, не зараженные микроорганизмами-биодеструкторами, но экспонирующиеся в тех же условиях, что и зараженные образцы.

При проведении испытаний используют аппаратуру, материалы и реактивы согласно ГОСТ 9.048-89. Питательные среды для грибов готовят согласно описанию в разделе *«Состав питательных сред для микробиологического анализа»*.

Суспензии спор грибов в дистиллированной воде готовят непосредственно перед испытанием. Концентрации суспензий определяют с использованием камеры Горяева. Для проведения испытаний применяются суспензии, концентрации которых находятся в пределах 10^5 - 10^6 спор грибов на 1 мл суспензии.

В соответствии с ГОСТ 9.048-89 поверхность образцов заражают водной суспензией спор грибов равномерным опрыскиванием или нанесением капель, не допуская их слияния. Зараженные образцы подсушивают в боксе при температуре 25°C и относительной влажности воздуха от 70 до 90% до высыхания капель, но не более 60 мин.

Чашки Петри с образцами, зараженными спорами грибов, помещают в камеру или эксикатор, на дно которого налита дистиллированная вода (для создания высокой влажности воздушной среды, необходимой для развития грибов). Расстояние между стенками камеры или эксикатора до чашек Петри должно быть не менее 50 мм. Камеру или эксикатор закрывают. Контрольные чашки Петри помещаются в аналогичные условия.

Испытания с грибами-деструкторами проводят при температуре $(29\pm 2)^{\circ}\text{C}$ и относительной влажности воздуха более 90%. Продолжительность испытаний составляет 28 суток. За начало испытаний принимают время получения заданного режима. В камере не допускается конденсация влаги, принудительная вентиляция и воздействие прямого естественного или искусственного освещения. В процессе испытания каждые 7 суток крышки эксикаторов приоткрывают на 3 мин. для доступа воздуха.

Контрольные чашки Петри осматриваются через 5 суток. Если на питательной среде не наблюдается развитие микроорганизмов, то они считаются нежизнеспособными. Испытания проводят заново. При этом используют новую культуру тест-объекта.

По завершению испытания образцы извлекают из камеры или эксикатора и тотчас осматривают невооруженным глазом (освещенность 200-300 лк),

фотографируют, затем анализируют под бинокулярной лупой и микроскопом, после чего оценивают биостойкость каждого образца по интенсивности развития микроорганизмов-деструкторов. Оценку степени биостойкости каждого образца проводят по таблице 4.

Таблица 4. Оценка степени биостойкости образцов строительных материалов.

Характеристика балла	Балл
Под микроскопом прорастания спор, конидий грибов и бактерий не обнаружено.	0
Под микроскопом видны проросшие споры и незначительно развитый мицелий. Под микроскопом видны немногочисленные колонии бактерий.	1
Под микроскопом виден развитый мицелий, возможно спороношение. Под микроскопом видны колонии бактерий.	2
Невооруженным глазом замечен мицелий и (или) спороношение, колонии бактерий едва видны, но отчетливо видны под микроскопом.	3
Невооруженным глазом отчетливо видно развитие грибов, покрывающих менее 25 % испытываемой поверхности. То же, для бактерий.	4
Невооруженным глазом отчетливо видно развитие грибов, покрывающих более 25 % испытываемой поверхности. То же, для бактерий.	5

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Анисимов, А.А. Биоповреждения в промышленности и защита от них [Текст] / А.А. Анисимов, В.Ф. Смирнов // Горький: Издание ГГУ. - 1980. - 82 с.
2. Анисимов, А.А. Влияние фунгицидов на содержание органических кислот в культуральной жидкости гриба *Aspergillus niger* [Текст] / А.А. Анисимов, Т.В. Зезина, В.Ф. Смирнов, Н.И. Чадаева // Биохимия и биофизика микроорганизмов: Межвуз. сб. - 1977. - Вып.5.- С.85-89.
3. Анисимов, А.А. Ферменты мицелиальных грибов как агрессивные метаболиты [Текст] / А.А. Анисимов, М.С. Фельдман, Л.Б.Высоцкая // Биоповреждения в промышленности: Межвуз. сб. Горький: ГГУ.- 1985. - С.3-19.
4. Антонов, В.Б. Биоповреждение зданий – одна из причин микозов и микогенной аллергии у городских жителей [Текст] / В.Б. Антонов // URL:<http://www.rusmedserv.com/mycology/index.html> (дата обращения 20.07.13).
5. Антонов, В.Б. Биоповреждения больничных зданий и их влияние на здоровье человека [Текст] / В.Б. Антонов, Н.А. Беляков, Н.В. Васильева, Н.П. Елинов, С.А. Старцев, О.Г. Хурцилава, А.П. Щербо // СПб: МАПО. - 2008. - 232 с.
6. Бабицкая, В.Г. Природа меланиновых пигментов некоторых микро- и макромицетов [Текст] / В.Г. Бабицкая, В.В. Щерба // Прикл. биох. и микроб. - 2002.- Т.38, №3. - С.286-291.
7. Берестовская, В.М. Новые биоциды и возможности их использования для защиты промышленных материалов [Текст] / В.М. Берестовская, И.Г. Канаевская, Е.В. Трухин // Биоповреждения в промышленности: Тез.докл. конф. - Пенза. - 1993. -С. 25-26.
8. Болотнянская, Э.В. Биология плесневых грибов – продуцентов афлотоксинов [Текст] / Э.В. Болотнянская // Биологические науки. – 1977. - №11.- С.18-25.
9. Бочаров, Б. В. Химическая защита строительных материалов от биологических повреждений [Текст] / Б.В. Бочаров // Биоповреждения в строительстве. М.: Стройиздат. - 1984. - С. 35-47.
10. Вершигора, А.Е. Санитарная микробиология [Текст] / А.Е. Вершигора, Л.В. Григорьева, В.А. Ярошенко // Киев: Здоров'я. – 1967. – 200 с.

11. Гончарова, И.А. Влияние четвертичных аммониевых соединений на физиолого-биохимические свойства микромицетов - деструкторов промышленных материалов [Текст] /И.А. Гончарова // Микология и фитопатология. -1990.-Т.2, №1.- С.89.
12. Горленко, М.В. Некоторые биологические аспекты биодеструкции материалов и изделий [Текст] / М.В. Горленко// Биоповреждения в строительстве. М. -1984. -С.9-17.
13. ГОСТ 9.048-89. Единая система защиты от коррозии и старения. Изделия технические. Методы лабораторных испытаний на стойкость к воздействию плесневых грибов [Текст] /1989. - URL: <http://www.gosthelp.ru/gost/gost28597.html> – (дата обращения 13.09.2013).
14. Дергунова, А.В. Биоповреждения конструкций зданий, сооружений и оценка ущерба от биоповреждений [Текст] /А.В. Дергунова, В.Т. Ерофеев, В.Ф. Смирнов // Дефекты зданий и сооружений. Усиление строительных конструкций: материалы XIVнаучно-метод. Конф. ВИТУ – СПб. – 2010. – С. 175-179.
15. Дрозд, Г.Я. Микроскопические грибы как фактор биоповреждений жилых, гражданских и промышленных зданий [Текст] /Г.Я. Дрозд// Макеевка: Б.И. - 1995.- 18 с.
16. Жеребятьева, Т.В. Диагностика бактериальной деструкции и способ защиты от нее бетона [Текст] /Т.В. Жеребятьева // Биоповреждения в промышленности: Тез.докл. конф. Ч. 1.- Пенза. - 1993. - С.5-6.
17. Заикина, Н.А. Образование органических кислот, выделяемых с объектов, пораженных биокоррозией [Текст] / Н.А. Заикина, Н.В. Деранова// Микология и фитопатология. -1975. - Т.9, № 4. - С. 303-306.
18. Иванов, Ф.М. Биокоррозия неорганических строительных материалов [Текст] /Ф.М. Иванов // Биоповреждения в строительстве: Тез.докл. конф. М.: Стройиздат, - 1984. - С. 183-188.
19. Ильичев, В.Д. Биоповреждения – проблема XX века [Текст] /В.Д. Ильичев // В сб. биоповреждения в промышленности. Межвузовский сборник. Изд-во ГГУ: Горький.- 1983. – 100 с.
20. Ильичев, В.Д. Экологические основы защиты от биоповреждений [Текст] / В.Д. Ильичев, Б.В. Бочаров, М.В. Горленко // М.:Наука. -1985. – 262 с.
21. Ильичев, В.Д. Биоповреждения / В.Д. Ильичев // М.: Высшая школа. – 1987. -352 с.
22. Инсодене, Р.В. Ферментативная активность микромицетов как характерный признак вида [Текст] / Р.В. Инсодене, А.Ю. Лугаускас //

- Проблемы идентификации микроскопических грибов и других микроорганизмов: Тез.докл. конф. Вильнюс.- 1987.- С. 43-46.
23. Каратыгин, И.В. Грибы и их роль в эволюции экосистем [Текст] / И.В. Каратыгин // Ботанический журнал. - 1994. - Т. 79. № 2. – С. 13-20.
 24. Князева, В.П. Экология. Основы реставрации [Текст] / В.П. Князева // М.- 2005. – 400 с.
 25. Козловский, А.Г. Микотоксины грибов рода *Penicillium vulpinum* (CookeMasse) Seifertand Samson [Текст] /Г.А. Козловский, О.Е. Марфенина, Н.Г. Винкурова/ // Микробиология. – 2000. – Т. 69. – С. 45-48.
 26. Крыленков, В.А. Основные итоги биологической экспертизы при расследовании причин обрушения козырька наземного вестибюля станции Петербургского метрополитена «Сенная площадь» [Текст] / В.А. Крыленков, Антонов В.Б., Иванов С.Ю., Крогиус М.Э., Малышев В.В., Старцев С.А., Челибанов В.П. //Экологические проблемы биодegradации промышленных, строительньх материалов и отходов производств: Сборник материалов III Всероссийской научно-практической конфер. Пенза. - 2000. – С.57.
 27. Крыленков, В.А. Биоразрушение среды обитания человека в городе – основная угроза безопасности его жизнедеятельности [Текст] / В.А. Крыленков, С.А. Старцев // Гидроизоляционные материалы – XXI век «AquaSTOP»: Сборник докладов. 1-ой Международной научно-технической конфер. С.-Пб. - 2001. – С. 47.
 28. Кудинова, Г.П. О канцерогенном действии некоторых грибов [Текст] / Г.П. Кудинова //Микология и фитопатология. – 1984. – Т. 18, в.1. – С. 76-80.
 29. Кузнецова, И.М. Изучение воздействия микроорганизмов на бетон [Текст] / И.М. Кузнецова, Г.Г. Няникова, В.Н. Дурчева// Биоповреждения в промышленности: Тез.докл. конф. 4.1.- Пенза.- 1994. - С. 8-10.
 30. Лугаускас, А.Ю. Видовой состав микроскопических грибов и ассоциации микроорганизмов на полимерньх материалах [Текст] / А.Ю. Лугаускас, Л.М. Григайтине, Ю.П. Репечкене, Д.Ю. Шляужене// Актуальные вопросы биоповреждений. - М.: Наука. - 1983. – С. 152-191.
 31. Лугаускас, А.Ю. Поражение полимерньх материалов микромицетами [Текст] / А.Ю. Лугаускас, Л.И. Левинскайте, Д.И. Лукшайте// Пластические массы.- 1991. - №2. - С. 24-28.

32. Марфенина, О.Е. Опасные плесени в окружающей среде [Текст] / О.Е. Марфенина // Природа. - 2002. - № 12. – С. 33-38.
33. Миракян, М.Е. Очерки по профессиональным грибковым заболеваниям [Текст] /М.Е. Миракян//Ереван. - 1981. - 134 с.
34. Морозов, Е.А. Биологическое разрушение и повышение биостойкости строительных материалов: Автореф. дисс.канд. техн. наук [Текст] / Е.А. Морозов// Пенза. - 2000. - 18 с.
35. РВСН 20-01-2006 Санкт-Петербург (ТСН 20-303-2006) Защита строительных конструкций, зданий и сооружений от агрессивных химических и биологических воздействий окружающей среды [Текст] /2006. – URL: http://www.complexdoc.ru/ntdtext/542946#_Toc148184892 (дата обращения 8.06.2013).
36. Саттон, Д. Определитель патогенных и условно патогенных грибов: справочное издание [Текст]/ Д. Саттон, А. Фотергилл, М. Ринальд./М.: Мир. - 2001. – 486 с.
37. Семенов, С.А. Биоповреждения материалов и изделий техники [Текст] /С.А. Семенов, К.З. Гумаргалиева, И.Г. Калинина Г.Е. Заиков//Вестник МИХТ. - 2007. – Т.2, №6. - С.3-26.
38. Сухаревич, В.И. Защита от биоповреждений, вызываемых грибами [Текст] / В.И. Сухаревич, И.Л. Кузикова, Н.Г. Медведева// Санкт-Петербург: ЭЛБИ-СПБ. – 2009 .- 207 с.
39. Старцев, С.А. Проблемы обследования строительных конструкций, имеющих признаки биоповреждения [Текст] / С.А. Старцев// Инженерно-строительный журнал. – 2010. - № 7. – С. 41-46.
40. Толмачева, Р.Н. Накопление биомассы и активность протеолитических ферментов микодеструкторов на неприродных субстратах [Текст] /Р.Н. Толмачева, И.Ф. Александрова // Биохимические основы защиты промышленных материалов от биоповреждений. Горький. - 1989. - С. 20-23.
41. Фельдман, М.С. Исследование оксидоредуктаз и гидролаз плесневых грибов в связи с их биоповреждающим действием [Текст] / М.С. Фельдман, И.Ф. Александров, А.Н. Леонтьева// Биохимия и биофизика микроорганизмов. - 1983. - С.3-10.
42. Шарыгина, И. О. Учет физических и биологических факторов воздействия при экологическом нормировании качества атмосферного воздуха [Текст] / И. О. Шарыгин, С. М. Шилов // Труды НИИ Атмосфера. СПб. - 2002.

43. Ярыгин, В.Н. Биология в 2-х т. [Текст] /В.Н.Ярыгин, В.И. Васильева, В.В. Синельщикова // Т. 2.- М.- 1999. – 352 с.
44. Allsopp, D. Introduction to Biodeterioration Text] / D. Allsopp, S. Seal Kenneth, C. Christine // 2end edition. Cambridge University Press. – 2004. - P. 237.
45. Flannigan, B. Deteriogenic microorganisms in houses as a hazard to respiratory health [Text] / B. Flannigan // International biodeterioration and biodegradation. – 2001. - V. 48. – P. 41-54.
46. Gibson, D. Microbial degradation of organic compounds [Text]/ David T. Gibson // New York : M. Dekker. - 1984. - 535 p.
47. Role of fungi in biodeterioration process of stone in historic buildings [Text] / M.V Grbić, J.B. Vukojević// Zbornik Matice srpske za prirodne nauke. Proc. Nat. Sci, Matica Srpska Novi Sad. – 2009. – V. 116. – P. 245-251.
48. Gu, Ji-Dong Microbial Degradation of Polymeric Materials [Text] /Ji-Dong Gu, T.E. Ford, D.V. Mitton, R. Mitchell//In: Uhlig's Corrosion Handbook, Second Edition, edited by R. Winsron Revie. New York: John Wiley and Sons, Inc. – 2000. – P. 439-460
49. Gu, Ji-D. Biodeterioration: In The Prokaryotes[Text]| Ji-Dong Gu, R. Mitchell //Applied Bacteriology and Biotechnology. Eds.: Eugene Rosenberg, Edward F. DeLong, Stephen Lory, Erko Stackebrandt, Fabiano Thompson. Springer: Berlin Heidelberg – 2013. – P. 309-341.
50. Hoog de G.S. Atlas of clinic fungi. Centrabureau worshimmel cultures [Text]/de G.S. Hoog, J. Guarro, J. Gene // Univ. Rovira I Virgilli. - 2000. – 1126 p.
51. Hospenhal, D.R. Diagnosis and Treatment of Human Mycoses [Text]/ D.R. Hospenhal, M.G. Rinaldi // Humana Press: New Jersey. – 2007. – 428 p.
52. Hueck, H.J. Biodeterioration of materials as part of hylobiology [Text] /H.J. Hueck//Mater.Org. – 1965. – V.1 (1). – P. 5-34.
53. Hueck, H.J. The biodeterioration of materials - an appraisal. InBioderiation of Materials [Text]/ H.J. Hueck// Eds. Walters A.H. and Elphick J.S. Elsevier.: London. - 1968. – P. 6-12.
54. Jayakumar, S. Studies on the biodeterioration of concrete by marine algae. Shodhganga Repository of Indian Electronic Theses and Dissertations. INFLIBNET Pondicherry University School of Engineering. – 2012. – URL: http://shodhganga.inflibnet.ac.in/bitstream/10603/5590/10/10_chapter%202.pdf (дата обращения 31.07.2013).
55. Lawrence, The Metabolic Pathways of Biodegradation. In The Prokaryotes [Text] /P. Lawrence// Applied Bacteriology and Biotechnology. Eds.: Eugene

- Rosenberg, Edward F. DeLong, Stephen Lory, Erko Stackebrandt, Fabiano Thompson. Springer: Berlin Heidelberg – 2013. - P.383-393.
56. Li, M. Formation of carcinogenic n-nitroso compounds in cornbread, inoculated with fungi [Text] / M. Li, S. Lu, Je Ch et al // Scinticasinica. – 1979. – V. 22, No4. – P. 417-477.
 57. Lin, P. Epidemiology and etiology of cancer in China [Text]/ P. Lin, W. Tang // Journ. of cancer. res. and clin. oncology. – 1980. – V. 96, No 96. – P. 121-130.
 58. Palmer, R.J., Siebert J., Hirsch P. Biomass and organic acids in sandstone of a weathering building: production by bacterial and fungal isolates [Text]// Microbiol. Ecol. -1991. - 21, №3. - P. 253-266.
 59. Rose, A.H. Microbial deterioration [Text] /A.H. Rose //London ; New York : Academic Press.- 1981. – P.516.
 60. Sanchez-Silva, M. Deterioration of construction materials: State of the Art and Future Challenges [Text] /M. Sanchez-Silva, A.M. Asce, D.V. Rosowsky, P.E.Asce// Journal of Civil Engineering. – 2008. - V.20, No 1. – P.352-365.
 61. Semenov, S.A. Biodegradation and durability of materials under the action of microorganism[Text] / S.A. Semenov, K.Z. Gumargalieva, G.E. Zaikov//Utrecht: VSP International Science Publishers. - 2003. – 199 p.
 62. Services, U. Report of the NIAD Task Force on Immunology and Allergy [Text] National Institute of Health (USA) Bethesda MD. - 1990 – 38 p.
 63. Tsutomu, M. Microflora on the surface of concrete structures [Text] / M. Tsutomu // Sth. Intern. Mycol. Congr.. Vancouver. - 1994. - P. 147-149.
 64. Wächtershäuser, G. From volcanic origins of chemoautotrophic life to Bacteria, Archeae and Eukarya [Text] / G. Wächtershäuser //Phil. Trans. R. Soc. – 2006. - 361. – P. 1787-1808.
 65. Woese, C. R. Archaeobacterial phylogeny: respectives of urkingdoms [Text] / C. R. Woese, G. J. Olsen// System. Appl. Microbiol.- 1986. - V.7, N 2-3. – P. 161-177.
 66. Woese, C. The universal ancestor [Text] / C. R. Woese //Proceedings of the Natl. Acad. Sci. USA. – 1998. – V. 95. – P. 6854-6859.