

mgr inż. Michał Komar^{1)*}

ORCID: 0000-0001-6354-6885

dr hab. inż. Justyna Szulc²⁾

ORCID: 0000-0002-6601-2376

prof. dr hab. Beata Gutarowska²⁾

ORCID: 0000-0002-9223-2001

Nowe metody oznaczania grzybów i glonów w budownictwie

New methods of determining fungi and algae in construction

DOI: 10.15199/33.2024.05.06

Streszczenie. Mikroorganizmy zasiedlają materiały budowlane od pierwszych dni ich użytkowania. Powodują biodeteriorację i przyczyniają się do strat ekonomicznych, a w przypadku wnętrza budynków mogą negatywnie oddziaływać na zdrowie mieszkańców. Istotne jest wczesne wykrywanie grzybów i glonów na materiałach budowlanych. Poniższy artykuł zawiera przegląd literaturowy metod wykrywania grzybów i glonów na materiałach budowlanych oraz przedstawia nową metodę oceny trwałości powłok przed porastaniem.

Słowa kluczowe: grzyby; glony; analiza mykologiczna; analiza algologiczna; biodeterioracja materiałów budowlanych.

Abstract. Microorganisms inhabit building materials from the first days of their use. They cause biodeterioration and contribute to economic losses, and in the case of building interiors, they may negatively affect the health of residents. Early detection of fungi and algae on building materials is important. The following article contains a literature review of research methods for detecting fungi and algae on building materials and presents a new method for assessing the resistance of coatings against fouling.

Keywords: fungi; algae; mycological analysis; algological analysis; biodeterioration of building materials.

Na materiałach budowlanych już od pierwszych dni ich użytkowania pojawiają się glony, których wzrost aktywuje jedynie światło i wilgotność powietrza. W kolejnym etapie zaczynają rosnąć grzyby, wymagające niewielkich ilości materii organicznej oraz wilgotności materiału. Obie grupy mikroorganizmów powodują biodeteriorację materiałów budowlanych: estetyczną (np. tworzenie przebarwień, śluzowatych powierzchni, patyn); chemiczną (np. wydzielanie metabolitów, asymilacyjne i dysymilacyjne rozkładanie materiału) i geofizyczną (np. stres mechaniczny, wiązanie wody, zmiana objętości biofilmów i związanej wody) [1, 2] i przyczyniają się do znacznych strat ekonomicznych [3]. W przypadku wnętrza budynków mogą także negatywnie oddziaływać na zdrowie mieszkańców i powodować tzw. syndrom chorego budynku [4]. Szczególnie istotne jest zatem wczesne wykrywanie grzybów i glonów na materiałach budowlanych z zastosowaniem nowoczesnych i dokładnych metod ba-

dawczych. Ich wykorzystanie powinno pozwolić na szybkie zniwelowanie zagrożenia lub umożliwić oznaczenie trwałości powłoki przed wzrostem szkodliwych mikroorganizmów. Dotychczas badania wzrostu mikroorganizmów wykonywano w celu oceny działania substancji czynnych w powłokach ochronnych nakładanych na materiały budowlane zgodnie z normami PN-EN 15457:2022-08 [5] oraz PN-EN 15458:2022-08 [6]. Metody te nie wskazują jednak na skuteczność powłoki do ochrony jej samej lub materiału znajdującego się pod nią oraz nie uwzględniają wpływu warunków środowiskowych, przede wszystkim wmywania, a także promieniowania UV, które może przyspieszać zużycie powłoki oraz warunkuje skuteczność działania związków fotoaktywnych (np. TiO_2) [7, 8]. Ze względu na brak uwzględnienia zużycia powłoki na skutek czynników atmosferycznych oraz standaryzacji metod niezbędne jest opracowanie nowego sposobu oceny trwałości materiałów budowlanych. Poniższy artykuł zawiera przegląd literaturowy metod badawczych wykrywania grzybów i glonów na materiałach budowlanych oraz przedstawia nową metodę oceny trwałości powłok przed porastaniem.

Metody oceny wzrostu grzybów na materiałach budowlanych

W analizie mykologicznej można oceniać zarówno podatność nowych materiałów budowlanych, szczególnie z dodatkiem biocydów, na porastanie przez grzyby [5], jak również oceniać ilościowo i jakościowo wzrost grzybów na materiałach w użytkowanych budynkach w celu określenia stopnia ich zanieczyszczenia [9]. W ocenie ilościowej najczęściej stosowane są klasyczne metody hodowlane oraz ich modyfikacje, w których wykorzystuje się pożywki mikrobiologiczne do uzyskania wzrostu grzybów i zliczenia tzw. jtk/100 cm² powierzchni materiału. Rekomenduje się stosowanie różnych pożywek, aby zwiększyć szanse wykrycia wszystkich grzybów obecnych na materiałach. Szczególnie dotyczy to grzybów kserofilnych (wzrost przy niskiej aktywności wodnej) [10]. W kolejnym kroku otrzymane kolonie grzybów identyfikuje się do poziomu gatunku, wykorzystując porównanie cech morfologicznych do kluczy taksonomicznych [11]. Obecnie identyfikację prowadzi się za pomocą metod molekularnych z różnymi markerami genetycznymi (ITS1, ITS2, rpb1, rpb2, mcm7, tef1 α , benA, cmd, hogA, h3-h4 i in.) [12]. Najbardziej mia-

¹⁾ Politechnika Łódzka, Interdyscyplinarna Szkoła Doktorska

²⁾ Politechnika Łódzka, Wydział Biotechnologii i Nauk o Żywności

* Adres do korespondencji: michal.komar@dokt.p.lodz.pl

rodajną metodą identyfikacji jest jednak sekwencjonowanie całego genomu. Do identyfikacji wykorzystuje się także metodę oznaczania profilu lotnych związków organicznych VOCs, charakterystycznych w przypadku poszczególnych gatunków [13]. W analizie ilościowej wykorzystuje się też metody chemiczne, które w porównaniu z metodami hodowlanymi mają wiele zalet, takich jak: krótki czas analizy; duża dokładność oraz oznaczanie grzybów zarówno żywych, jak i martwych, które mogą oddziaływać alergennie. Metody te polegają na ekstrakcji rozpuszczalnikami organicznymi składników grzybni (ergosterol, glukany) z materiału budowlanego i oznaczaniu metodami chromatograficznymi (HPLC, GC) [14].

Dotychczas nie opracowano norm dotyczących interpretacji badań mykologicznych materiałów budowlanych zarówno pod względem ilościowym, jak i jakościowym. W literaturze można jednak znaleźć zalecenia, jak interpretować wyniki badań uzyskane metodą hodowlaną ($<10^4$ jtk/100 cm² – brak zagrzybienia; 10^4 – 10^6 jtk/100 cm² – stan ostrzegawczy, aktywny wzrost grzybów, $>10^6$ jtk/100 cm² – stan alarmowy, bardzo aktywny wzrost grzybów, groźny dla zdrowia człowieka). Zawartość ergosterolu w próbce materiału budowlanego > 4 mg/m² oznacza wysokie zagrzybienie materiału [15].

Pod względem jakościowym należy zidentyfikowane pod względem gatunku grzyby sklasyfikować wg tzw. klasyfikacji BSL (*biosafety level*) oraz podzielić na grupy zagrożenia wg Rozporządzenia Ministra Zdrowia w sprawie szkodliwych czynników biologicznych [16]. Klasyfikacje te wskazują na szkodliwy wpływ gatunków grzybów na zdrowie mieszkańców zagrzybionych budynków oraz pracowników w miejscu pracy. W przypadku potrzeby potwierdzenia chorób związanych z obecnością grzybów i produkowanych przez nie mykotoksyn można oznaczyć mykotoksyny w materiale budowlanym, wykonując analizy immunologiczne z wykorzystaniem przeciwciał monoklonalnych (testy ELISA). Badanie surowicy krwi i testy skórne mieszkańców na obecność grzybów wyizolowanych w pomieszczeniach mogą potwierdzić występowanie reakcji alergicznych u mieszkańców [17].

Metody oceny wzrostu glonów na materiałach budowlanych

W umiarkowanej strefie klimatycznej glony aerofityczne reprezentowane są przede wszystkim przez zielenice, które stanowią równie powszechne zagrożenie fasad budowlanych jak pleśnie. Do niedawna analiza jakościowa tzw. zielonych biofilmów była wykonywana przede wszystkim z wykorzystaniem tradycyjnych metod mikroskopowych – rozróżnienie cech morfologicznych z wykorzystaniem mikroskopii świetlnej (LM) [18] lub bardziej zaawansowanej skaningowej (SEM) oraz transmisyjnej (TEM) mikroskopii elektronowej [19, 20].

W związku z tym, że wiele gatunków glonów aerofitycznych wykazuje duże podobieństwo morfologiczne [21], a niektóre cechy charakterystyczne mogą zależeć od warunków środowiskowych [22], obecnie bazuje się na analizie molekularnej i sekwencjonowaniu genów [23, 24]. Metody mikroskopowe mogą zostać zastosowane także w analizie ilościowej [25], pozwalającej na określenie liczby komórek glonów obecnych na powierzchni fasady. Innym wykorzystywanym biomarkerem jest chlorofil -a, podstawowy barwnik asymilacyjny zielenic, którego stężenie jest proporcjonalne do liczby komórek fotoautotroficznych [26, 27]. Metoda pomiaru polega na stosunkowo prostej procedurze ekstrakcji, pomiarze spektrofotometrycznym lub za pomocą chromatografii. Pobór biofilmu, szczególnie z materiałów bardzo porowatych, może być niestety utrudniony, co zmniejsza dokładność analizy. Ponadto, metoda ta może być nieskuteczna w wykrywaniu wczesnych oznak kolonizacji fasad [28, 29]. Jako alternatywę stosuje się pomiar fluorescencji chlorofilu, pozwalający na ilościową analizę zielonych biofilmów oraz badanie ich aktywności fotosyntetycznej. Tradycyjnie, pomiar fluorescencji bazuje na metodach mikroskopowych, ale nowoczesne urządzenia wykorzystujące impulsową modulację amplitudy (PAM – *Pulse-Amplitude Modulated fluorimetry*) pozwalają na nieinwazyjną analizę fasad, również in situ [30, 31]. Głównym niepożądanym skutkiem rozwoju glonów

na materiałach budowlanych są najczęściej zielone lub żółtozielone przebarwienia. Zmiana barwy podłoża związana z wytwarzaniem barwników, takich jak np. chlorofile i karotenoidy, mierzona za pomocą kolorymetrów lub spektrofotometrów może być skutecznym wskaźnikiem stopnia porośnięcia [32]. Taki pomiar nie wymaga skomplikowanej procedury, jest nieinwazyjny i może być wykorzystywany w warunkach polowych, a nowoczesne urządzenia pomiarowe pozwalają na zapis dużej liczby danych. Z drugiej strony złożoność metody pomiaru i interpretacji wyników zwiększa się w przypadku materiałów i fasad, których powierzchnia jest niehomogeniczna. Odpowiednie dostosowanie metody spektrofotometrycznego pomiaru zmiany zabarwienia może pozwolić na wczesne wykrycie zmian świadczących o niepożądanym rozwoju glonów, zanim będą one widoczne ludzkim okiem.

Z perspektywy funkcjonalności fasad, najbardziej praktyczna jest wizualna ocena stopnia porośnięcia, najczęściej wyrażana jako procent pokrycia powierzchni. Efektywność metody maleje w początkowych etapach rozwoju biofilmu i może wymagać wykwalifikowanego pracownika. Z powodzeniem może być jednak wykorzystywana w laboratoryjnych badaniach trwałości powłok budowlanych. Obecnie, w celu zmniejszenia subiektywności oceny, wprowadza się dodatkowo techniki cyfrowej analizy obrazu [33], które w przyszłości mogą być wspierane przez metody uczenia maszynowego [34].

Nowa metoda badania trwałości materiałów budowlanych na porastanie przez glony i grzyby

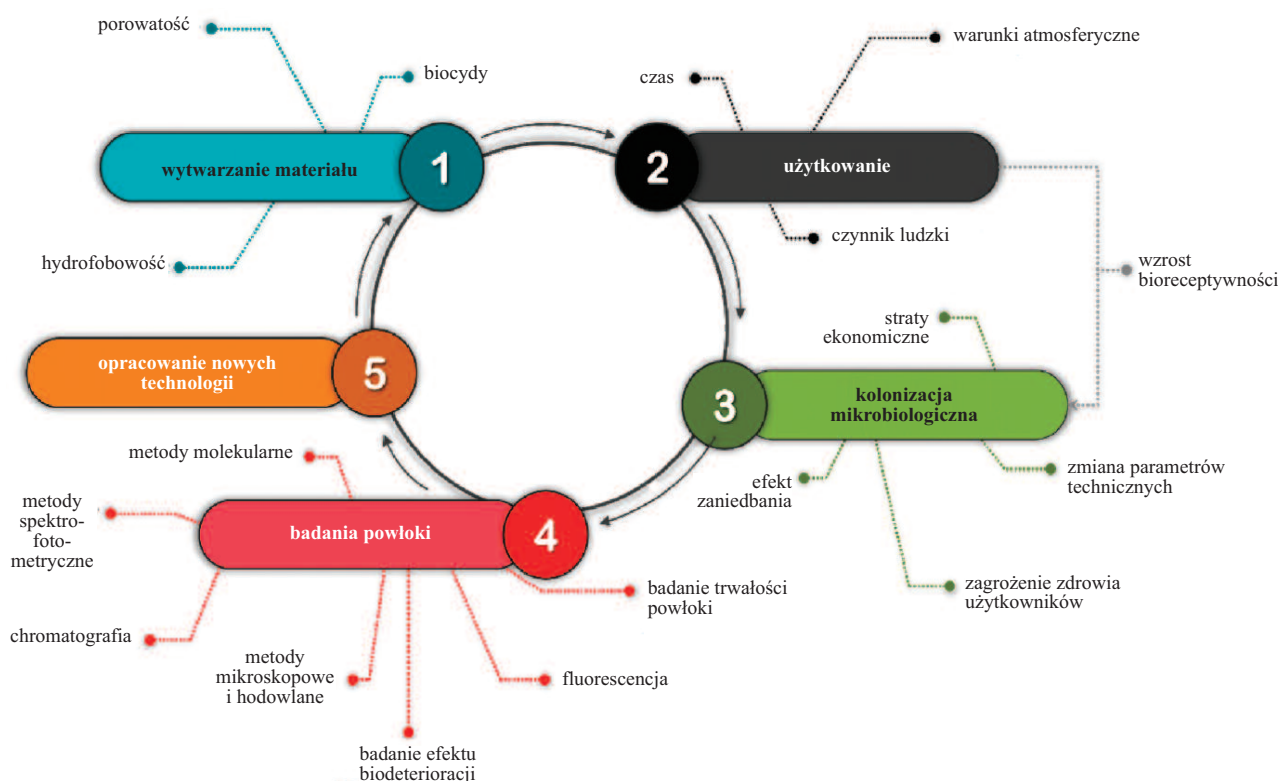
Skuteczność opisanych metod w odniesieniu do powłok budowlanych poddano analizie w badaniach laboratoryjnych przedstawionych w [29, 35]. Zwiększenie skuteczności oceny wymaga często specjalistycznej aparatury i zmniejsza powszechność użycia oraz wydłuża czas analizy. Dla producentów materiałów i ich użytkowników standaryzacja pełni istotną rolę w rzetelnej gwarancji trwałości. Kluczową informacją jest czas, przez jaki powłoka pozostanie odporna na wzrost mikroorgani-

zmów. Będzie to zależęć od wielu czynników uwzględniających m.in. rodzaj materiałów i warunki użytkowania (rysunek). W przeciwieństwie do metod oceny stopnia porośnięcia powłoki, do tej pory nie została opracowana metoda pozwalająca na określenie jej trwałości. Metody normatywne, np. [5, 6] pozwalają zbadać, czy zabezpieczenie badanego materiału wykazuje skuteczność czy jej brak, ale nie umożliwiają określenia czasu, w którym powłoka nie ulegnie kolonizacji. Ten parametr najczęściej determinowany jest przez wewnętrzne badania producenta powłoki lub substancji zabezpieczających i rzadko podlega badaniom modelowym oraz środowiskowym. Z tego względu, różnice w indywidualnych metodach uniemożliwiają wiarygodne ich porównanie. W ostatnich latach, Katedra Biotechnologii Środowiskowej Politechniki Łódzkiej prowadziła badania nad sposobami oceny stopnia porośnięcia materiałów budowlanych oraz ich odpornością przeciwdrobnoustrojową. Rezultatem ponadtrzyletnich badań prowadzonych w warunkach laboratoryjnych i środowiskowych było opracowanie nowej

metody oceny trwałości powłok budowlanych na porastanie przez glony i grzyby [29, 35, 36].

Podstawą metody są badania modelowe, powtarzane cyklicznie, aż do momentu, w którym materiał poddany badaniu zostanie porośnięty na powierzchni co najmniej 10%. Jeden cykl badania dzieli się na 4 odrębne etapy, w tym: (1) kondycjonowanie próbek; (2) inokulacja materiałów; (3) inkubacja oraz (4) ocena. Jako materiał do badań wykorzystuje się próbki materiału przygotowane zgodnie z EAD 040083-00-0404, 2020 [37], w postaci krążków o średnicy 50 mm. Podczas etapu kondycjonowania, próbki materiałów poddawane są namaczaniu i naświetlaniu światłem UV. Etap ten ma na celu zmniejszenie odporności powłoki, która w warunkach naturalnych występuje w wyniku opadów atmosferycznych oraz na skutek działania promieni słonecznych. Do tychczas, wpływ czynników środowiskowych na odporność przeciwdrobnoustrojową powłoki nie był uwzględniony w metodzie normatywnej [5, 6], pozwalając na osiągnięcie większej skuteczności zabezpieczenia niż w rzeczy-

wistości. Parametry kondycjonowania, np. objętość wody, zostały dobrane na podstawie analizy danych klimatycznych udostępnianych przez Instytut Meteorologii i Gospodarki Wodnej – Państwowy Instytut Badawczy oraz Główny Inspektorat Ochrony Środowiska. Ilość wody powinna być tak dobrana, aby tworzyła nad próbką warstwę o wysokości co najmniej 4 cm. Dokładna objętość może być wyliczona na podstawie średniej rocznej wartości sumy opadów oraz powierzchni próbek danego materiału, np. średnia, obszarowa roczna suma opadów wynosząca 500 mm słupa ciecicy odpowiada 500 l wody padającej na powierzchnię 1 m² i 50 ml wody na każdy cm² powierzchni materiału. Próbki o powierzchni 20 cm² powinny być zatem wmywane w co najmniej 1 l wody destylowanej. Zgodnie z metodą, proces wmywania trwa przez 24 h, a następnie próbki są poddawane działaniu światła UV, przez 3 h z każdej strony. Takie podejście umożliwia łatwe dostosowanie modelu badawczego do wymagających nisz ekologicznych lub postępujących zmian klimatycznych.



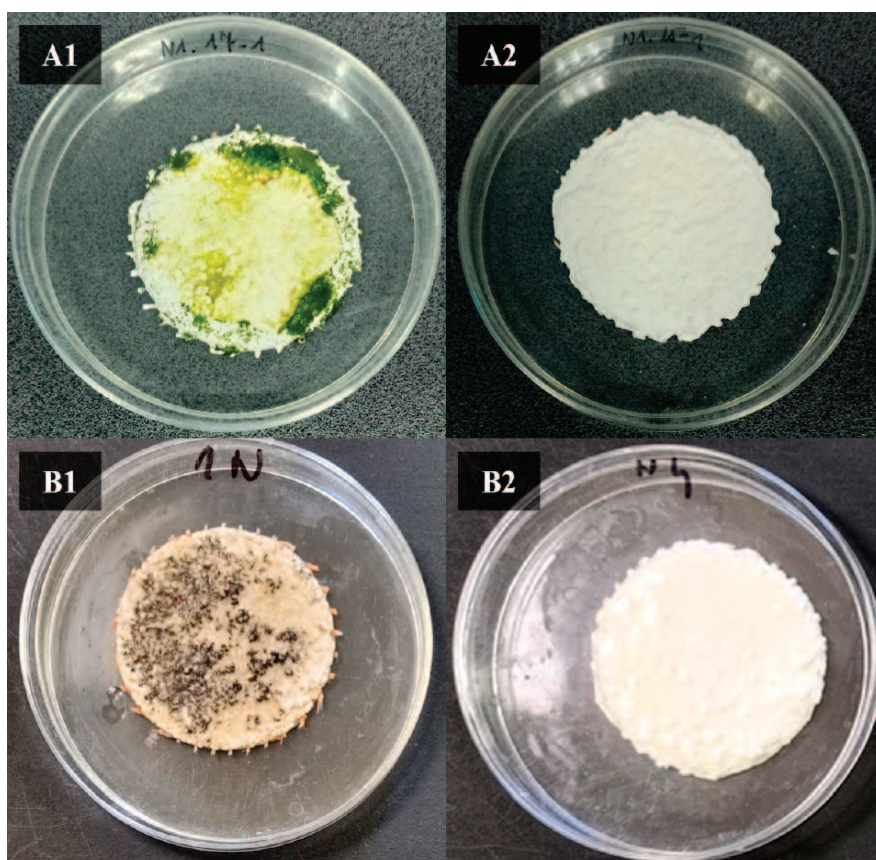
Cykl życia powłok budowlanych
Life cycle of building coatings

Gatunki pleśni i glonów wykorzystywane w procesie inokulacji zostały wybrane na podstawie analizy ilościowej i jakościowej gatunków mikroorganizmów najpowszechniej kolonizujących fasady budowlane w obszarze Europy Środkowej. Mieszaninę glonów przygotowuje się w płynnym podłożu *Bold's Basal Medium* (BBM) przez zmieszanie w równych objętościach zawiesin każdego z aktywnie rosnących szczepów *Coenochloris signiensis* (izolat środowiskowy), *Pseudochlorella signiensis* (izolat środowiskowy), *Stichococcus Bacillaris* (szczep kolekcyjny) oraz *Nostoc commune* (szczep kolekcyjny). Gęstość komórkową mieszaniny ustala się przez zliczanie komórek z użyciem hemocytometru (np. komory Thoma) i doprowadza do wartości 10^6 jtk/ml. W skład mieszaniny inokulacyjnej grzybów wchodzi gatunki pleśni *Penicillium citrinum* (izolat środowiskowy), *Cladosporium cladosporioides* (izolat środowiskowy), *Aspergillus niger* (szczep kolekcyjny), oraz drożdże *Rhodotorula mucilaginosa* (szczep kolekcyjny). Mieszaninę wykonuje się w 0,85% roztworze soli fizjologicznej z dodatkiem Tween80 (0,01% v/v). Gęstość poszczególnych zawiesin ustalana jest przez pomiar densytometryczny, a gęstość mieszaniny inokulacyjnej grzybów powinna odpowiadać 10^4 jtk/ml. Na powierzchnię każdej próbki materiału nanoszona jest pożywka agarowa rozprowadzana delikatnie, miękkim pędzlem przed jej zestaleniem (BBM w przypadku glonów oraz pożywka maltozowa w przypadku grzybów). Etap ten odzwierciedla efekt zabrudzenia powłoki, które w warunkach rzeczywistych ma duży wpływ na tempo kolonizacji. W przypadku próbek o powierzchni 20 cm^2 stosuje się ok. 1 ml półpłynnej pożywki. Przygotowane podłoże poddawane jest inokulacji przez naniesienie 1 ml wcześniej przygotowanej, dobrze wymieszanej mieszaniny. Próbki umieszcza się na szalkach Petriego i pozostawia na 24 h w celu wchłonięcia inokulum, a następnie parafilmuje i poddaje procesowi inkubacji. Dla określenia trwałości przeciwygrzybowej, próbki inkubowane są przez 21 dni w temperaturze $25 \pm 2^\circ\text{C}$ i wilgotności powietrza 50%.

Czas inkubacji glonów został wydłużony do 28 dni, przy tej samej wilgotności, temperaturze powietrza wynoszącej $22 \pm 1^\circ\text{C}$ i sztucznym oświetleniu o średnim natężeniu 1200 Lux w cyklu 16 godzin dnia i 8 godzin nocy. Parametry procesu inkubacji zostały opracowane na podstawie analizy danych literaturowych, podpartych badaniami środowiskowymi prowadzonymi na polkach doświadczalnych i długoletnich ekspozycjach [29, 35].

Po procesie inkubacji, każdy cykl kończy się oceną stopnia porośnięcia badanych materiałów. Ze względu na wysoką korelację z rzeczywistymi warunkami użytkowania oraz niską złożoność analizy, ocenę stopnia porośnięcia wykonuje się na podstawie analizy wizualnej lub oceny wizualnej wspartej technikami cyfrowej analizy obrazu. W takim podejściu, przeszkolony laborant samodzielnie lub z wykorzystaniem technik analizy obrazu (np. programów

takich jak Image J [38]) określa powierzchnię próbki, która uległa kolonizacji. W przypadku, gdy stopień porośnięcia materiału jest mniejszy niż 10%, badana próbka pozytywnie przechodzi test. Próbki są następnie ostrożnie oczyszczone z biofilmu i kierowane do kolejnego cyklu badań. Liczba cykli, w których próbka pozytywnie przeszła ocenę wizualną, odpowiada liczbie lat, przez które materiał pozostanie odporny na porastanie (fotografia). W przeciwieństwie do metod bazujących na ekstrakcji związków charakterystycznych (np. oznaczeniu stężenia chlorofilu -a), wymagających bardziej czasochłonnych procedur oraz ingerencji w badane podłoże (związanych m.in. ze sposobem poboru biofilmu, mieleniem materiału lub użyciem rozpuszczalników organicznych) [29], opisany sposób oceny pozwala na redukcję czasu analizy oraz zmniejszenie liczby próbek niezbędnych do przeprowadzenia badań.



Próbki poddane analizie odporności przeciwyglonowej (A) i przeciwygrzybowej (B) po 8 cyklach badawczych: A1, B1 – próbki nieodporne na porastanie; A2, B2 – próbki wykazujące odporność dłuższą niż 8 lat

Samples tested for anti-algal (A) and antifungal (B) resistance after 8 research cycles: A1, B1 – samples non-resistant to biofouling; A2, B2 – samples resistant to biofouling for more than 8 years

Opracowana procedura jest jedną z pierwszych, udokumentowanych technik umożliwiających określenie odporności powłok budowlanych narażonych na kolonizację mikrobiologiczną [36]. Sposób przeprowadzenia badań nie wymaga skomplikowanej, kosztownej aparatury badawczej i uwzględnia często pomijaną symulację warunków środowiskowych, których parametry łatwo można dostosować do różnych obszarów geograficznych. Analiza nie jest inwazyjna i tym samym nie wymaga nadmiernej liczby próbek. Dodatkowo, procedura bazuje na wykorzystaniu gatunków mikroorganizmów potwierdzonych badaniami bioróżnorodności i uwzględnia zarówno szczepy kolekcyjne, jak i izolaty środowiskowe. Rozwój tradycyjnych i nowoczesnych metod oceny stopnia kolonizacji materiałów oraz długotrwałej odporności przed porastaniem stwarza rzeczywisty potencjał standaryzacji procedur, korzystny z perspektywy konsumentów rozwiązań budowlanych oraz uczciwej konkurencji.

Literatura

- [1] Cutler N, Viles H. Eukaryotic microorganisms and stone biodeterioration. *Geomicrobiol. J.* DOI: 10.1080/01490451003702933.
- [2] Allsopp D, Seal KJ, Gaylarde CC. *Introduction to Biodeterioration*, 2nd ed. Cambridge: Cambridge University Press. 2004; DOI: DOI: 10.1017/CBO9780511617065.
- [3] Dergunova A, Piksaykina A, Bogatov A, Salman ADSD, Erofeev V. The economic damage from biodeterioration in building sector. *IOP Conf. Ser. Mater. Sci. Eng.* 2019; DOI: 10.1088/1757-899X/698/7/077020.
- [4] Zyska B. *Zagrożenia biologiczne w budynku*. Warszawa: Arkady, 1999.
- [5] PN-EN 15457:2022-08. *Farby i lakiery – Laboratoryjna metoda badania skuteczności w powłoce środków ochrony powłok przed grzybami*. 2022.
- [6] PN-EN 15458:2022-08. *Farby i lakiery – Laboratoryjna metoda badania skuteczności w powłoce środków ochrony powłok przed glonami*. 2022.
- [7] Wiejak A. Ocena skuteczności działania środków ochrony powłok elewacyjnych przed grzybami pleśniowymi i glonami. *Pr. Inst. Tech. Bud.* 2011; 40: 15 – 2.
- [8] Kata I, Stasica Z, Szafran K. Czynniki sprzyjające korozji mikrobiologicznej ocieplonych elewacji i sposoby jej zapobiegania. *Materiały Budowlane*. 2021; DOI: 10.15199/33.2021.01.02.
- [9] Gutarowska B, Piotrowska M, Koziróg A. *Grzyby w budynkach, Zagrożenia, ochrona, usuwanie*. Wydawnictwo Naukowe PWN, 2019.
- [10] Gutarowska B, Piotrowska M. Methods of mycological analysis in buildings. *Build. Environ.* 2007; DOI: <https://doi.org/10.1016/j.buildenv.2006.02.015>.
- [11] Lindemann V, Schleiner T, Maier U, Fels H, Cramer B, Humpf H-U. Analysis of mold and mycotoxins in naturally infested indoor building materials. *Mycotoxin Res.* 2022; DOI: 10.1007/s12550-022-00461-3.
- [12] Lewinska A, Peuhkuri R, Rode C, Andersen B, Hoof J. Rapid detection and identification of *Stachybotrys* and *Chaetomium* species using tissue PCR analysis. *J. Microbiol. Methods.* 2016; doi: 10.1016/j.mimet.2016.09.005.
- [13] Garbacz M, Malec A, Duda-Saternus S, Suchorab Z, Guz Ł, Łągód G. Methods for Early Detection of Microbiological Infestation of Buildings Based on Gas Sensor Technologies. *Chemosensors.* 2020; DOI: 10.3390/chemosensors8010007.
- [14] Szponar Band, Larsson L. Determination of microbial colonisation in water-damaged buildings using chemical marker analysis by gas chromatography – Mass spectrometry. *Indoor Air.* 2000; 10: 13 – 18.
- [15] Gutarowska B, Żakowska Z. Elaboration and application of mathematical model for estimation of mould contamination of some building materials based on ergosterol content determination. *Int. Biodeterior. Biodegradation.* 2002, DOI: [https://doi.org/10.1016/S0964-8305\(02\)00063-X](https://doi.org/10.1016/S0964-8305(02)00063-X).
- [16] Rozporządzenie Ministra Zdrowia z 11 grudnia 2020 r. zmieniające rozporządzenie w sprawie szkodliwych czynników biologicznych dla zdrowia w środowisku pracy oraz ochrony zdrowia pracowników zawodowo narażonych na te czynniki. Ministerstwo Zdrowia, 2020.
- [17] Gutarowska B, Kosmowska M, Wiszniewska M, Palczynski C, Walusiak-Skorupa J. An Investigation of Allergenic Proteins Produced by Moulds on Building Materials. *Indoor Built Environ. – INDOOR BUILT ENV.* 2012; DOI: 10.1177/1420326X11413911.
- [18] Uher B. Spatial distribution of cyanobacteria and algae from the tombstone in a historic cemetery in Bratislava. *Slovakia-Fottea.* 2008; 9: 81 – 92.
- [19] Piontek M, Lechow H, Paradowska E, Nycz M. Examination of detriogenic biofilms on building facades with scanning electron microscopy. *Civ. Environ. Eng. Reports.* 2016; 20 (1): 79 – 88.
- [20] Czerwik-Marcinkowska J, Mrozińska T. Algae and cyanobacteria in caves of the Polish Jura. *Polish Bot. J.* 2011; 56(2): 203 – 243.
- [21] Rindi F. Diversity, Distribution and Ecology of Green Algae and Cyanobacteria in Urban Habitats. 2006; DOI: 10.1007/978-1-4020-6112-7_34.
- [22] Rindi F, Guiry MD. Composition and spatial variability of terrestrial algal assemblages occurring at the bases of urban walls in Europe. *Phycologia.* 2004; DOI: 10.2216/i0031-8884-43-3-225.1.
- [23] Cheung SL, Allen DG, Short SM. Specific quantification of *Scenedesmus obliquus* and *Chlorella vulgaris* in mixed-species algal biofilms. *Bioresour. Technol.* 2020; DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.122251>.
- [24] Hallmann C, Rüdich J, Enseleit M, Friedl T, Hoppert M. Microbial diversity on a marble monument: A case study. *Environ. Earth Sci.* 2010; DOI: 10.1007/s12665-010-0772-3.
- [25] Starmach K. *Plankton roślinny wód słodkich*. Warszawa: Państwowe Wydawnictwo Naukowe, 1989.
- [26] Tang Y et al. Hybrid Xerogel Films as Novel Coatings for Antifouling and Fouling Release. *Biofouling.* 2005; DOI: 10.1080/08927010500070935.
- [27] Chaudhury M, Finlay J, Chung J, Callow M, Callow J. The influence of elastic modulus and thickness on the release of the soft-fouling green alga *Ulva linza* (syn. *Enteromorpha linza*) from poly (dimethylsiloxane) (PDMS) model networks. *Biofouling.* 2005; DOI: 10.1080/08927010500044377.
- [28] Prieto B, Silva B, Lantes O. Biofilm quantification on stone surfaces: Comparison of various methods. *Sci. Total Environ.* 2004; DOI: 10.1016/j.scitotenv.2004.05.003.
- [29] Komar M, Szulc J, Kata I, Szafran K, Gutarowska B. Development of a Method for Assessing the Resistance of Building Coatings to Photoautotrophic Biofouling. *Applied Sciences.* 2023. DOI: 10.3390/app13148009.
- [30] Eggert A, Häubner N, Klausch S, Karsten U, Schumann R. Quantification of algal biofilms colonising building materials: Chlorophyll α measured by PAM-fluorometry as a biomass parameter. *Biofouling.* 2006, DOI: 10.1080/08927010600579090.
- [31] Giakoumaki A, Philippidis A, Siozos P, Pyri I, Anglos D, Pouli P. Development of a methodology for the characterisation and assessment of biodeteriogens on archaeological surfaces by use of a portable LED-induced fluorescence instrument. *Herit. Sci.* 2022; DOI: 10.1186/s40494-022-00827-x.
- [32] Nakajima M, Hokoi S, Ogura D, Iba C. Field survey of the relationship between environmental conditions and algal growth on exterior walls. *Build. Environ.* 2020, DOI: <https://doi.org/10.1016/j.buildenv.2019.106575>.
- [33] Kukletová I, Chromková I. Testing of algae colonization growth risk on building materials. *IOP Conf. Ser. Mater. Sci. Eng.* 2018; DOI: 10.1088/1757-899X/379/1/012041.
- [34] Bloomfield NJ, Wei S, Woodham BA, Wilkinson P, Robinson AP. Automating the assessment of biofouling in images using expert agreement as a gold standard. *Sci. Rep.* 2021; DOI: 10.1038/s41598-021-81011-2.
- [35] Szulc J, Komar M, Kata I, Szafran K, Gutarowska B. Novel Method for Assessing the Protection Lifetime of Building Coatings against Fungi. *Coatings*, vol. 13, no. 12. 2023. DOI: 10.3390/coatings13122026.
- [36] Gutarowska B, Szulc J, Komar M. Sposób laboratoryjny oceny czasu trwałości zabezpieczenia przeciwgrzybowego i przeciwglonowego tynków budow. P. 444942, 2023.
- [37] European Organization for Technical Assessment (EOTA). *External Thermal Insulation Composite Systems (Etics) With Renderings – EAD 040083-00-0404*. 2020.
- [38] Schneider CA, Rasband WS, Eliceiri KW. NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. *Nat. Methods.* 2012; DOI: 10.1038/nmeth.2089.

Przyjęto do druku: 02.05.2024 r.