



**Н.Л. Ребрикова**

**РУКОВОДСТВО**  
**по диагностике микробиологических**  
**повреждений памятников искусства**  
**и культуры**

**Товарищество научных изданий КМК**

**Москва 2008**

**Ребрикова Н.Л.** Руководство по диагностике микробиологических повреждений памятников искусства и культуры. – М.: Товарищество научных изданий КМК. – 80 С.

Памятники искусства и культуры являются непростыми объектами для микробиологических исследований не только из-за ограничений в количестве и методах сбора материала. Многие из них имеют следы микробных повреждений, которые произошли давно. Микроорганизмы в составе старых повреждений могут потерять жизнеспособность, при этом внешние признаки их развития в виде пигментных пятен, различных налетов и других деструктивных изменений сохраняются, которые вызывают тревогу у хранителей коллекций и реставраторов. В этих случаях необходимо применять специальные методы диагностики, зарекомендовавшие себя в музейной и реставрационной практике, которые помогут разделить старые и произошедшие недавно повреждения, и отделить случайных контаминантов от микроорганизмов, вызвавших повреждение памятника.

В руководстве обобщен многолетний опыт работы по диагностике микробиологических повреждений памятников искусства и культуры. Большой иллюстративный материал и конкретные примеры проведения микробиологических экспертиз различных памятников помогут разобраться в представленном материале широкому кругу специалистов в области сохранения и консервации музейных ценностей.

**Издано при финансовой поддержке РФФИ, грант № 08-06-07032**

## Оглавление

Введение .....	4
1. Микроскопические методы исследования .....	10
1.1. Световая микроскопия .....	10
1.2. Электронная микроскопия .....	12
2. Посев и выделение культур .....	14
2.1. Посев в чашки Петри .....	14
2.2. Бакпечатки (метод отпечатков) .....	15
2.3. Выбор среды и условий культивирования .....	16
3. Определение количества микроорганизмов в пробе .....	18
4. Определение уровня микробной контаминации биолюминесцентным методом .....	23
4.1. Экспресс-метод микробиологического анализа .....	23
4.2. Опыт применения биолюминесцентного метода для определения численности микроорганизмов .....	24
5. Определение микроорганизмов в воздухе .....	28
6. Определение жизнеспособных пропагул грибов путем восстановления тетразолия хлорида до формазана .....	34
7. Интерпретация результатов исследования .....	36
7.1. Саадак из Оружейной палаты .....	36
7.2. Византийские пергаментные рукописи, поврежденные во время второй мировой войны .....	38
7.3. Настенная живопись собора Рождества Богородицы в Ферапонтово .....	40
7.4. Декорации Гонзаго .....	41
7.5. Перерождение свинцовых белил .....	42
7.6. Бурые пятна на бумаге и текстиле из целлюлозных волокон .....	50
Иллюстрации .....	53

## Введение

Несмотря на улучшения условий хранения в последние годы биологические обследования музейных коллекций, отдельных музейных предметов и памятников архитектуры необходимы и в наши дни. Практика показывает, что даже в фондохранилищах, оборудованных современными системами кондиционирования, могут складываться условия для роста микроскопических грибов на музейных предметах, оборудовании и на ограждающих конструкциях. Это связано с тем, что благодаря эксплуатации систем кондиционирования стало возможным в течение всего года поддерживать параметры относительной влажности, близкие к верхней границе рекомендуемого диапазона. При этом в отличие от старых хранилищ (неотапливаемых или слабо отапливаемых) в новых хранилищах с системами кондиционирования повышенный уровень влажности сочетается с более высокой температурой воздуха. Особенно хранители музейных коллекций стараются поддерживать уровень относительной влажности вблизи верхней границы допустимого диапазона в запасниках икон, рам, деревянной скульптуры, полагая, что равновесное ему влагосодержание предметов из дерева обеспечивает хорошее состояние их сохранности.

Но, если в этих условиях в хранилище или в экспозиционном зале существуют зоны с нулевой подвижностью воздуха, в которых температура экспонатов или музейного оборудования может быть ниже температуры воздуха, то даже небольшого температурного перепада может быть достаточно для образования микрорпорций конденсата на их поверхности. Застойные зоны в помещениях с принудительной циркуляцией воздуха образуются, когда стеллажи и экспонаты располагаются без учета распределения воздушных потоков, перекрывают их и мешают движению воздуха (рис.1). Между компакт – стеллажами подвижность воздуха также может быть минимальна. На гидрофобных поверхностях конденсат впитывают поверхностные загрязнения, содержащие споры грибов, которые после набухания начинают прорастать. Условия, обеспечивающие возможность развития грибов на гидрофобных поверхностях за счет поверхностных загрязнений, мо-

гут быть кратковременными. Недостаток влаги вызывает стресс у грибов, в этой ситуации они быстро переходят в стадию спороношения, образуют неокрашенные микроколонию, в составе которых при микроскопическом исследовании обычно обнаруживаются конидиеносцы, относящиеся к роду *Aspergillus*, уродливой формы и большое количество гипертрофированных конидий. Последние быстро теряют жизнеспособность. Влияние циркуляции воздуха на образование микроколоний подтверждается тем, что они чаще всего располагаются в тени движения воздуха.

Условия хранения, при которых возможен ограниченный рост грибов на музейных предметах, неблагоприятны с точки зрения сохранности экспонатов, так как даже микроколонию грибов могут выделять метаболиты, оказывающие на них воздействие. Кроме того, эти условия хранения являются пограничными с условиями, при которых происходит активное развитие микроскопических грибов. Нетипичные проявления грибов (неокрашенные микроколонию) встречаются в хранилищах, в которых относительная влажность (ОВ) и температура могут находиться в допустимом диапазоне, но при этом влагосодержание воздуха все-таки сдвинуто в сторону повышенных значений. Поэтому небольшой сдвиг в сторону увеличения влажности может привести к более серьезным повреждениям музейных предметов микроскопическими грибами.

Возрастающие требования к экологической безопасности музейной среды диктуют ограничения на применение химических препаратов для борьбы с вредными насекомыми и микроорганизмами. Часто в них содержатся и выделяются после обработки агрессивные по отношению к музейным предметам и персоналу музея вещества, причем ограничения накладываются и на ранее широко применявшиеся биоциды. Применение большинства известных физических методов антимикробной обработки (дезинфекции, стерилизации) также приводит к негативным изменениям сохранности музейных предметов. Поэтому основным направлением работы биологической лаборатории в последние годы стала превентивная консервация, совершенствование старых и применение новых методов диагностики, позволяющих предупреждать

или отслеживать на ранних стадиях возникновение биоповреждающих ситуаций.

Описание накопленного биологической лабораторией ГосНИИР опыта по диагностике микробиологических повреждений представляется необходимым еще и потому, что в последние годы был проведен ряд микологических и микробиологических экспертиз ряда редких и уникальных памятников, на основании которых делались выводы о необходимости их немедленной антимикробной обработки. На самом деле в результате проведенной диагностики были получены так называемые ложноположительные результаты. Примеры таких экспертиз будут рассмотрены в данном руководстве. Иногда на основании внешнего сходства с проявлениями развития микроорганизмов и выделения случайных контаминантов делаются выводы только о биогенной природе изменения сохранности музейных предметов, как в случае с перерождением свинцовых белил или с образованием фоксингов, хотя эти процессы могут протекать и без участия микроорганизмов (рис.2-5).

Натурные или предварительные исследования памятников включают: визуальный осмотр с целью выявления характерных признаков повреждения микроорганизмами - наличие окрашенных и неокрашенных налетов, пигментных пятен, деструктивных изменений материалов, изучение поверхности с помощью стереоскопического микроскопа (МБС-10), или портативного микроскопа (Light Scope) позволяющего наблюдать визуально незаметные микроколонии грибов и колонии актиномицетов на месте роста. Располагая портативным люминометром, биолюминесцентным методом можно оценить уровень микробной контаминации различных поверхностей непосредственно на памятнике архитектуры или в здании музея. Таким образом, уже на этой стадии натурных или предварительных исследований можно получить ценные данные, которые помогут в установлении «диагноза». Тем не менее, для заключения об участии микроорганизмов в тех иных процессах и их идентификации необходимо проведение лабораторных исследований.

Одна из проблем анализа микробиологических повреждений памятников культуры заключается в том, что необходимо получить достоверные данные, располагая, как правило, очень неболь-

шим количеством исследуемого материала. Ценность и уникальность музейных предметов жестко ограничивают размер и количество проб. Пробы, отобранные из очагов предполагаемого микробиологического повреждения, исследуют в лабораторных условиях. В хорошо оснащенных лабораториях могут проводиться исследования проб, включающие микроскопическое исследование, микробиологические посе́вы, подсчет числа КОЕ (колоний образующих единиц) на единицу площади или веса, выделение культур микроорганизмов, их идентификацию традиционными методами или с помощью ПЦР анализа.

Новые методы исследования микробных популяций на памятниках искусства и культуры, основанные на выделении и анализе ДНК, РНК или белков в исследуемом образце (молекулярные методы), стали использоваться в последние годы. Основные преимущества молекулярных методов исследования в сравнении с традиционными – это отсутствие необходимости выделения микроорганизмов в культуру и возможность быстрой и надежной идентификации. Кроме того, этими методами могут быть выявлены микроорганизмы, развивающиеся на памятниках, которые не могут быть выделены на используемые в микробиологической практике питательные среды для культивирования микроорганизмов. Для исследования наличия и биоразнообразия микроорганизмов в исследуемой пробе молекулярными методами требуется экстрагирование ДНК или РНК, амплификация ДНК, в настоящее время ПЦР наиболее используемый метод амплификации ДНК. Продукты амплификации исследуются с помощью разных методов гель-электрофореза, затем проводится секвенирование или клонирование с помощью векторов ДНК фрагментов и путем сравнения данных секвенирования с информацией, доступной из баз данных ДНК или рибосомальной РНК, можно идентифицировать виды микроорганизмов. С помощью количественного определения РНК в пробе можно судить о метаболической активности микроорганизмов.

Работы, выполненные с применением молекулярных методов, уже внесли вклад в исследование биоразнообразия микроорганизмов, развивающихся на стенописи, на скульптуре из камня и на стенах архитектурных памятников, в пещерах и гротах с росписями. Так, например, молекулярными методами были обнаружены



бактерии, относящиеся к домену археобактерий, которые никогда ранее не были известны для этих мест обитания. Более широкое проникновение новых методов исследования, вероятно, приведет к повышению качества диагностики микробных повреждений. Однако, как справедливо, отмечает ряд исследователей, для изучения микроорганизмов, развивающихся на памятниках искусства и культуры, не могут использоваться только молекулярные методы, скорее они могут дополнять и обогащать классические методы исследования.

Произведения искусства и памятники культуры являются непростыми объектами для микробиологических исследований не только из-за ограничений в количестве и методах сбора материала. Многие из них имеют следы микробных повреждений, которые произошли давно. Пропагулы грибов и клетки микроорганизмов в составе старых повреждений могут потерять жизнеспособность, при этом внешние признаки их развития сохраняются: налеты, пигментные пятна и другие, наличие которых вызывает тревогу у хранителей коллекций и реставраторов. В этом случае только сопоставление результата микроскопии и культурального исследования (посевов) помогут разделить старые и произошедшие недавно повреждения, и отделить случайных контаминантов от микроорганизмов, вызвавших повреждение памятника. Проведенные в последние годы обследования показали, что в составе колоний микроорганизмов, развившихся на музейных предметах, вследствие аварий или нарушения условий хранения, потеря пропагулами грибов жизнеспособности происходит медленно. Скорость ее зависит от глубины анабиоза, который определяется параметрами окружающей среды, от типа спор грибов (споры полового происхождения сохраняют жизнеспособность более длительное время при прочих равных условиях), физико-химических свойств материалов, на которых произошло развитие. В отличие от них в составе нетипичных колоний (микрocolоний), развившихся в условиях стресса (адсорбция загрязнителями на поверхности гидрофобных материалов микропорций конденсата, образующегося вследствие нарушения циркуляции воздуха) пропагулы грибов теряют жизнеспособность быстро (рис. 8-11). Обнаружение при обследо-

вании фондов или экспозиционных залов таких колоний свидетельствует о наличии застойных зон. В этом случае отрицательный результат посева не указывает на то, что нарушения параметров микроклимата произошли давно. Опираясь на результаты микроскопии – выявление морфологических особенностей структур грибов, характерных для формирования колоний в условиях стресса, необходимо выяснять причины, способствующие их образованию и принимать меры к их устранению. Как уже говорилось ситуация, при которой обнаруживаются нетипичные проявления развития грибов на музейных предметах, является пограничной и она легко может стать более благоприятной для их развития. Кроме того, даже микроколонии грибов могут выделять метаболиты, оказывающие негативное воздействие на состояние сохранности музейных предметов.

# 1. Микроскопические методы исследования

## 1.1. Световая микроскопия

Важным этапом микробиологического исследования является микроскопия материала, отобранного на месте наблюдаемого повреждения. Исследование препаратов, приготовленных из проб, взятых с музейных предметов, в проходящем свете называется прямой микроскопией. Этот метод позволяет выявить признаки развития колоний грибов непосредственно на исследуемом экспонате. Этими признаками является наличие мицелия, конидиеносцев, плодовых тел, скоплений конидий или спор. По совокупности морфологических признаков обнаруженных в препарате структур грибов можно в некоторых случаях идентифицировать их на уровне рода. Это очень важно, так как при посеве на питательные среды можно получить колонии грибов вследствие прорастания пропагул случайных контаминантов, присутствующих в составе поверхностных загрязнений. Морфология мицелия, конидиеносцев, плодовых тел, конидий и спор выделенных культур, не являющихся случайными контаминантами, которые присутствуют на музейных предметах в виде отдельных спор или небольших фрагментов мицелия, должна соответствовать структурам грибов, обнаруженным на месте роста методом прямой микроскопии. Посевы исследуемого материала также важны, так как позволяют судить о жизнеспособности грибных пропагул в составе налета и при определенной технике посева и правильной интерпретации результатов можно разделить колонии случайных контаминантов и колонии грибов, выросших на питательной среде из фрагментов колоний на исследуемом материале. При оценке результатов исследования необходимо сочетать ответы, полученные при микроскопии и при выделении на питательные среды. С помощью исследования препаратов в проходящем свете можно обнаружить не только мицелий и конидии микроскопических грибов, но и псевдомицелий и псевдоконидии актиномицетов и клетки других микроорганизмов, если повреждение памятника произошло вследствие их развития.

Материалом для микроскопии могут служить частицы налеты, которые предположительно возникли вследствие развития микроорганизмов, или частицы деструктированного красочного слоя, грунта, холста, бумаги, тканей, пергамента, дерева, штукатурки. Требуются небольшие, буквально едва заметные частицы исследуемого материала. Крупные частицы измельчают. Препарат для микроскопии делают по методу раздавленной капли: отобранные частицы помещают в каплю жидкости на предметном стекле и накрывают ее покровным стеклом. Приготовленный препарат изучают при разных увеличениях. Споры, конидии и мицелий микроскопических грибов плохо смачиваются водой, поэтому в препаратах они образуют скопления, в которых трудно исследовать морфологические особенности грибных структур. Для повышения качества препаратов при исследовании микроскопических грибов вместо воды используют ледяную уксусную кислоту или 85% молочную кислоту. Последняя значительно удобнее, так как не обладает резким запахом и медленно высыхает, препараты с молочной кислотой пригодны для микроскопирования в течение нескольких дней. Используют также смесь равных частей спирта, глицерина и воды.

Разница в светопреломлении структур микроскопических грибов и жидкости, в которую они помещены, невелика. В связи с этим рекомендуется изучать препарат при суженной диафрагме или использовать фазово-контрастную микроскопию. Повысить контрастность препаратов можно, окрасив клетки микроорганизмов. Для окрашивания мицелия и спор микроскопических грибов рекомендуется фуксин, феноловый синий. Хорошие результаты дает окрашивание препаратов метиленовым синим. Микроскопическая картина после окрашивания пробы с поврежденного живописного произведения метиленовым синим представлена на рис.7. При наличии люминесцентного микроскопа применяют люминесцентные красители, хитиновые клеточные стенки грибов хорошо окрашивает белый калькофлуор или акридиновый оранжевый.

Пробы из зон деструкции строительных материалов памятников архитектуры достаточно сложно исследовать в световом микроскопе, в них содержится большое количество минеральных час-

тиц, на которых часто клетки микроорганизмов адсорбированы. В таких случаях больше информации можно получить, предварительно суспендировав пробу в воде путем встряхивания ее на качалке, затем окрасить содержащиеся в полученной суспензии клетки микроорганизмов люминесцирующим красителем и исследовать препарат в люминесцентном микроскопе.

В случае потери грибами жизнеспособности в составе старых повреждений или вследствие развития в условиях стресса микроскопия становится главным средством, позволяющим установить этиологию повреждения памятника. Нетипичные колонии (микрoколонии) грибов на темперной живописи, снятые с помощью макросъемки, представлены на рисунках 6,8, в составе колоний можно различить конидиеносцы (рис.9). Микроскопическая картина материала, собранного с места развития микрoколонии, представлена обычно большим количеством крупных конидий (6-8 мкм), неокрашенным мицелием, конидиеносцами, характерными для грибов рода *Aspergillus*, с дегенеративными признаками (небольшое количество крупных стеригм на вершине конидиеносца), которые могут быть выражены в разной степени. Микроскопические клещи, питающиеся грибами, часто встречаются в пробах, отобранных в местах развития микрoколоний, что указывает на формирование специфического микробиоценоза пылевых отложений (рис.10,11).

## 1.2. Электронная микроскопия

Для изучения микробиологических повреждений произведений искусства применяется сканирующая электронная микроскопия (СЭМ). Разрешающая способность электронных микроскопов намного превосходит световые. СЭМ позволяет наблюдать в отраженном потоке электронов исследуемую поверхность с гораздо большим увеличением, чем в отраженном свете, например, с помощью стереоскопического светового микроскопа (бинокуляр МБС-10). Благодаря высокой разрешающей способности и большой глубине фокуса можно наблюдать микроорганизмы, их морфологические характеристики, стадии развития непосредственно

на поверхности объекта, а также определить в некоторых случаях характер его разрушения. Несмотря на то, что для СЭМ требуются очень небольшие пробы, иногда бывает невозможно отобрать даже их с интересующего исследователя участка. В таком случае пробы можно взять методом липких реплик. С этой целью к исследуемому участку осторожно прикасаются небольшим кусочком скотча и затем используют его для микрокопирования. Перед исследованием с помощью СЭМ необходимо изучить объект методами световой микроскопии. В соборе Рождества Богородицы Ферапонтова монастыря, в церкви Успения в Мелетово, в Рождественском соборе Боровско-Пафнунтьевского монастыря, в церкви Иоанна Предтечи в Ярославле (рис. 12-15) и в других древнерусских памятниках применение СЭМ позволило определить роль микроорганизмов в формировании маскирующих налетов на стенах.

## 2. Посев и выделение культур

### 2.1. Посев в чашки Петри

Специальной бактериологической иглой или глазным скальпелем, простерилизованными в пламени спиртовки, охлажденными и увлажненными прикосновением к поверхности среды, отбирают пробу материала и помещают его на поверхность среды в чашку Петри, разные фрагменты материала в разные сектора чашки. Бактериологической иглой удобно делать посевы в том случае, если на произведении обнаружены налеты, предположительно возникшие вследствие развития микроорганизмов. Во всех остальных случаях лучше использовать глазной скальпель, так как с его помощью можно отобрать небольшие фрагменты исследуемого материала.

При проведении посевов с произведений искусства, как правило, невозможно освободиться от поверхностных контаминантов: клеток бактерий и грибов, присутствующих в пыли и загрязнениях. С других субстратов перед выделением грибов поверхностные загрязнения удаляют. Удалить поверхностные контаминанты с музейного предмета невозможно, когда повреждение связано с развитием микроорганизмов преимущественно на поверхности, когда это не позволяет состояние его сохранности, или материалы, входящие в его состав, или есть риск, что вместе с контаминантами погибнут клетки микроорганизмов, развитие которых привело к его повреждению. Поэтому для получения более достоверных сведений делают контрольные посевы с участка музейного предмета без признаков развития микроскопических грибов или других микроорганизмов. Кроме того, количество посевов должно быть достаточным, чтобы разделить случайных контаминантов и микроорганизмы, действительно принимавшие участие в повреждении.

Опыт проведения обследований произведений искусства показывает, что лучше делать посевы в чашки Петри, чем в пробирки. В пробирках быстрорастущие колонии грибов – контаминантов, клетки которых присутствуют в пыли или воздухе, легко могут

заглушить более медленно растущие колонии микроорганизмов, развитие которых вызвало изменение состояния сохранности памятника. В чашку можно сделать больше посевов, при одновременном развитии нескольких видов микроскопических грибов и других микроорганизмов легче их разделить при последующих пересевах. На стандартную чашку Петри диаметром 90 мм или 100 мм можно сделать несколько посевов, обычно 10 или 9. По окончании культивирования учитываются только колонии микроорганизмов, развившиеся в местах инокуляции среды. Результаты посева на две, три чашки дают возможность сделать достаточно достоверное заключение о жизнеспособности грибных структур, если они были обнаружены в пробе при микроскопическом анализе. Чашки периодически просматривают, так как длительность лаг-фазы является важным признаком при оценке результатов посева. Кроме того, в начальной фазе роста легче выявить колонии случайных контаминантов. Окончательный учет выросших колоний проводится через 7-14 суток (рис.16-28).

Чашки более удобны для исследования выросших колоний микроорганизмов под микроскопом при малых увеличениях на месте роста. Некоторые структуры грибов очень хрупкие и разрушаются при приготовлении препарата для микроскопирования. Микроскопирование на месте роста позволяет при учете колоний микроорганизмов распознать дрожжи и бактерии. Для идентификации грибов делают посевы в чашки Петри. Цвет, форма и текстура колоний, скорость роста, образование пигментов и экссудата являются важными классифицирующими признаками, их удобнее наблюдать и оценивать при росте колонии в чашках Петри. Хранить выделенные культуры микроорганизмов лучше в пробирках, так как среда в чашках быстро высыхает и контаминанты в чашки проникают легче, чем в пробирки.

## 2.2. Бакпечатки (метод отпечатков)

Пробы с поверхности произведений искусства можно брать также с помощью бакпечаток, которая представляет собой специальный контейнер цилиндрической формы, однократного применения. В крышке бакпечатки имеется особое углубление, которое



заполняется плотной питательной средой. Поверхностью питательной среды, площадью  $\sim 4 \text{ см}^2$  прикасаются к поверхности обследуемого объекта, затем крышку со средой помещают обратно в контейнер. Бакпечатки периодически просматривают, начиная с третьих суток, окончательный учет количества колоний микроорганизмов проводят через 7-14 суток. В случае исследования плотных микробных популяций на среде в бакпечатке колонии микроорганизмов сливаются, и их невозможно подсчитать. Другой недостаток бакпечатки – одна колония быстро растущего гриба может быстро занять всю поверхность среды и препятствовать развитию колоний других микроорганизмов, присутствующих на памятнике. В отличие от чашек Петри колонии микроорганизмов, выросшие на среде в бакпечатке, невозможно исследовать при малых увеличениях в проходящем свете (рис. 29-32).

Метод отпечатков особенно пригоден в случаях, когда уровень микробной контаминации поверхностей не слишком большой и для контроля эффективности антимикробных обработок.

### 2.3. Выбор среды и условий культивирования

Для посева и выделения в культуру микроскопических грибов с предметов, находящихся в условиях музейного хранения, используют стандартную среду Чапека, которая обеспечивает рост большинства грибов и неблагоприятна для роста бактерий. При выделении на среду Чапека обнаруживаются важные признаки, используемые при идентификации грибов. Так, например, она способствует образованию внеклеточных пигментов у грибов. Если при микроскопировании материала, отобранного с поврежденных музейных предметов, обнаружены клетки актиномицетов или других бактерий, то посева проводят на среды, которые благоприятны для их развития. В биологической лаборатории ГосНИИР много лет используется параллельно со средой Чапека среда Чапека с крахмалом. Она близка по составу к среде Гаузе, имеет слабощелочное значение (рН 7,4). На этой среде хорошо развиваются актиномицеты, зубактерии и микроскопические грибы. Для посевов проб белого камня, штукатурных и кладочных растворов, кирпича

всегда используются две среды. Ранее дополнительно к перечисленным использовали еще среду Сабуро для определения минимальных ингибирующих концентраций биоцидов в жидкой среде и для определения микроорганизмов в воздухе, а также среду сусло-агар, но в последнее время они реже используются.

Посевы инкубируют при комнатной температуре, чтобы быстро растущие при температуре выше комнатной грибы не помешали развитию колоний мезофиллов и психрофилов (умеренных и холодолюбивых). Посевы проб, отобранных в неотопливаемых или с ограниченным подогревом памятниках архитектуры, помещают в прохладное помещение, если его нет на подоконник. Психрофилы, которые доминируют в неотопливаемых или слабо отапливаемых помещениях или в отапливаемых помещениях на строительных материалах с температурой значительно более низкой, чем температура воздуха, отличаются пониженной скоростью роста. При температуре, рекомендованной для инкубации микробиологических посевов, быстро растущие микроорганизмы, которые могут присутствовать в пробах как случайные контаминанты в составе загрязнений, мешают развитию психрофильных форм.

### 3. Определение количества микроорганизмов в пробе

Количественный учет жизнеспособных клеток микроорганизмов проводится методом серийных разведений, который заключается в подсчете колоний, выросших на питательных средах в чашках Петри после засева их небольшим объемом суспензии из разведений пробы. Таким образом, определяется количество колоний образующих единиц (КОЕ) на грамм пробы или на квадратный сантиметр поверхности, или как было принято ранее называть микробное число исследуемого субстрата или исследуемой поверхности. При этом условно допускается, что каждая колония образовалась из одной споры, одного фрагмента мицелия, одной дрожжевой или бактериальной клетки. Для проведения количественного учета требуется либо определенная навеска исследуемого материала или материал, снятый с определенной площади поверхности с помощью стерильных увлажненных тампонов (метод смыва), поэтому этот метод анализа применим в основном для строительных материалов памятников архитектуры и в некоторых случаях для настенной живописи.

Микробное число не отражает истинную картину количества микроорганизмов на единицу веса или единицу площади поверхности. При выращивании на искусственных питательных средах трудно создать условия для роста всех микроорганизмов, которые могут находиться в пробе. Микроорганизмы разных групп требуют различных питательных веществ, уровня аэрации, рН, температуры и др. Но для определения численности микроорганизмов, наиболее значимых с точки зрения возможности биоповреждения памятников, достаточно использовать небольшое количество сред. При одинаковых условиях культивирования результаты посевов достаточно постоянны и надежны.

Пробы материала (около 0,1-0,5 г), отобранного для количественного определения уровня контаминации их клетками гетеротрофных микроорганизмов с соблюдением правил асептики, взвешивают, растирают в фарфоровой ступке, затем переносят в колбы со 100 мл стерильной водопроводной воды, в которую до-

бавлен Твин 80. Колбы помещают на качалку и встряхивают в течение часа. Небольшим объемом (0,2 мл) исходной и разведенной суспензии\* засевают поверхность плотной питательной среды в чашках Петри, распределяя его по всей поверхности шпателем. Или 0,2 мл исходной или разведенной суспензии переносят в стерильную чашку Петри и заливают расплавленной, а затем охлажденной до 37° С агаровой средой, жидкую среду и суспензию перемешивают. Чашки периодически просматривают, начиная с 3-х суток, окончательный учет числа выросших колоний проводят через 7-14 суток. По описанной методике можно определить степень контаминации микроорганизмами (число КОЕ на грамм пробы) строительных материалов.

Выбор сред и температуры культивирования такой же, как и при посевах в чашки Петри и методом отпечатка, с той лишь разницей, что для строительных материалов, памятников из камня, настенной живописи – субстратов слабощелочного характера – всегда помимо Чапека используется среда Чапека с крахмалом.

Можно использовать модификацию метода определения количества микроорганизмов на грамм пробы (метод прямого посева пробы\*\*). В этом случае пробу не суспендируют в воде, ее суспендируют прямо в питательной среде, в которой будут развиваться микроорганизмы. Метод дает хорошие результаты, если уровень контаминации микроорганизмами материалов не чрезмерно высокий. Небольшое количество пробы в виде порошка (5-10 мг), предварительно пробу растирают в ступке с соблюдением правил асептики, смешивают с каплей стерильной воды на дне стерильной чашки Петри. В эту же чашку добавляют 15-20 мл охлажденной (до 37° С) агаризированной питательной среды. Частицы строительных материалов равномерно распределяют по всей поверхности легким вращением чашки (рис. 33-36).

---

\* В зависимости от степени контаминации можно сделать одно, два разведения, 1мл исходной суспензии переносят в пробирку с 9 мл стерильной водопроводной воды, затем 1мл из этой пробирки в следующую пробирку с 9 мл воды.

\*\* Методы экспериментальной микологии. Справочник. Киев «Наукова думка», 1982, с.434.

Для определения степени микробной контаминации стенописи небольшим стерильным ватным тампоном, слегка увлажненным, осторожно снимают налет с небольшого участка определенной площади. Для этого можно использовать шаблон с квадратным отверстием 1,5×1,5 см. Тампон затем помещают в колбу со стерильной водой, и встряхивают на качалке. Небольшим объемом исходной и разведенной суспензии засевают чашки Петри с питательными средами. Засеянные чашки инкубируют в условиях прохладного помещения, чтобы быстро растущие микроорганизмы, которые могут присутствовать в пробах как случайные контаминанты, не мешали развитию психрофильных форм. Посчитывают выросшие колонии и определяют КОЕ на 1 см<sup>2</sup> поверхности. Отдельные колонии микроорганизмов отсеивают на чашки и пробирки и, используя соответствующие руководства, проводят определения видового состава выделенных микроорганизмов. Идентификация видового состава позволяет отслеживать смену доминирующих форм микроорганизмов.

При любом варианте количественного учета микроорганизмов чашки, на которых выросли единственные колонии, во внимание не принимаются, так как они могут дать существенную ошибку при последующих расчетах численности на грамм пробы или единицу поверхности.

Во многих случаях зоны деструкции строительных материалов в памятниках архитектуры и в зданиях музеев не имеют признаков развития микроскопических грибов и других микроорганизмов (рис. 37, 38, 40). Прямое микроскопическое исследование проб строительных материалов затруднено присутствием в препаратах большого количества посторонних частиц. Тогда основным критерием наличия очагов развития микроскопических грибов и других микроорганизмов становятся результаты количественного учета микроорганизмов в пробе (рис. 39, 41-44).

Обследование большого количества памятников архитектуры и зданий музеев, проведенные в течение ряда лет, показали, что в помещениях численность колоний образующих единиц (КОЕ) или пропагул (синоним КОЕ для грибов) в контрольных пробах (строительные материалы без признаков каких-либо деструктивных из-

менений) не превышает  $1,0 \cdot 10^4$  на грамм пробы, но обычно оно порядка  $10^2$  или даже меньше. Если много поверхностных загрязнений, то КОЕ контроля может быть порядка в  $10^3$  и даже выше.

Численность грибов  $> 10^4$  на грамм пробы строительных или отделочных материалов, отобранных в помещении, превышает фоновые значения и позволяет предполагать наличие очагов их развития. Всегда, когда речь идет о допустимых уровнях надо иметь в виду, что они могут сдвигаться в силу определенных обстоятельств. Фоновый уровень для фасадных стен может быть выше. В центре Москвы (Ипатьевский пер.) в начале сентября на контрольном участке фасадной стены без признаков повреждения был определен высокий уровень численности грибов – КОЕ в грамме материала, учет на среде Чапека –  $1,1 \cdot 10^4$ , на среде Чапека с крахмалом –  $1,3 \cdot 10^4$ . Такой высокий уровень контаминации поверхности стены спорами грибов можно объяснить сезонными колебаниями численности грибов, количество которых в воздухе возрастает в конце лета\*, а из воздуха они оседают на стены. Структура поверхности также оказывает влияние на количество адсорбированных спор, в данном случае она была шероховатой.

Как в случае высокой численности грибов, так и низкой имеет значение видовой состав, наличие грибов, характерных для зон деструкции материалов, а не только грибов, постоянно встречающихся в составе пылевых отложений или как в случае фасадных стен – аэрофильных видов, а также насколько выражено доминирование отдельных форм. Наличие актиномицетов свидетельствует о том, что в местах отбора проб происходит развитие микроорганизмов, в отличие от грибов и других зубактерий актиномицеты редко встречаются в контрольных пробах, если обнаруживаются, то в небольших количествах.

На контрольном участке фасадной стены дома по Ипатьевскому переулку были обнаружены виды родов *Cladosporium*, *Phoma*, *Alternaria* и *Mycelia sterilia*, которые являются типичными представителями филлопланы и оседают на поверхность стен из воз-

---

\* Еланский С.Н. Мониторинг грибных спор в атмосфере Москвы. <http://www.shortway.to/spora>

духа. В зонах деструкции строительных материалов на той же стене они также присутствовали, но в меньших количествах, хотя общая численность грибов была выше (КОЕ от  $1,9 \cdot 10^4$  до  $8,8 \cdot 10^4$  на среде Чапека, от  $2,4 \cdot 10^4$  до  $6,4 \cdot 10^4$  на среде Чапека с крахмалом). В пробах разрушенных материалов были обнаружены грибы-миккофилы (грибы, использующие в качестве субстрата другие грибы) – виды родов *Sporotrichum*, *Scopulariopsis*, *Acremonium*, а также актиномицеты (КОЕ от  $8,0 \cdot 10^3$  до  $1,8 \cdot 10^4$ ), которых не было в контрольной пробе. Грибы-миккофилы и актиномицеты характерны для поздних этапов микробных сукцессий. Их присутствие указывает на то, что в местах, в которых они обнаружены, происходит или произошло развитие микробных сообществ, выражающееся в смене одних форм микроорганизмов другими.

Характерными для микобиоты деструктированного белого камня, штукатурных и кладочных растворов, являются виды рода *Sporotrichum* [часто встречается *Tritirachium*(=*Sporotrichum*) *album*, *S. roseum*], *Acremonium*, в том числе *A. murorum*, *Verticillium*, *Scopulariopsis*, *Aspergillus versicolor*, *Cladosporium*, *Penicillium*. В зонах конденсационного увлажнения чаще других выделяются психрофильные формы темноокрашенных грибов виды рода *Cladosporium*, *Ulocladium*, *Aureobasidium pullulans*, так называемые грибы сажистой плесени (рис. 22-25).

## **4. Определение уровня микробной контаминации биолюминесцентным методом**

### **4.1. Экспресс-метод микробиологического анализа**

Выделение микромицетов и других микроорганизмов с исследуемого субстрата на питательные среды требует много труда (приготовление сред, посев) и времени, необходимого для роста колоний и их последующего учета. Кроме того, питательные среды и условия культивирования не могут быть универсальными для всех исследуемых микромицетов. Определить жизнеспособные клетки микроорганизмов и оценить их количество можно по содержанию АТФ (аденозинтрифосфата) в пробе. АТФ присутствует во всех живых клетках. Если в исследуемом материале нет клеток животных или растений, наличие АТФ является индикатором микробной контаминации. Метод измерения АТФ основан на явлении биолюминесценции, когда энергия, высвобождающаяся в ходе химической реакции преобразуется в световую. Этот метод не позволяет определить видовой состав микромицетов, отследить смену доминирующих форм, но он экспрессен и дает ценный дополнительный материал для результатов микробиологического анализа.

В молекуле АТФ есть две макроэргические связи, в ходе ферментативной окислительно-восстановительной реакции, инициируемой люциферин-люциферазным комплексом, при отщеплении остатков фосфорной кислоты освобождается энергия. Эта энергия используется для возбуждения молекул люциферин-люциферазного комплекса, последующее возвращение молекул в стабильное состояние сопровождается излучением в видимой области спектра. Световую эмиссию можно измерить фотометрически люминометром в относительных световых единицах. Яркость свечения зависит от концентрации вступающих в реакцию молекул.

Контроль уровня микробной контаминации по содержанию внутриклеточного АТФ в пробах позволяет сократить время, необходимое для проведения мониторинга количества микроорганизмов, увеличить количество тестируемых участков. Он может быть



пригоден для оценки эффективности мер, направленных на защиту памятников от разрушения микроорганизмами

#### 4.2. Опыт применения биолюминесцентного метода для определения численности микроорганизмов

Для определения АТФ были использованы микролюминометр (модель 3560) фирмы New Horizons Diagnostic Corporation и набор реактивов «Люмтек» для определения биологической чистоты (наличие микробных клеток) поверхностей с высоким уровнем контаминации микроорганизмами (без подрачивания) биолюминесцентным методом (рис.45).

Стерильным тампоном снимали налет с участка поверхности стенописи, белого камня или кирпичной кладки площадью 1,5х1,5 см, ограниченного шаблоном. Затем тампон погружали в пробирку с 0,2 мл раствора для разрушения микробных клеток, выдерживали в течение 2-3 мин, периодически вращая, после чего 0,02 мл раствора образца, содержащего разрушенные микробные клетки, переносили в микрокювету, в которую добавляли 0,05 мл раствора АТФ-реагента и 0,05 мл раствора для реконструкции АТФ-реагента, быстро перемешивали содержимое и измеряли биолюминесцентный сигнал ( $I_{обр}$ ). Во вторую микрокювету также вносили 0,02 мл образца и вышеупомянутые реагенты. В каждом случае путем нескольких измерений фиксировали максимальное значение сигнала, затем по результатам, полученным для каждой кюветы, находили среднее значение биолюминесцентного сигнала для исследуемого образца. Калибровку АТФ-реагента по АТФ-контролю проводили следующим образом. В стерильную пробирку вносили 0,2 мл раствора для разрушения микробных клеток. Стерильный ватный тампон погружали в раствор АТФ-контроля, имеющего концентрацию АТФ 10 пикомоль/мл. Затем его переносили в пробирку с раствором для разрушения микробных клеток, из которой 0,02 мл отбирали в микрокювету, в которую добавляли 0,05 мл АТФ-реагента и 0,05 мл раствора для реконструкции АТФ-реагента, для измерения сигнала ( $I_{контр}$ ). Количество АТФ на 2,25 см<sup>2</sup> поверхности рассчитывали по формуле:  $[АТФ, \text{пикомоль/мл}]_{обр} = 2,5 \times (I_{обр}) : (I_{контр})$ , [пикомоль/мл].

**Таблица 1.** Количество колониеобразующих единиц (КОЕ) микроорганизмов на стенописи Софийского собора г. Вологды (май 2006 г.)

Участки отбора проб	[АТФ, пикомоль/мл] обр	Количество КОЕ на 2,25 см <sup>2</sup> поверхности
2. Северная сторона северо-восточного столба, разгранка, 170 см от уровня пола	108	$2,2 \cdot 10^4$
2а. Там же, ближе к краю столба. Белый налет в виде отдельных точек	35,5	$7,1 \cdot 10^3$
3. Западная стена четверика, середина между западным выходом и северо-западным углом, разгранка, 180 см от уровня пола	2,8	$5,6 \cdot 10^2$
4. Северная стена дьяконника, одежда святого красно-коричневого цвета, 170 см от уровня пола.	15,8	$3,2 \cdot 10^3$
5. Середина северной стены четверика, разгранка, 180 см от уровня пола	14,1	$2,8 \cdot 10^3$
6. Середина южной стены четверика, разгранка, 180-190 см от уровня пола	6,8	$1,4 \cdot 10^3$
7. Южная стена дьяконника, одежда святого красно-коричневого цвета, 170 см от уровня пола	10,0	$2,0 \cdot 10^3$
7а. Там же, 120 см от уровня пола	62,7	$1,2 \cdot 10^4$
8. Южная стена центральной апсиды, вторая фигура Святителя, красно-коричневая орнаментальная полоса, 150-160 см от уровня пола	425	$8,5 \cdot 10^4$
9. Северная стена центральной апсиды, третья от входа в жертвенник фигура Святителя, красно-коричневый участок одежды, 150-160 см от уровня пола	474	$9,5 \cdot 10^4$
10 Восточный свод арки между жертвенником и центральной частью алтаря	4,1	$8,2 \cdot 10^2$

Количество АТФ пропорционально количеству живых клеток микроорганизмов, присутствующих на поверхности, с которой была взята проба (рис. 46,47). Результаты определения численности микробных клеток на стенописи Софийского собора г. Вологды биолюминесцентным методом представлены в таблице 1.

Пробы за редким исключением были отобраны на одинаковой высоте примерно 170-180 см от уровня пола с участков красочного слоя, написанных с использованием красно-коричневого пигмента. Микроклимат в соборе до начала проведения исследований был благоприятен для развития микроорганизмов на стенописи и иконостасе. Настенные росписи особенно в нижних ярусах были покрыты белесым маскирующим налетом (рис. 29). В целом численность микроорганизмов на стенописи, определенная билюминесцентным методом была высокая, особенно в алтарной части и на северо-восточном столбе, что совпадало с данными ранее проведенных микробиологических исследований традиционными методами. Различия в численности микроорганизмов в пределах одной плоскости на одной высоте – разгранка северо-восточного столба (пробы 2 и 2а) связана с разной степенью засоленности участков стенописи.

В Подземной палате Архангельского собора Московского Кремля в мае 2006 года одновременно с отборами проб для определения содержания АТФ в тех же местах отбирали пробы с помощью стерильных тампонов с участка такого же размера для посевов методом серийных разведений (метод Коха). Результаты определения микробных клеток на саркофагах, закладных плитах из белого камня и кирпичной кладке билюминесцентным методом и методом серийных разведений представлены в таблице 2.

Ранее проведенные исследования в Подземной палате показали, что из-за неравномерной плотности популяций микроорганизмов на поверхности камня и кладки могут быть различия в численности между разными участками одной и той же тестируемой поверхности. В целом между данными об уровне контаминации поверхности микроорганизмами, рассчитанными на основании количества АТФ в пробе, и данными, полученными методом смыва и посева проб, существует взаимозависимость. Максимальные уровни и тем и другим методом были зафиксированы для кладки арки и закладной плиты 2. Спустя две недели в пробах с постоянно тестируемых поверхностей (закладная плита 1, саркофаг и кирпичная кладка) было определено более низкое содержание АТФ. Результаты чашечного анализа также выявили снижение численности микроорганизмов на этих участках.

**Таблица 2.** Количество колониеобразующих единиц (КОЕ) микроорганизмов на саркофагах, плитах и строительных материалах в Подземной палате (май 2006 г.)

№ пробы	[АТФ, пикомоль/мл ] <sub>обр</sub>		Количество КОЕ на 2,25 см <sup>2</sup> поверхности по данным анализа АТФ		Количество КОЕ на 2,25 см <sup>2</sup> поверхности, метод серийных разведений			
	11.05	30.05	11.05	30.05	11.05		30.05	
					Ч	Ч/К	Ч	Ч/К
К <sub>1</sub>	0,23	0,05	46	10	-	-	<100	1,0·10 <sup>2</sup>
К <sub>2</sub>	0,26	0,14	51	28	-	-	-	-
кирпич	0,25	-	49	-	-	-	-	-
Закл. пл. 1								
1.	8,3	7,9	1,7·10 <sup>3</sup>	1,6·10 <sup>3</sup>	9,9·10 <sup>3</sup>	5,9·10 <sup>4</sup>	7,6·10 <sup>3</sup>	1,4·10 <sup>4</sup>
2.	9,3	8,9	1,9·10 <sup>3</sup>	1,8·10 <sup>3</sup>	1,2·10 <sup>4</sup>	1,3·10 <sup>4</sup>	-	-
Саркофаг								
3.	16,7	7,9	3,3·10 <sup>3</sup>	1,6·10 <sup>3</sup>	5,8·10 <sup>3</sup>	2,5·10 <sup>4</sup>	5,0·10 <sup>2</sup>	1,6·10 <sup>3</sup>
4.	19,2	7,5	3,8·10 <sup>3</sup>	1,5·10 <sup>3</sup>	1,9·10 <sup>3</sup>	2,7·10 <sup>4</sup>	-	-
Арка								
5.	33,4	-	6,7·10 <sup>3</sup>	-	-	-	-	-
6.	54,1	7,9	1,1·10 <sup>4</sup>	1,6·10 <sup>3</sup>	5,3·10 <sup>4</sup>	4,6·10 <sup>5</sup>	3,7·10 <sup>3</sup>	6,4·10 <sup>4</sup>
Закл. пл. 2								
7.	22,6	23,9	4,5·10 <sup>3</sup>	4,8·10 <sup>3</sup>	-	-	2,0·10 <sup>2</sup>	1,5·10 <sup>5</sup>
8.		25,5		5,1·10 <sup>3</sup>				

*К* – контроль, смыв со стены без признаков развития микроорганизмов, лестница из собора в Подземную палату; кирпич – новый кирпич для реставрационных работ.

Хорошая сходимость значений уровня микробной контаминации, полученных разными методами, была определена для контрольных участков. Более низкая численность микроорганизмов, рассчитанная путем измерения концентрации АТФ, может быть связана с тем, что при посеве проб, полученных путем смыва, на чашках начинают развиваться жизнеспособные клетки, которые на субстрате могли находиться в состоянии покоя и поэтому иметь более низкое содержание АТФ в сравнении с метаболически активными клетками.

## 5. Определение микроорганизмов в воздухе

Воздух является неблагоприятной средой для развития микроорганизмов, несмотря на это они присутствуют в нем постоянно, попадая в него вместе с пылью и с различными выделениями живых существ. В воздухе обнаруживают не образующие спор и спорообразующие бактерии, конидии, споры, фрагменты мицелия грибов, а также клетки дрожжей. Из воздуха было выделено и определено множество различных видов микроорганизмов. Среди микроорганизмов, постоянно присутствующих в наружном воздухе, преобладают пигментированные формы. Это связано с тем, что они более устойчивы к воздействию солнечной инсоляции.

Обычно количество микроорганизмов в воздухе внутри зданий выше, чем в воздухе открытых мест. В воздухе закрытых помещений присутствуют микроорганизмы, попадающие в них вместе с наружным воздухом. В зависимости от сезона года, уровня запыленности, микроклиматических условий, наличия зараженных микроорганизмами экспонатов и очагов биоповреждений на стенах и музейном оборудовании, количества присутствующих людей и характера их деятельности, уровня воздухообмена, наличия или отсутствия системы кондиционирования в воздухе внутри зданий накапливаются или исчезают те или иные группы микроорганизмов. При проведении микробиологического анализа воздуха надо учитывать действие всех этих факторов, если нельзя исключить их влияния надо стремиться к тому, чтобы во время проведения исследования их воздействие было примерно одинаковым. Если учтены все факторы, влияющие на колебания численности микроорганизмов в воздухе, результаты микробиологического анализа воздуха помогают выявить в помещении зоны с пониженной циркуляцией воздуха, указывают на наличие очагов биоповреждений на музейных предметах, на стенах и других ограждающих конструкциях в фондохранилищах.

Количество пропагул (споры или фрагменты мицелия) микроскопических грибов в воздухе является одним из показателей экологического состояния помещения, предназначенного для хранения памятников искусства и культуры. По данным аэромикробио-

логических исследований в экологически благополучных музейных и библиотечных хранилищах количество колоний, развившихся из спор грибов, осевших в течение часа на поверхность питательной среды в чашке Петри диаметром 100 мм, не превышает  $10^4$ . В пересчете по формуле Омелянского микробное число (количество микроорганизмов в  $1 \text{ м}^3$ ) для микромицетов в этом случае будет равно 212. Общее количество микроорганизмов (грибов и бактерий) в  $1 \text{ м}^3$  воздуха в музеях не должно превышать 500.

Уровень – не более 10 колоний на чашку (диаметром 100 мм) при экспозиции в течение часа был определен для хранилищ, необорудованных системами кондиционирования, предусматривающими фильтрацию поступающего воздуха. В хранилищах, оборудованных такими системами, экологически безопасный уровень содержания спор грибов в воздухе значительно ниже. Так, например, в помещениях ГТГ и Эрмитажа\*\* с кондиционированием воздуха средние значения очень низкие – содержание спор грибов,  $< 1$  колонии на чашку. За исключением случаев, когда есть источники загрязнения воздуха. Помимо развития колоний грибов на экспонатах, музейном оборудовании и ограждающих конструкциях возможно повреждение грибами воздушных фильтров, как в системе кондиционирования, так и в локальных приборах, например увлажнителях воздуха, используемых в качестве доводчиков при централизованной системе кондиционирования.

В запаснике деревянной скульптуры ГТГ, в котором отмечалось развитие микроколоний грибов рода *Aspergillus* на отдельных экспонатах и оборудовании, а также колоний преимущественно темноокрашенных грибов, на оконных рамах среднее значение количества грибов в воздухе было выше, чем в других запасниках и составляло 1,2 колонии на чашку. Подавляющее большинство всех

---

\* Н.В. Мантуровская, Т.П. Сизова, В.М. Сараева Микробиологическое исследование состояния воздуха в хранилищах документов, «Обеспечение сохранности документов», ВНИИДАТ, Экспресс-информация, М., 1988, №1(48), с.7-11.

\*\* О.Л. Смоляницкая Видовой состав микромицетов в некоторых экспозиционных залах и хранилищах Государственного Эрмитажа, «Микология и фитопатология», т.38, в.4, 2004, с.51-58.

выделенных грибов было представлено колониями *Aspergillus versicolor*, удельное обилие – 83%. Из воздуха не было выделено видов рода *Ulocladium*, *Cladosporium*, *Aureobasidium pullulans*, колонии которых развивались на оконных переплетах в результате конденсационного увлажнения. Возможно, это связано с системой воздухообмена, экранирующей окна, кроме того, во время проведения обследования колонии на рамах были влажными, что уменьшает возможность распространения спор в воздушной среде. В целом в хранилищах с системами фильтрации воздуха даже в экологически неблагоприятной ситуации численность грибов была ниже, чем в хранилищах, необорудованных системами кондиционирования.

Отбор проб воздуха производится либо путем осаждения микробных аэрозолей под влиянием гравитационных сил (метод седиментации, чашечный метод Коха), осаждение микробных аэрозолей с помощью дополнительной кинетической энергии на поверхность чашек Петри (прибор Кротова, ПБУ-1), либо фильтрацией воздуха через мембранные фильтры (приборы фирмы Сартorius), которые используют для посева.

Чашечный метод Коха основан на спонтанном оседании (седиментации) пылинок или капелек, несущих микроорганизмы, из воздуха. Чашки Петри с питательными средами (среда Чапека, среда Сабуро, среда Чапека с крахмалом) открывают и экспонируют на горизонтальных поверхностях на разном расстоянии от пола в течение часа. Затем чашки закрывают и инкубируют при комнатной температуре. Чашки периодически просматривают, начиная с третьих суток, окончательный учет выросших колоний проводят через 10–12 суток. Несмотря на ряд недостатков и при одном сроке экспозиции чашек на одном и том же удалении от пола он может быть использован для получения сравнимых данных по микробному загрязнению воздуха\*. Исходя из количества колоний микроорганизмов, выросших на чашке, можно определить количество микроорганизмов в 1 м<sup>3</sup> воздуха. Было показано, что на площадь

---

\* И.М. Вольпе, В.Д. Кучеренко *Практическое руководство по санитарной микробиологии*, изд-во МГУ, 1970, с.59,60.

100 см<sup>2</sup> оседает за 5 минут приблизительно столько микробов, сколько их содержится в 3 литрах воздуха. Отбор проб воздуха с помощью фильтрации воздуха, при наличии соответствующего прибора, более точен и удобен.

Проведенные нами исследования показали, что чашечным (седиментационным) методом можно определить в одном и том же помещении зоны, отличающиеся по численности микроорганизмов от основного объема, так называемые застойные зоны. Мониторинг воздушной среды в соборе Рождества Богородицы Ферапонтова монастыря позволил выявить зоны с пониженной скоростью воздухообмена, а анализ микробиоты воздуха установить, что значительная часть пропагул грибов и клеток микроорганизмов попадает в него вместе с наружным воздухом. Оседая на поверхности живописи, некоторые из них служат пищевым ресурсом для микроколоний актиномицетов и микофильных грибов при наличии условий для развития микроорганизмов.

Анализ воздуха в Подземной палате Архангельского собора Московского Кремля дал возможность определить, какое количество чашек следует размещать в каждой зоне, какова сходимость результатов, можно ли с помощью чашечного метода выявить незначительные колебания численности микроорганизмов. Пространство палаты в соответствии с ее архитектурными особенностями было условно разделено на пять зон, четыре зоны в Большой палате и одна в Малой. Последняя в некоторой степени изолирована от Большой палаты, поскольку она сообщается с ней через тамбур первоначальной лестницы. Для микробиологического анализа воздуха в зонах 1-3 размещалось 10 чашек со средой Чапека и 10 чашек со средой Чапека с крахмалом, в зонах 4 и 5 по 5 чашек с каждой средой. Определение численности микроорганизмов в воздухе показало, что сходимость результатов хорошая (табл.3 рис. 48-50). Статистический анализ рядов значений не выявил выскакивающих вариантов. Проведенные исследования показали, что достоверные результаты можно получить, используя 5 повторностей опыта. Чувствительность метода также оказалась высокой. Он позволил определить зональные различия количества микроорганизмов в воздухе. Они связаны с различиями микро-



**Таблица 3.** Содержание микроорганизмов в воздухе  
Подземной палаты

Зоны	Количество колоний микромицетов, выделенных седиментационным методом, диаметр чашки Петри 100 мм, экспозиция 1 час					
	Среда Чапека			Среда Чапека с крахмалом		
	Грибы	Общее количество	Грибы, %	Грибы	Общее количество	Грибы, %
1	46,7±4,2	47,0±4,2	99	49,7±4,9	61,3±6,2	81
2	46,7±6,8	47,1±7,1	99	53,1±6,2	60,1±6,8	88
3	102,0±12,3	110,4±21,1	92	119,2±13,3	138,4±13,3	86
4	52,7±7,1	53,0±6,5	99	60,5±6,2	79,5±9,8	76
5	39,1±7,1	39,1±7,1	100	44,0±4,1	76,0±8,9	58

климатических параметров, которые обусловлены архитектурными особенностями Подземной палаты, что приводит к недостаточной циркуляции воздуха в определенных зонах.

Численность микроорганизмов в воздухе Подземной палаты была очень высокой и превышала в 4-5 раз допустимые значения для музейных помещений. Такое высокое микробное число воздуха объясняется развитием колоний микроорганизмов на памятниках из камня и строительных материалах, вследствие постоянно высоких значений влажности воздуха. Подавляющее большинство колоний микроорганизмов не только на среде Чапека, но и на среде Чапека с крахмалом, было представлено микромицетами. Самая высокая численность микроорганизмов в воздухе была в Малой палате, в которой температура была на 3° С ниже, а влажность воздуха выше, чем в Большой палате. Количество микроорганизмов в воздухе Малой палаты (зона 3) было более, чем в два раза выше, чем в Большой (зоны 1, 2, 3, 4, 5) (рис. 49,50).

В Большой палате численность микромицетов была почти одинаковой во всех зонах. Только в четвертой зоне, расположенной под арочным сводом в нише численность микромицетов была немного выше, чем в других зонах. Различия в микроклиматических параметрах между четвертой и первой зонами вследствие

худшей циркуляции воздуха в нише не столь значительны, как между зонами 1 и 3. С помощью чашечного метода микробиологического анализа воздуха удалось выявить небольшие различия в численности микроорганизмов между четвертой и первой зонами. Таким образом, этот метод при правильном использовании позволяет определять даже незначительные изменения численности микроскопических грибов в воздухе. В последнее время был принят ряд мер и сейчас проводятся работы по нормализации микроклимата Подземной палаты.

## 6. Определение жизнеспособных пропагул грибов путем восстановления тетразолия хлорида до формазана

*Метод ТТХ-ТФФ.* Метод позволяет выявить живые клетки микроорганизмов, а также оценить их количество. Суть метода заключается в следующем: участвующий в процессе дыхания микроорганизмов внутриклеточный фермент дегидрогеназа восстанавливает 2,3,5-трифенилтетразолий хлорид (ТТХ) до 2,3,5-трифенилформазана (ТФФ). При этом водорастворимый бесцветный ТТХ превращается в нерастворимый в воде ТФФ красного цвета (метод ТТХ-ТФФ), который затем можно экстрагировать органическими растворителями для последующей колориметрической оценки интенсивности окрашивания\*.

В Биологической лаборатории ГосНИИР разработан экспресс-метод выявления жизнеспособных микроорганизмов, позволяющий определить живые споры и мицелий в течение одного часа и не требующий специального лабораторного оборудования (колориметра или спектрофотометра), достаточно биологического микроскопа. Он является модификацией метода ТТХ-ТФФ\*\*. Скорость реакции окрашивания зависит от скорости проникновения реактива (ТТХ) через клеточные стенки мицелия и спор. Они, особенно оболочки спор обладают гидрофобными свойствами и препятствуют проникновению реактива. С целью повышения их проницаемости предложено использовать 10%-ного раствора КОН, в сочетании с 2%-ным раствором ТТХ. Выявление жизнеспособных клеток микроорганизмов и мицелия грибов можно проводить непосредственно в музее, если есть переносной микроскоп.

---

\* *Determining the proportion of metabolically active fungal mycelia by following the reduction of tetrazolium dyes to formazan.- in Methods of Soil Analysis, Part 2 – Microbiological and Biochemical Properties, editors: R.W. Weaver, J.S. Angle, and P.S. Bottomley, SSA Book Series: 5(No.5),1994, p.99,100.*

\*\* *M.B. Dmitrieva Express method for micromycetes viability determination an application for libraries. In preprints "Erice 96 International Conference on Conservation and Restoration of Archive and Library Materials" vol.1? p.157-160, Rome Istituto centrale per la patologia del libro, 1996.*

Соскоб с поврежденной поверхности помещают на предметное стекло в каплю 10%-ного раствора щелочи и добавляют каплю 2%-ного раствора ТТХ в трис-НСI-буфере (рН 7,6). По наличию и плотности окрашивания можно через 10-15 минут, а в некоторых случаях сразу после добавления ТТХ, судить о присутствии жизнеспособных спор и фрагментов мицелия. Реакцию окрашивания желательно проводить при температуре не ниже 20°C, понижение температуры будет замедлять реакцию. Мертвые клетки и мицелий (например, после дезинфекции или при старом заражении) остаются неокрашенными.

## 7. Интерпретация результатов исследования

Рассмотрим некоторые примеры, когда диагностика биологических повреждений была особенно важна для выбора стратегии консервации памятников. Интерпретация результатов биологического исследования часто вызывает определенные трудности, особенно, если повреждение произошло давно, или на произведение имеются только следы роста микроорганизмов в виде пигментных или матовых пятен в лаковых покрытиях и других признаков изменения состояния сохранности.

### 7.1. Саадак из Оружейной палаты

В фонде холодного оружия Оружейной палаты хранятся саадаки XVII в. (колчаны для стрел). Донце и лицевая сторона саадаков сделаны из хаза, последняя расшита серебряными нитями. Хаз – это кожа с крупа лошади с очень плотно упакованными пучками коллагеновых волокон, которая могла выдержать многократное механическое воздействие острых наконечников стрел. Во время подготовки экспонатов к выставке было обращено внимание на один саадак, который ранее не экспонировался из-за того, что состояние его сохранности было хуже, чем у других саадаков. В результате пробного удаления поверхностных загрязнений на лицевой поверхности были обнаружены пятна красного цвета. На неочищенной поверхности сквозь слой загрязнений также просматривались участки красноватого цвета. Пятна были неправильной формы и по виду были похожи на пигментацию, образовавшуюся вследствие развития микроорганизмов, поэтому были приглашены микробиологи для исследования природы пятен. В результате микробиологических посевов соскобов с саадака были выделены грамотрицательные аэробные бактерии, способные на 9-10 день роста образовывать внутриклеточный пигмент фиолетового цвета, вероятно, относящиеся к группам *Moraxella*, *Pseudomonas*, *Xanthomonas*. На основании данных посева был сделан вывод о том, пятна на саадаке образовались вследствие развития микроорганизмов, имеющих внутриклеточный пигмент, напоминающий

цвет исследуемых пятен, и что экспонат нуждается в антимикробной обработке.

Однако такой вывод противоречил физическому состоянию кожи саадака. Оно было вполне удовлетворительным, без признаков деструкции кожи, особенно характерных для бактериальных повреждений. Микроскопическое исследование коллагеновых волокон кожи также не выявило каких-либо следов разрушения. Другой группой микробиологов были исследованы пробы с саадака методом люминесцентной микроскопии, которая показала лишь незначительное содержание бактериальных клеток, часто встречающихся в составе поверхностных загрязнений. Посевы на разные типы питательных сред подтвердили микроскопическую картину, характерную для незначительной контаминации кожи клетками бактерий, отсутствие доминирующих форм. Первоначальный вывод об окрашивании кожи вследствие микробиологического повреждения не подтвердился. После обследования саадака химиками-консерваторами и реставраторами по коже был сделан вывод, что она была окрашена, поверхностно. На обрезках было видно, что толща дермы не окрашена (невероятно плотный хаз, по-видимому, и невозможно прокрасить), и рекомендовали провести химический анализ с целью определения использовавшегося пигмента или красителя. Во всех пробах, отобранных с красных пятен, был обнаружен свинцовый сурик. Красочный слой на лицевой поверхности саадака в значительной мере утрачен, поэтому он имеет вид отдельных, иногда достаточно обширных пятен. Участки кожи, на которых красочный слой не сохранился, имеют желтоватый цвет (цвет кожи). Интересно отметить, что в отличие от саадака красочный слой красно-оранжевого цвета на хазе, которым была обтянута задняя лука седла того же времени и происхождения, хранившегося в другом фонде Оружейной палаты, фонде Конюшенной казны, сохранился достаточно хорошо. Кроме того, в описях Оружейной палаты, составленных в XIX веке, была найдена запись о седле, крытом алым хазом, и о саадаке такого же цвета.

На этом примере можно видеть, что результаты одного вида микробиологического исследования должны подкрепляться резуль-

татами других видов исследований. В случае с саадаком в ходе первого микробиологического исследования были выделены на питательные среды пигментированные формы микроорганизмов, окраска которых была, по мнению исследователей, сходной с пятнами на экспонате, на основании этого было сделано ложноположительное заключение о развитии микроорганизмов на исследованном музейном предмете. Но это заключение не было подкреплено прямыми микроскопическими методами исследования, и не соответствовало обычно наблюдаемым изменениям состояния сохранности предметов из органических материалов при их бактериальном повреждении. Сочетание разных методов исследования позволило установить, что в результате посева соскобов с саадака были выделены случайные контаминанты, среди которых были и окрашенные формы. Проведенное повторное микробиологическое исследование избавило саадак от ненужной в данном случае и небезопасной для материалов памятника антимикробной обработки.

## **7.2. Византийские пергаментные рукописи, поврежденные во время второй мировой войны**

Часто, помимо макро и микроскопического изучения признаков роста микроорганизмов или следов их развития, посевов проб с поврежденных участков, изучения выделенных на питательные среды колоний микроорганизмов, важно знать историю бытования памятника. В отдел реставрации рукописей ГосНИИР поступила византийская рукопись на пергаменте, датируемая XI веком. Состояние сохранности рукописи, результаты микробиологических посевов и электронной микроскопии свидетельствовали о бактериальном повреждении пергамента и о наличии в его толще жизнеспособных клеток микроорганизмов. Часть микробиологов, проводивших исследование рукописи, настаивала на незамедлительной ее антимикробной обработке, а наиболее эффективным и, как полагали, безопасным способом будет обработка рукописи гамма-излучением. Но, присутствовавшие на реставрационном совете химики и физики высказали сомнения в безопасности при-

менения гамма-излучения для древнего пергамента. Решено было провести дополнительные исследования.

В принятии решения об отказе от антимикробной обработки важную роль сыграло изучение истории бытования рукописи. Оказалось, что она пострадала от намокания в конце войны и находилась некоторое время в намокшем состоянии, что и привело к ее разрушению бактериями и даже личинками мух. Затем поврежденная рукопись была высушена до воздушно-сухого состояния и хранилась в архивохранилище более сорока лет. При этом влагосодержание пергамента менялось в зависимости от изменений параметров микроклимата хранилища, но оно всегда было ниже влагосодержания, необходимого для развития бактерий. Состояние сохранности рукописи оставалось неизменным на протяжении всего срока ее пребывания в хранилище до поступления в реставрационный отдел, что послужило доказательством отсутствия метаболической активности клеток бактерий, обнаруженных в рукописи. Жизнеспособность части бактериальных клеток также указывала на то, что они находились в состоянии глубокого покоя, так как только в этом случае возможно сохранение жизнеспособности столь длительное время. Таким образом, было показано, что клетки бактерий на документах в обычных условиях архивного хранения находятся в состоянии покоя, поэтому необходимости подвергать рукопись рискованной антимикробной обработке нет. Однако за предметами, несущими следы микробных повреждений, необходимо регулярное наблюдение, они должны обследоваться в первую очередь при любых нарушениях условий хранения.

### **7.3. Настенная живопись собора Рождества Богородицы в Ферапонтово**

Другой пример, когда история бытования памятника помогла выяснить природу окраски налета на поверхности настенной живописи. Реставраторы и исследователи обратили внимание на красный оттенок налета на стенописи Рождественского собора Ферапонтова монастыря особенно заметного на нижних ярусах. При проведении микроскопических исследований с применением, в том



числе метода сканирующей электронной микроскопии, и методов микробиологического анализа было установлено, что живопись покрыта налетом бело-серого цвета, иногда с оттенками желтого цвета, образованного клетками микроорганизмов, в составе которого присутствовали и клетки микроводорослей. В ряде микробиологических проб наряду с другими колониями микроорганизмов были выделены колонии бактерий, содержащие внутриклеточный пигмент красного цвета (родококки). На основании результатов микробиологического анализа было сделано заключение о том, что развитие этих форм бактерий придает красный оттенок налету на живописи. С другой стороны, выделенные бактерии могли относиться к случайным контаминантам, среди аэрофильных микроорганизмов широко распространены пигментированные.

Микроскопическое исследование стратиграфии поверхностных загрязнений стенописи выявило, что красный налет, образующий достаточно плотный слой, перекрыт пылевыми отложениями, что заставило помимо микробиологических исследований сделать химический анализ его состава. В соборе для установки металлических стяжек (в начале XX века) был разобран кирпичный пол, по окончании этих консервационных инженерно-строительных работ вместо старого кирпичного пола был сделан дощатый пол. Известно, что кирпич неустойчив к истиранию, поэтому в храмах с такими полами всегда на росписях, особенно нижних ярусов, есть в небольшом количестве мелкодисперсная кирпичная пыль. В Рождественском соборе столь плотный слой в нижних ярусах образовался при разборке пола, по-видимому, красочный слой стенописи не был достаточно защищен от проникновения кирпичной пыли. В результате химического анализа в пробах поверхностных загрязнений была определена кирпичная пыль, на слое которой за прошедшее со дня демонтажа старого пола время осел еще слой пыли.

#### 7.4. Декорации Гонзаго

Для диагностики микологических повреждений памятников недостаточно владения техникой микологических посевов, умением

определить полученные изоляты грибов. Необходим опыт работы в области сохранения памятников истории и искусства. На музейных предметах в фондохранилищах и в экспозиционных залах могут присутствовать случайные контаминанты: фрагменты мицелия и споры грибов, осевшие с пылью или попавшие с различного рода загрязнителями. Споры и мицелий грибов, как в составе колоний грибов, развивающихся на музейных предметах, так и споры, и фрагменты мицелия грибов – случайных контаминантов могут быть в жизнеспособном и в нежизнеспособном состоянии. В связи с этим диагностика микологических повреждений произведений искусства (микологическая экспертиза) является непростой задачей, легко может быть получен так называемый ложноположительный результат. Так, например, в результате посева специалистом-микологом, но без опыта работы в музейных фондах проб, отобранных с помощью ватного тампона с запыленных и загрязненных декораций Гонзаго, были выделены колонии грибов. На основании результатов микологического анализа было принято решение о масштабной антимикробной обработке декораций, которая была проведена без предварительного удаления поверхностных загрязнений, что привело к тому, что часть загрязнений уплотнилась, а часть уже будет невозможно удалить впоследствии. В то время как результаты микологического анализа в данном случае не давали бесспорных доказательств необходимости обработки. Не было представлено результатов прямого микроскопического исследования проб, не была показана связь между наблюдаемыми изменениями состояния сохранности и выделенными грибами, видовое разнообразие которых указывало как раз не на наличие очагов развития грибов, а на присутствие случайных поверхностных контаминантов на декорациях. Кроме того, обработка оказалась мало эффективной и с микробиологической точки зрения. Через два месяца после обработки и через полтора месяца хранения декораций в металлическом ангаре с нерегулируемыми параметрами микроклимата на декорациях было обнаружено уже действительное развитие колоний грибов, образование которых можно было наблюдать визуально.

## 7.5. Перерождение свинцовых белил

Почернение традиционно белых участков древних настенных росписей: одежд ангелов и архангелов, деталей одежд святых, белильных разделок на одеждах и архитектуре, известно, как в отечественных, так и в зарубежных памятниках. Было установлено, что такого рода изменение колорита живописи происходит вследствие перерождения свинцовых белил в темно-коричневую двуокись свинца. На расстоянии темно-коричневый цвет двуокиси свинца воспринимается, как черный. В исследованных древнерусских и средневековых итальянских памятниках произошло перерождение свинцовых белил в поновительских слоях клеевой живописи, относящихся к восемнадцатому, девятнадцатому векам. В авторской средневековой живописи в качестве белого пигмента использовались известковые белила, которые не изменились. В качестве основной причины окисления свинцовых белил и свинцового сурика, которое также имеет место в красочном слое настенной живописи, была выдвинута жизнедеятельность микроорганизмов.

Свинцовые белила занимают важное место в истории развития живописи. Они являются синтетическим пигментом, впервые полученным в IV веке до н. э. Производство свинцовых белил описано уже Плинием, Витрувием и Теофрастом. Он занимал первое место в европейской станковой живописи и полихромной скульптуре, в иконах и в миниатюрах вплоть до изобретения цинковых белил в 1834 году. Это был наиболее часто используемый белый пигмент в технике масляной, темперной и клеевой живописи.

В книгах, посвященных исследованию материалов живописи, отмечается, что наряду с достоинствами свинцовых белил – большой кроющей силой и быстрому высыханию с маслом, недостатком их является нестойкость в щелочной среде, поэтому они обычно не применялись в средневековой настенной живописи. Белым пигментом в настенных росписях служили известковые белила, иногда мел. Известно использование окиси свинца – массикота в ранних средневековых памятниках, но по гипсовому грунту.

В восемнадцатом веке распространилась практика поновления старых росписей клеевыми красками. Клеевая живопись была

удобна для частичной прописи старой фреско-темперной живописи, так как она не контрастировала с окружающей живописью и широко была распространена в восемнадцатом веке для росписи интерьеров. В качестве белого пигмента в технике клеевой живописи по меловому грунту использовали свинцовые белила.

Водные коллоидные растворы клеев растительного и животного происхождения имеют нейтральную реакцию, за исключением раствора казеина, который растворим только в щелочной среде. Верхний слой старой живописи, левкаса и штукатурки карбонизирован, имеет нейтральный или слабощелочные значения pH, изменение свинцовых белил в этом случае происходит медленно. Если бы изменение происходило быстро, то такая практика поновления настенной живописи с использованием этого пигмента не получила бы распространения.

В церкви Иоанна Богослова в Ростове Великом, настенные росписи которой выполнены в XVII веке, пробела на одежде святых на алтарной преграде были темно-коричневого цвета, в результате чего эти композиции напоминали фотографические негативы. В результате отбора проб с потемневших участков живописи и последующего их исследования было установлено, что это свинцовые белила, полностью переродившиеся в  $PbO_2$  (соединение темно-коричневого цвета). В качестве связующего для свинцовых белил был использован клей. Образование  $PbO_2$  было показано методом рентгенофазового анализа. Из архивных источников известно, что фреско-темперная живопись семнадцатого века в церкви Иоанна Богослова подвергалась поновлению в восемнадцатом веке. Первоначальные известковые пробела и участки, на которых они были утрачены, были прописаны свинцовыми белилами на клеевом связующем.

Небольшие участки настенной живописи, поновленные или вновь написанные в восемнадцатом веке в технике клеевой живописи с использованием свинцовых белил, вместо древних утраченных были обнаружены в соборе Рождества Богородицы в Ферапонтово, который был расписан на рубеже XV-XVI веков. Свинцовые белила в поновительском красочном слое, также как и в церкви Иоанна Богослова в Ростове, переродились в  $PbO_2$ . Так, например, на крыльях шестикрылого серафима около окна в жертвеннике можно наблю-

дать участки почти черного цвета (рис. 51). На западной стене четверика после заделки глубокой трещины, возникшей, вероятно, в результате устройства в восемнадцатом веке нового окна на этой стене, был восстановлен фрагмент росписей (средняя часть фигуры святого). Участки одежды, написанные свинцовыми белилами на клеевом связующем, выглядят почти черными. Кроме того, были обнаружены довольно многочисленные небольшие черные пятна в местах реставрационных дополнений штукатурного слоя на парусах и на медальонах, частично заходящие на красочный слой. В одном медальоне пояс на одежде святого был черного цвета. В результате химического и рентгеновского анализа было установлено, что это двуокись свинца. Следует отметить, что в начале двадцатого века в соборе были проведены реставрационные работы на стенописи, при этом проводилась замена штукатурных дополнений восемнадцатого века на новые. Черные пятна в местах вставки штукатурки, по-видимому, остатки от слоя свинцовых белил, который наносился поверх чинок штукатурки, сделанных в восемнадцатом веке. Пояс на одежде святого целиком поновлен в восемнадцатом веке свинцовыми белилами.

В памятниках с настенной живописью наблюдается также изменение красного пигмента – свинцового сурика. В красочном слое росписей XVII века церкви Рождества Богородицы болгарского села Арбанаси был обнаружен красный свинцовый сурик, переродившийся в темно-коричневую двуокись свинца. Свинцовый сурик (смешанный оксид Pb (II) и Pb (IV)) в качестве пигмента в составе масляных красок также, как и свинцовые белила очень устойчив и не подвергается изменениям в течение длительного времени. Оба пигмента способствуют высыханию масляного связующего. При высыхании происходит окислительная полимеризация компонентов масел. После высыхания пленка полимеризованного масла препятствует проникновению кислорода и влаги в структуру покрытия. Свинцовый сурик на масляном связующем используется даже как антикоррозийное покрытие. Свинцовые белила и свинцовый сурик, стертые с маслом, применялись для окраски кораблей. Однако в составе клеевых красок свинцовые пигменты (белила и сурик) химически не стойки и могут окисляться или всту-

пать в обменные реакции с соединениями, содержащими сульфидную группу.

Свинцовые белила весьма устойчивы в составе масляных и «крепких» темперных красок. Дополнительно от окислительной деструкции произведения станковой живописи защищены лаковыми покрытиями. Об устойчивости свинцовых белил в технике масляной и темперной живописи свидетельствуют прекрасно сохранившиеся произведения живописи старых мастеров. Светлые части живописных произведений, написанные свинцовыми белилами или содержащие их в большом количестве, часто отличаются лучшей сохранностью, чем остальная живопись. Клеевые связующие этим свойством не обладают. При воздействии света в присутствии воды в красочном слое настенной живописи, выполненной в клеевой технике, образуются свободные радикалы. Они активируют перекисное окисление клеевого связующего. Перекись водорода и образовавшиеся перекисные органические соединения в слабощелочной среде действуют как окислители, они окисляют двухвалентный свинец в четырехвалентный, в результате чего свинцовые белила и свинцовый сурик перерождаются в темно-коричневую двуокись свинца.

Роль факторов окружающей среды в процессе окисления свинцовых белил хорошо видна при исследовании красочного слоя древнерусских миниатюр на пергаменте. В качестве связующего в миниатюрной живописи часто использовалась камедь или белок куриного яйца. Несмотря на наличие клеевого связующего и слабощелочные значения pH пергаamenta перерождение свинцовых белил не происходит, так как миниатюры обычно хранятся в темноте и не подвергаются сильному увлажнению. Процесс перекисного старения связующего происходит крайне медленно. Видимая трансформация свинцовых белил в  $PbO_2$  в красочном слое древнерусских миниатюр происходит только в местах контакта участка красочного слоя одной миниатюры, написанного свинцовыми белилами, с зеленым участком красочного слоя другой миниатюры (обычно это заставки с растительным орнаментом). В результате этого образуются темные пятна, в ряде случаев очень похожие на микробную пигментацию (рис. 53).

Как показали проведенные исследования, в Евангелии Хитрово и Морозовском Евангелии в качестве зеленого пигмента использовалась смесь индиго и аурипигмента ( $As_2S_3$ ). Микроскопическое и рентгенографическое исследование потемневших участков свинцовых белил не выявило образование  $PbS$ , несмотря на контакт с серосодержащим пигментом. Была обнаружена только темно-коричневая двуокись свинца. По-видимому, аурипигмент играет роль катализатора при перекисном окислении свинцовых белил в слабощелочных условиях. Негативное действие аурипигмента на свинцовые белила было хорошо известно средневековым миниатюристами, так все пробела на зеленом (смесь индиго и аурипигмента) в инициалах и в орнаментах сделаны аурипигментом, а не свинцовыми белилами, как например, на красном и синем (рис. 54). В Морозовском Евангелии через некоторое время между изображениями Евангелистов и заставками были вшиты прокладки из ткани, вставленной в бумажные листы. Может быть, вставки были сделаны потому, что обратили внимание на появление пятен на красочном слое, но, может быть, они в то время были ещё не заметны. Известно, что процессы старения, связанные с перекисным окислением органического вещества, могут протекать, и после прекращения действия фактора, их вызвавшего. В основе этих процессов лежат цепные реакции, когда появление одного свободного радикала вызывает цепь превращений молекул вещества, порождая новые активные свободные радикалы, легко реагирующие с другими молекулами.

В византийских рукописях, где также участки миниатюр, написанных свинцовыми белилами, контактируют с участками заставок, написанных зеленым пигментом, представляющим собой смесь индиго и аурипигмента, перерождение свинцовых белил не происходит. Миниатюры в византийских рукописях в отличие от древнерусских покрыты пленкой органического вещества, которое препятствует тесному контакту аурипигмента и свинцовых белил и уменьшает доступ кислорода к связующему красочного слоя, поэтому окисления свинцовых белил в местах контакта с зеленым пигментом не происходит.

Известно также потемнение свинцовых белил в красочном слое произведений искусства, выполненных в технике акварели и гуа-

ши на бумаге. Как правило, эти произведения несут на себе следы пребывания в неблагоприятных условиях хранения (деформации, затеки). В данном случае свинцовые белила также могут подвергаться окислению перекисными соединениями, образующимися при старении клеевого связующего. Однако перекисные соединения обладают окислительными свойствами при щелочных значениях рН. Бумага в отличие от настенной живописи и пергамента обычно имеет слабокислые значения рН, поэтому окисление свинцовых белил затруднено, но недостаточно защищенные связующим белила могут взаимодействовать с сероводородом, присутствующим в загрязненном воздухе. В результате этого взаимодействия образуется вещество черного цвета сульфид свинца.

Процесс перерождения и восстановления свинцовых белил может быть проведен в лабораторных условиях. Если небольшое количество порошка свинцовых белил поместить на предметное стекло с лункой и нанести на них несколько капель 10% раствора NaOH или KOH, то через некоторое время можно увидеть изменение цвета белил, они приобретают желтую (если щелочи добавлено немного) или оранжевую окраску. Свинцовые белила переходят в свинцовый глет ( $PbO$ ), который известен в желтой и оранжевой модификациях. Если затем к образовавшемуся свинцовому глету добавить несколько капель 5% раствора перекиси водорода, то мгновенно он приобретет темно-бурый цвет в результате реакции окисления двухвалентного свинца перекисью водорода до четырехвалентного при щелочных значениях рН. Образовавшаяся двуокись свинца ( $PbO_2$ ) может быть восстановлена той же самой перекисью водорода. Для этого необходимо к полученной двуокиси свинца добавить несколько капель 5-10% раствора уксусной кислоты и затем несколько капель 5% раствора перекиси водорода и немедленно можно будет наблюдать исчезновение темно-коричневого и вновь появление белого цвета. Как известно, в кислой среде перекись водорода обладает восстановительными свойствами. Она восстанавливает четырехвалентный свинец до двухвалентного (рис. 52). Образовавшееся после восстановления соединение свинца белого цвета не является свинцовыми белилами, а является, вероятнее всего уксуснокислой солью свинца, которая



также имеет белый цвет. Конечно, на поверхности настенной живописи условия гораздо более мягкие, чем в лабораторном эксперименте – слабощелочные, близкие к нейтральным значения рН, менее концентрированные растворы перекисных соединений. Вероятно, перерождение свинцовых белил и свинцового сурика на стене происходило достаточно медленно, в противном случае практика частичного поновления стенописи в клеевой технике с использованием свинцовых белил не получила бы распространения.

Перерождение свинцовых белил в двуокись свинца было обнаружено на стенописи и в красочном слое древнерусских миниатюр на пергаменте. Настенные росписи и пергамент имеют слабощелочные значения рН, которые в случае окисления связующего и образования перекисных соединений будут способствовать окислению свинцовых белил. В качестве связующего для свинцовых белил и в настенной живописи и в миниатюрах использовался клей (либо животный, либо растительный клей, обычно мучной, камедь, белок куриного яйца). Однако, если на поновленных участках настенной живописи перерождение свинцовых белил произошло почти полностью (за исключением только тех случаев, когда они использовались в смесях с пигментами, которые могут проявлять антиоксидантную активность), то в средневековых рукописях на пергаменте переродились только небольшие участки свинцовых белил, контактировавшие с аурипигментом. Это связано с тем, что клеевое связующее в красочном слое настенной живописи в неоттапливаемых памятниках архитектуры в значительно большей степени подвержено окислительной деструкции, чем в красочном слое миниатюр.

В процессе аэробного (в присутствии кислорода) дыхания микроорганизмами образуется перекись водорода. Перекись водорода образуется в клетках всех микроорганизмов, растущих в аэробных условиях, токсичная перекись водорода быстро разрушается с помощью специальных ферментов (каталазы, пероксидазы). В определенных условиях активность фермента супероксиддисмутазы, катализирующей реакцию дисмутации супероксидных радикалов (возникают при переносе электрона на молекулярный кислород в процессе дыхания), в результате которой образуется перекись водорода, может быть высокой, а активность ферментов,

разлагающих перекись водорода, относительно низкой, вследствие этого перекись водорода может накапливаться. Аэробные хемо-органотрофные микроорганизмы, образуя перекись водорода, могут ускорять процесс окисления свинцовых белил в клеевом связующем. Однако микробная перекись лишь ускоряет процесс окисления свинцовых белил, который может происходить и при отсутствии микроорганизмов. В Рождественском соборе Ферапонтова монастыря окисление свинцовых белил на поновленных участках стенописи произошло не только в местах с большой плотностью микробной популяции, но и в местах с низкой микробной контаминацией. Помимо реакций, протекающих при дыхании микроорганизмов, в присутствии воды свободные радикалы: супероксидный, гидроксидный и другие, - а также перекись водорода и органические перекисные соединения образуются при окислении органических веществ в ходе фотохимических, химических и электрохимических процессов. На влажных стенах окислять свинцовые белила могут перекиси как биогенного, так и абиогенного происхождения.

## **7.6. Бурые пятна на бумаге и текстиле из целлюлозных волокон**

Повреждение старой бумаги и текстиля из целлюлозных волокон фоксингами (бурыми пятнами) широко распространенное явление, привлекающее интерес исследователей во всем мире. Выдвигаются две основные версии их происхождения – биотическая и абиотическая.

Версия образования фоксингов, в основе которой лежит их биогенное происхождение, опирается на их форму, цвет и размеры, сходные с пигментными пятнами грибов и актиномицетов, на явлении люминесценции пятен, приписываемой сторонниками этой версии исключительно живым организмам, на присутствии в некоторых случаях спор и фрагментов мицелия в зоне пятна в большем количестве, чем на неповрежденных участках. Но на бумаге встречается много других бурых пятен, которые не называются фоксингами – это отпечатки гравюр и текста, пальцев на углах страниц, границы затеков, побурение края листов, ореолы вокруг печатного текста, железо-галловых чернил, ярь-медянки и дру-

гие. Они также, как и фоксинги люминесцируют на ранних стадиях формирования, хотя их абиотическая природа ни у кого не вызывает сомнения (рис. 55-59). В фоксинговых пятнах с помощью сканирующей электронной микроскопии обнаружены споры, фрагменты мицелия, но не признаки образования колоний грибов или актиномицетов. Встречающееся иногда большее количество спор и фрагментов мицелия внутри пятна, чем вне его, можно объяснить появлением углублений в бумаге в месте формирования пятна, причем их численность может быть даже высокой, если поблизости на бумаге были грибные колонии. Кроме того, с поврежденных бурыми пятнами целлюлозных волокон еще пока никому не удалось достоверно выделить микроорганизмы, ответственные за их образование. Таким образом, из аргументов биотической (биогенной) версии остается только сходство фоксингов с пигментными пятнами грибов, особенно фоксингов с выраженным центром.

На основании проведенных нами исследований была предложена версия абиотического образования фоксингов. Доказательства в ее поддержку собраны при обследовании музейных и библиотечных фондов и получены путем исследования пятен различными аналитическими методами. Результаты обследования коллекций редких книг, гравюр, рисунков и рукописей показали, что появление фоксингов зависит от технологии производства бумаги, текстуры ее поверхности, уровня доступа кислорода, действия света, запыленности и загрязненности бумаги, микроклиматических условий хранения. В отличие от микроскопических грибов, проявления которых обычно связаны с признаками намокания бумаги, повреждение фоксингами с ними не связано. На мелованной бумаге фоксинги почти не встречаются, а повреждения ее грибами распространены. Частота встречаемости грибных проявлений на тряпичной бумаге не связана с изменением технологии производства в отличие от фоксингов.

Методами ЭПР, ИК и КР – спектроскопии обнаружены свободные радикалы, перекиси, как в местах формирования пятен, так и вне их. Различия имеют количественный характер. Так, например, количество свободных радикалов, в пятне в стадии образования в 2-3 раза превосходит их количество в окружающей бу-

маге. Исследование методом флуоресцентной спектроскопии показали, что эмиссионные спектры (спектры флуоресценции) и спектры возбуждения бумаги без пятен и бумаги с начальными признаками образования пятен сходны. Эмиссионный максимум спектра флуоресценции бумаги в месте формирования пятна и вне его совпадает и находится в диапазоне 420-460 нм (при максимумах возбуждения 340 нм, 365 нм, 395 нм), но отличается интенсивность свечения. Эмиссионный максимум спектра флуоресценции затека также находится в диапазоне 420-460 нм, интенсивность его свечения в 3-4 раза выше бумаги без затека.

Это дало основания полагать, что в основе механизма образования бурых пятен, несмотря на разнообразие промоторов их вызывающих (металлы с переменной валентностью, легко окисляемые органические соединения, летучие и растворимые в воде продукты окисления целлюлозы) лежит единый механизм локальной окислительной деструкции целлюлозы. Нарастание количества сопряженных двойных связей в молекулах целлюлозы приводит к смещению спектра люминесценции и спектра отражения видимого света в более длинноволновую область и появлению оттенков желтого цвета в местах образования пятен. Согласно современным представлениям бурая окраска пятен появляется вследствие реакции конденсации продуктов окисления целлюлозы с азотистыми соединениями согласно реакции Майяра, при этом люминесценция пятен прекращается.

Эксперименты по моделированию образования фоксингов показали, что видимые при обычном освещении слабо заметные желтые пятна появляются через год экспонирования бумаги, состаренной в естественных условиях, на стеллажах, полностью не защищающих от оседания пыли и действия света, но увидеть изменение люминесценции бумаги в местах их формирования можно значительно раньше. После того, как действие света и пыли прекращается процесс локальной окислительной деструкции продолжает развиваться. Сначала люминесцирующие, а потом видимые при обычном освещении бурые пятна были получены в условиях окружающей среды, при которых развитие микроорганизмов на бумаге невозможно.

Биотическая версия образования фоксингов также была подвергнута проверке. Образцы бумаги разных видов помещали во влажную камеру. После появления признаков развития грибов, их из нее извлекали, начавшие развиваться небольшие колонии грибов удаляли. После этого образцы длительное время выдерживали в условиях, которые поддерживаются в библиотечных и музейных хранилищах. Через год экспонирования признаков образования фоксингов на участках, на которых развивались колонии грибов, не обнаружено. В некоторых случаях можно было наблюдать слабую люминесценцию вокруг пигментных пятен грибов, тогда как на параллельно испытывавшихся образцах бумаги появились люминесцирующие пятна (будущие фоксинги) на участках подвергавшихся воздействию пыли и света, а также началось формирование окрашенной границы затека в местах смачивания бумаги водой.

Скорость окислительной деструкции бумаги и ее локальных проявлений в большой степени зависит от условий хранения. Хранение книг, гравюр, рисунков, рукописей в коробках минимизирует влияние света и пыли. Скорость окислительной деструкции бумаги снижается при уменьшении доступа воздуха, например, в плотно закрытых недеформированных книжных блоках. Также важно поддерживать необходимый уровень воздухообмена, чтобы летучие продукты окисления удалялись, а не накапливались. Для переплетов, паспарту необходимо использовать только высококачественные материалы. Контакт бумаги и даже близкое соседство с деревом, картоном и другой бумагой более низкого качества ускоряет процесс окислительной деструкции.

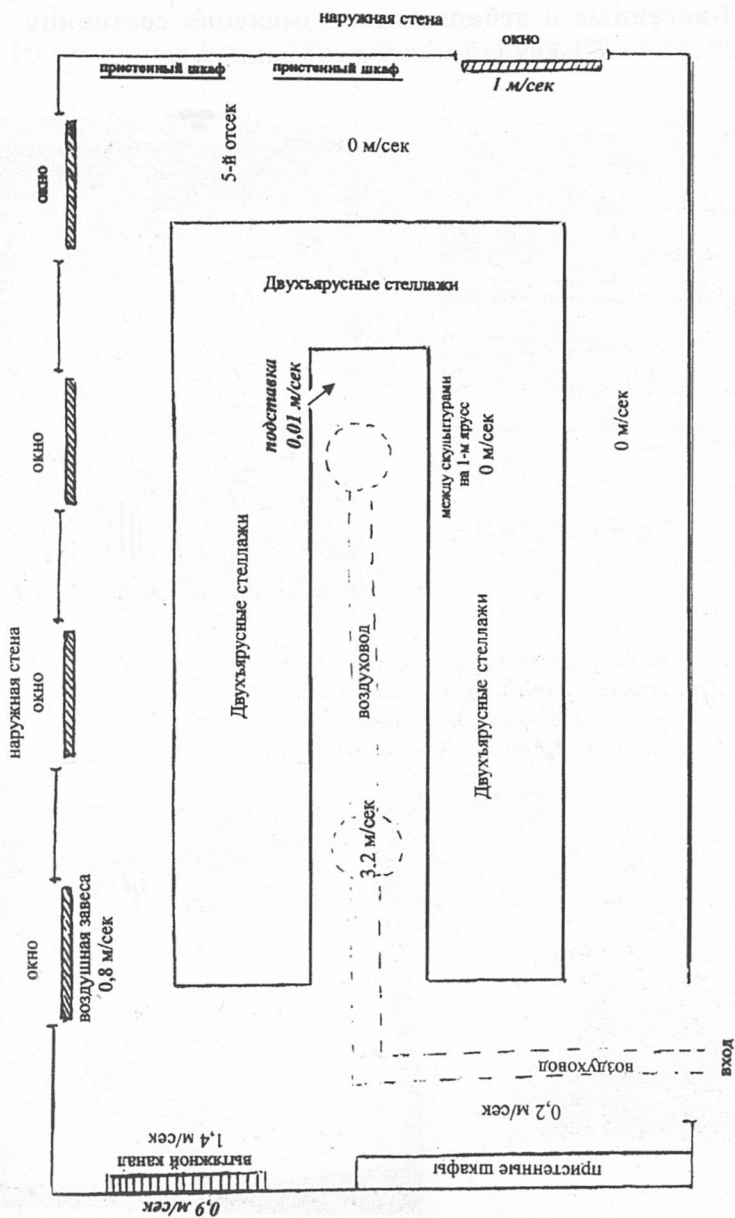


Рис. 1 Скорость движения воздуха в разных зонах запасника деревянной скульптуры ГТК.

## Биогенные и небиогенные изменения состояния сохранности памятников



Рис.2, 3. Слева темные пятна на бумаге вследствие развития темноокрашенных грибов, справа – темные пятна на красочном слое миниатюры (указаны стрелками), похожие на грибную пигментацию, но причина их образования перерождение свинцовых белил в двуокись свинца



Рис.4. Фоксинги на бумаге – повреждение, схожее с повреждением грибами

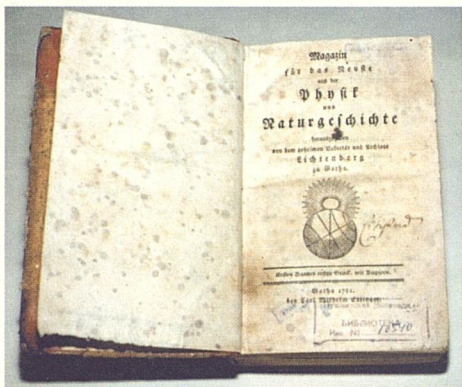


Рис.5. Повреждение бумаги грибами

## Нетипичные проявления роста грибов на живописи

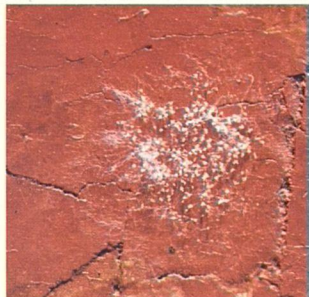


Рис. 6а.

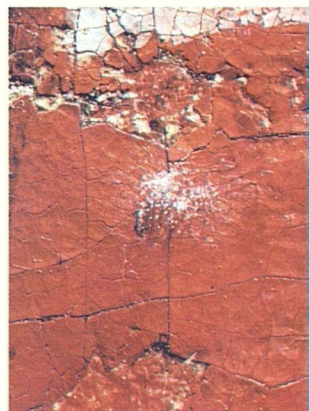


Рис. 6б.

Рис. 6. На иконе были обнаружены микроколонию грибов, они были мало заметны при визуальном осмотре

Рис. 6а, б. Микроколонию грибов, сняты с увеличением 12:1



## Микроскопическое исследование проб налета с живописи на холсте

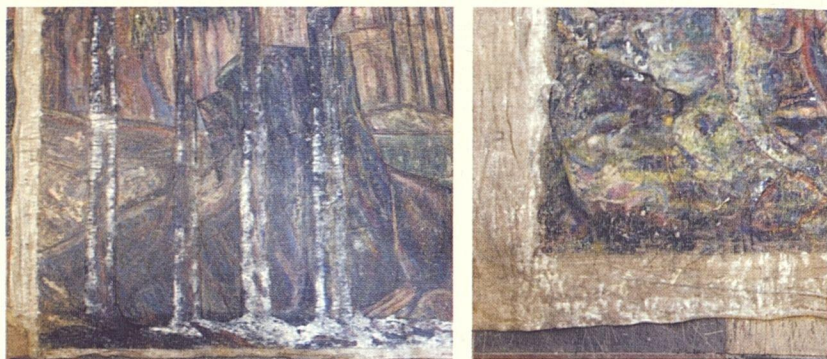
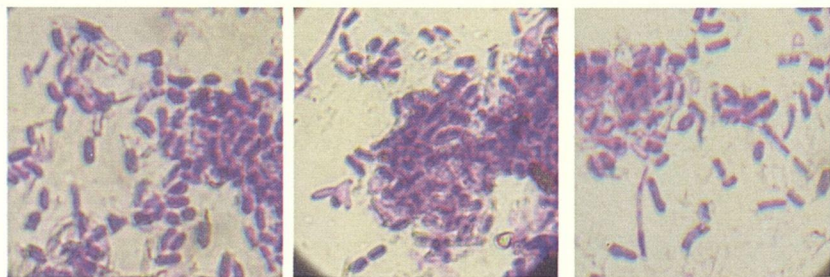


Рис.7. Два фрагмента картины «Лес», начала XX в. с признаками повреждения плесневыми грибами

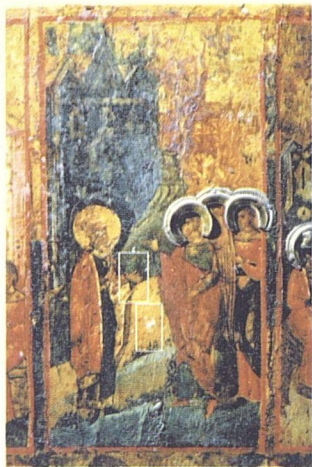


а) пробы без окрашивания

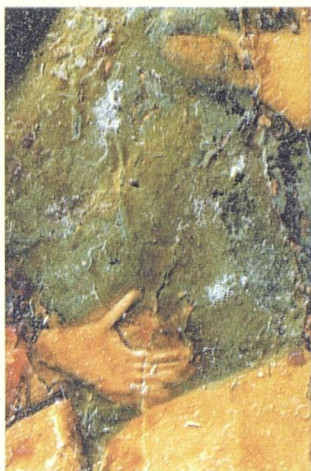


б) пробы окрашены метиленовым синим

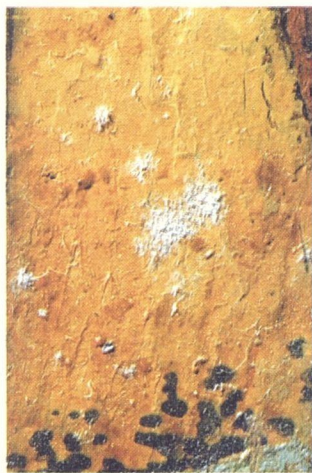
## Микроскопическое исследование материала, отобранного на месте развития микроколоний грибов на живописи



Одно из клейм иконы, снято в масштабе 1:1



участок клейма, масштаб 10:1



участок клейма, масштаб 10:1

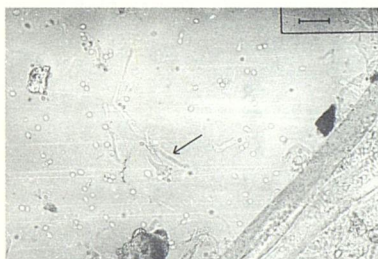


Рис.8. Микроколонии грибов на темперной живописи. Результаты микроскопического исследования: большое количество крупных конидий, дегенеративные конидиеносцы, показаны стрелками. Результаты посева отрицательны



Участок красочного слоя, масштаб 12:1

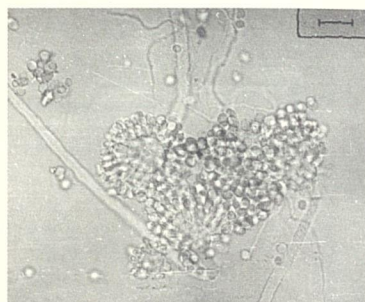
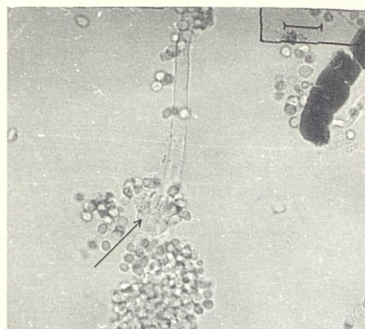


Рис.9. Микроколонию грибов на темперной живописи. Развитие грибов на поверхности и вдоль кракелюров. Видны сформировавшиеся конидиеносцы рода *Aspergillus*. Результаты микроскопического исследования: большое количество крупных конидий, конидиеносцы лучше развиты, чем на предыдущем рисунке, однако стеригмы необычно большого размера, встречаются конидиеносцы уродливой формы, показан стрелкой. В верхнем правом углу верхнего снимка предположительно экскременты клещей. Результаты посева отрицательны.

## Микроскопическое исследование материала, отобранного на месте развития микроколоний грибов на живописных произведениях



Для микологического анализа с картины (масло, 1915 г.) была снята рама. На внутренней поверхности стекла видны микроколонии грибов. Микроколонии образовались в результате образования конденсата и благодаря наличию поверхностных загрязнений на стекле



Микроколонии грибов более детально

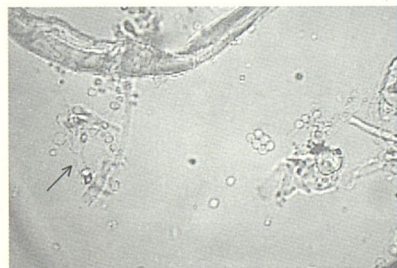
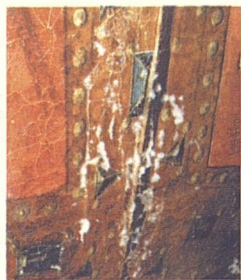


Рис.10. Результаты микроскопического исследования микроколоний грибов на стекле рамы: конидиеносцы и конидии рода *Aspergillus*, дегенеративные конидиеносцы показаны стрелками. Результаты посева отрицательны.

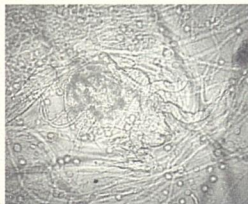
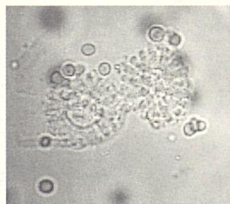
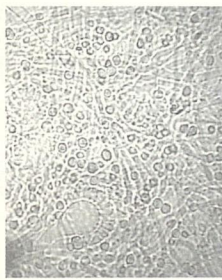


*Малозаметные при визуальном осмотре микроколонии грибов, выделен участок, на котором они были обнаружены*

*Микроколонии можно выявить при осмотре поверхности красочного слоя в боковом свете*



*Более развитые колонии грибов*



*Рис.11. Результаты микроскопического исследования микроколоний грибов на теплой животиси: большое количество крупных конидий, конидиеносцы развиты более хорошо, чем на предыдущем рисунке, среди массы мицелия и конидий обнаружены микроскопические клещи. Результаты посева отрицательны.*

## Определение развития микроорганизмов на настенной живописи методом растровой электронной микроскопии



Рис.12. Фрагмент стенописи Рождественского собора Ферапонтова монастыря в процессе удаления микроорганизмов и поверхностных загрязнений.

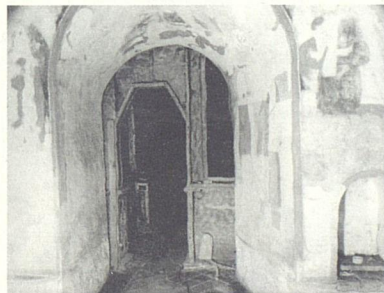


Рис.14. Церковь Иоанна Предтечи в Толчкове. Плотный белесый налет на живописи, два квадрата на правом откосе – пробные расчистки

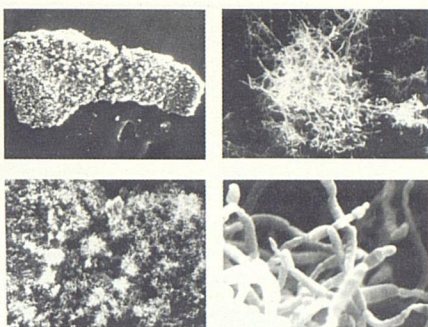


Рис.13. Исследование состава налета на стенописи с помощью СЭМ. Слева направо сканирование поверхности пробы с возрастающим увеличением (100x, 500x, 1000x, 3000x), обнаружены мицелиальные формы актиномицетов

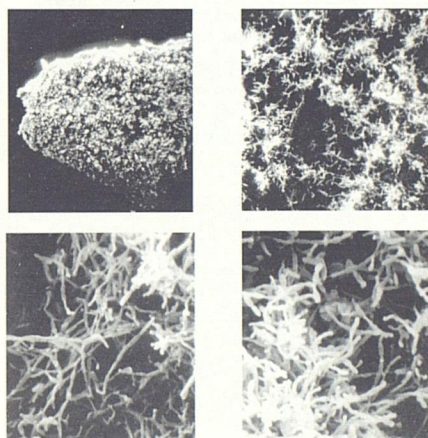


Рис. 15. Исследование состава налета на стенописи с помощью СЭМ. Слева направо сканирование поверхности пробы с возрастающим увеличением (100x, 500x, 2000x, 2000x), обнаружены мицелиальные формы актиномицетов

## Микологическое исследование проб, отобранных в зоне деструкции бинтов египетской мумии

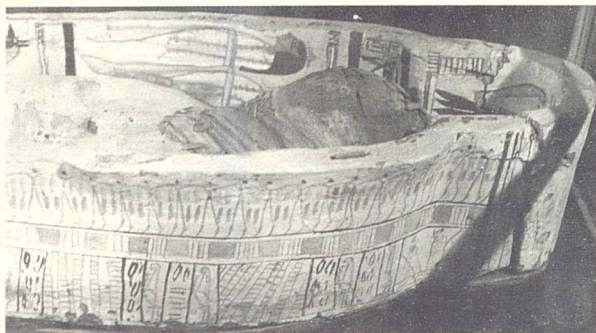


Рис.16. Мумия в открытом саркофаге в музейной витрине. Бинты в области головы и шеи потемнели, льняные волокна стали чрезвычайно хрупкими. На голове были обнаружены следы развития микромицетов в виде скопления войлокообразных масс светло-серого цвета

Рис.17. Исследование проб в сканирующем электронном микроскопе (Philips-SEM-515). Споры и мицелий микромицетов на и между волокнами бинта

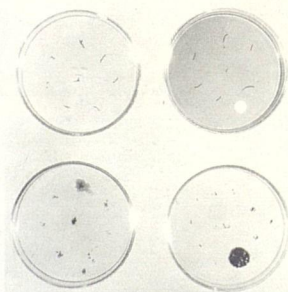
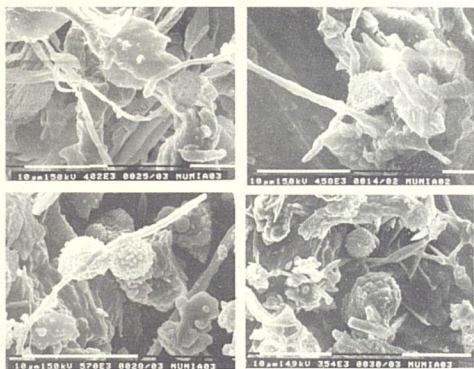


Рис.17а. Посев фрагментов волокон льна на питательные среды: верхний ряд, среда Чапек, с одного фрагмента началось развитие бактерий; нижний ряд, слева среда Чапек, справа сусло-агар, на одном фрагменте образовалась колония *Aspergillus repens*, на сусло-агаре грибная колония, не связанная с фрагментами волокон. Заключение по результатам микологической экспертизы. На бинтах в зоне деструкции развивались микромицеты, развитие грибов происходило давно, в настоящее время пропагулы грибов потеряли жизнеспособность.

## Посевы и выделение культур микроорганизмов

Рис. 18. Отрицательный результат посева пробы налета грибов. Бумага архивного документа с налетом *Stachybotrys* sp. (а). Ни в одном посеве не началось развитие колоний. Один из посевов – конидии на поверхности среды Чапека без признаков прорастания (б). На бумаге архивного документа были признаки развития *Chaetomium* sp. Ни в одном посеве не было признаков прорастания спор. Один из посевов – перитеции и споры на поверхности среды Чапека без признаков прорастания, справа крупнее перитеции *Chaetomium* sp. (в, г). Заключение – развитие грибов происходило давно, в настоящее время споры грибов в составе старых поврежденных нежизнеспособны

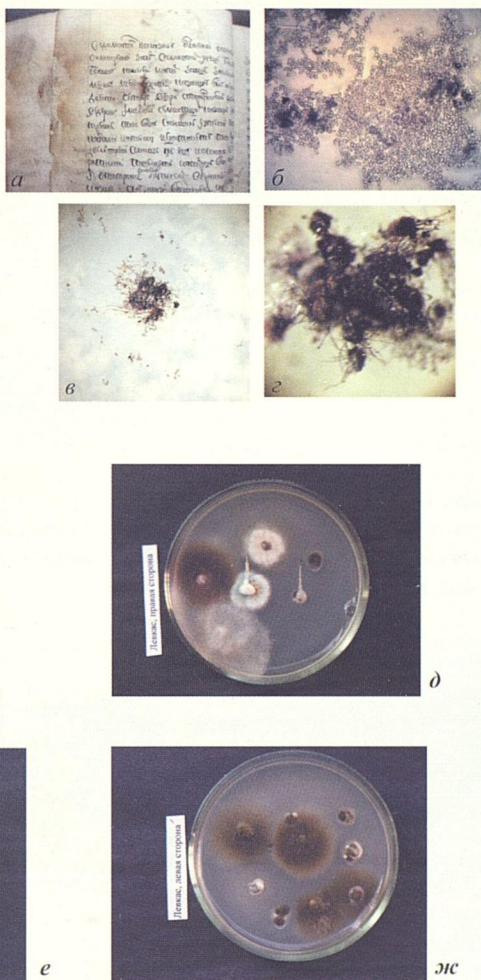


Рис. 19. Положительные результаты посева проб левкаса иконы. В большинстве проб обнаружены жизнеспособные propagules грибов. Четко выражены доминирующие формы: *Cladosporium* sp. и *Ulocladium* sp., в некоторых случаях они заражены микофильными грибами (д, е, ж). Результаты посева соответствуют проявлениям роста этих грибов на животиси – темноокрашенные налеты и пятна.



## Посевы и выделение культур микроорганизмов



Рис. 20. Положительные результаты посева проб с места образования темного налета в виде пятна на стене фондохранилища. Совместный рост колоний *P. chrysogenum* и *Ulocladium* sp. Вверху среда Чапека, внизу среда Чапека с крахмалом. Посев исследуемого уколами



Рис. 21. Положительные результаты посева с крышки белокаменного саркофага. Слева проявления развития микроорганизмов, справа посев на среду Чапека с крахмалом – колонии *Mortierella* sp. и сиренево-розовые колонии актиномицетов, посев штрихом.

## Посевы и выделение культур микроорганизмов



Рис. 22. Развитие грибов на стенах вследствие конденсационного увлажнения в холодное время года музейного зала, в котором параметры микроклимата поддерживаются с помощью централизованной системы кондиционирования

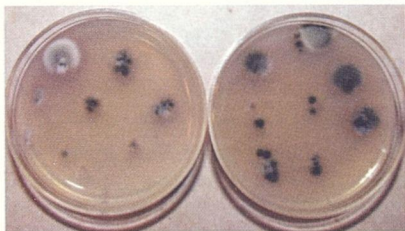


Рис. 23. С места развития грибов на стенах выделена чистая культура *Ulocladium* sp. – психрофил, часто встречается, когда развитие грибов начинается вследствие промерзания ограждающих конструкций.



Рис. 24. Развитие грибов на стене вследствие конденсационного увлажнения в неотапливаемом памятнике

Рис. 25. С места развития грибов на стене путем посева в чашки Петри выделены два вида рода *Cladosporium*. Виды этого рода устойчивы к действию света, часто развиваются на строительных материалах при пониженной температуре и недостатке органического вещества



## Посевы и выделение культур микроорганизмов



Рис. 26. Усадьба «Ивановское». Развитие грибов на стенах вследствие протечки и конденсационного увлажнения. Посев частиц разрушенных строительных материалов в чашки Петри, слева среда Чапека, справа среда Чапека с крахмалом. В пробах много грибов, в этом случае быстро растущие на питательных средах грибы могут помещать выделению более медленно растущих, но доминирующих на месте роста. Слева начало совместного развития колоний *Penicillium* sp., *Cladosporium* sp., *Aspergillus versicolor*, *Acremonium* sp. Справа совместное развитие *Acremonium* sp., *Penicillium* sp., актиномицетов и зубактерий

Рис. 27. Посев пробы нижнего слоя разрушенной штукатурки с того же участка путем рассева пробы в воде и диспергирования в питательной среде (метод прямого посева). Микромицетов в пробах слишком много, чтобы можно было точно просчитать колонии, но можно определить доминирующие формы. На среде Чапека это *Acremonium* sp. и *Aspergillus versicolor*; на среде Чапека с крахмалом супердоминирование *Acremonium* sp.; *Cladosporium* sp. есть на обеих средах, но на среде Чапека с крахмалом он подавлен, кроме микромицетов на среде Чапека с крахмалом выделены колонии актиномицетов и зубактерий



Рис. 28. Посев пробы верхнего слоя разрушенной штукатурки с того же участка путем рассева пробы. На среде Чапека супердоминирование *Cladosporium* sp., затем примерно поровну *A. versicolor* и *Penicillium* sp. На среде Чапека с крахмалом также доминирует *Cladosporium* sp. (81%), но он хуже развивается на этой среде, поэтому плохо

заметен, второй по удельному обилию *Acremonium* sp., кроме микромицетов много колоний зубактерий, актиномицетов значительно меньше, чем в предыдущем случае.

## Посевы и выделение культур микроорганизмов. Метод отпечатков (бакпечатки)



Рис. 29. Белесый налет на стенописи собора Св. Софии в Вологде



Рис. 30. Посев методом отпечатка, южная стена (*Sporotrichum* sp., *Penicillium* sp., актиномицеты, зубактерии). Справа участок отпечатка более крупно. Белые колонии актиномицетов и более крупные белые колонии грибов (*Sporotrichum* sp.)

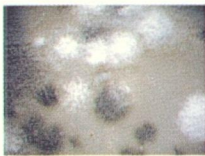


Рис.31. Центральная апсида алтаря. На участке бакпечатки колонии *Cladosporium* sp. (темные) и *Scopulariopsis* sp.

Рис.32. Слева посев с живописи в дьяконнике (*Sporotrichum* sp., *Penicillium* sp., *Scopulariopsis* sp., *Acremonium* sp., *Cladosporium* sp., *Aspergillus* sp., актиномицеты, зубактерии) справа с живописи арки в алтаре (*Penicillium* sp., *Mycelia sterilia*, актиномицеты)

## Определение количества микроорганизмов в пробе

Мониторинг состава и численности микроорганизмов в зонах деструкции белого камня (Дмитриевский собор во Владимире)

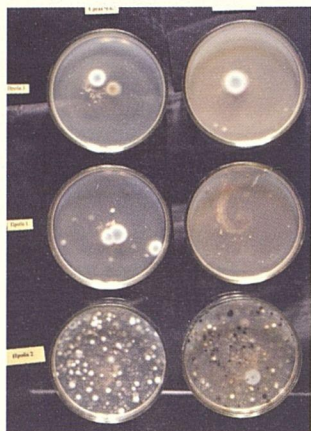


Рис. 33. Уменьшение численности микроскопических грибов и других микроорганизмов в зависимости от высоты отбора пробы (северная сторона северо-восточного столба). Чашки, засеянные пробами деструктированного камня. Нижний ряд 10 см, второй ряд 50-60 см, третий ряд 110-120 см от уровня пола. Слева среда Чапека с крахмалом, справа среда Чапека, на седьмой день роста.

Рис. 34. Уменьшение численности микроскопических грибов и других микроорганизмов, в зависимости от высоты отбора пробы (северная стена жертвенника). Чашки, засеянные пробами деструктированного камня. Нижний ряд 10 см, второй ряд 100 см, третий ряд 120 см от уровня пола. Слева среда Чапека с крахмалом, справа среда Чапека, на седьмой день роста.



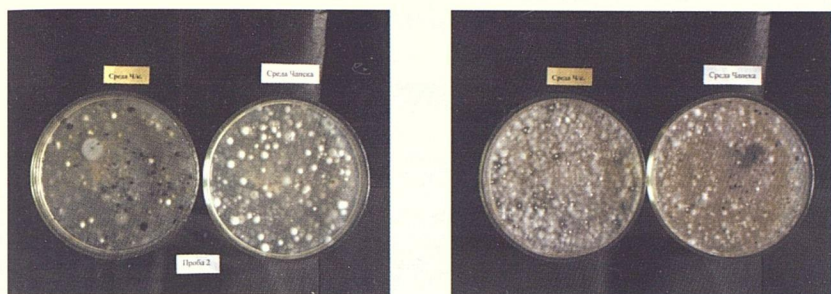


Рис. 35. Разная плотность микробных популяций на одной и той же высоте от уровня пола (10 см), связанная с разным влагосодержанием субстрата. Слева проба 2 – северо-восточный столб, северная сторона, справа проба 6 – северная стена жертвенника, на седьмой день роста

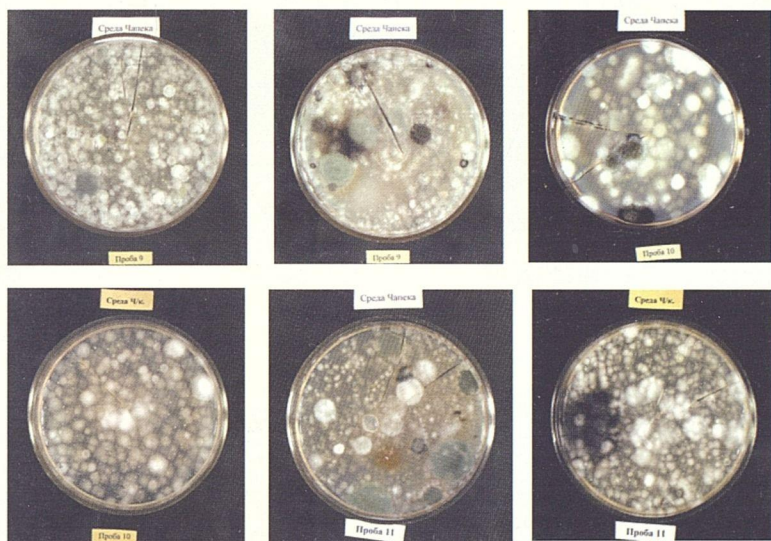


Рис. 36. Камень переувлажнен на значительную высоту. Высокая численность микроскопических грибов и других микроорганизмов на всех уровнях отбора проб (северо-восточный столб, северная сторона). Чашки Петри, засеянные пробами деструктированного камня. Нижний ряд 10-15 см, второй ряд 100 см, третий ряд 130-140 см от уровня пола. Слева среда Чапека, справа среда Чапека с крахмалом на тринадцатый день роста.

## Определение количества микроорганизмов в пробе



Рис. 37. Восточный фасад Оружейной палаты. Белокаменная резьба. Стрелкой показана зона деструкции камня.



Рис. 38. Зона деструкции более детально.



Рис.39. Чашки Петри, засеянные материалом пробы из зоны деструкции белого камня, слева Чапек, справа Чапек с крахмалом, доминирование *Sporotrichum* sp. и *Cladosporium* sp.

## Определение количества микроорганизмов в пробе

Зоны деструкции строительных материалов в помещении архива

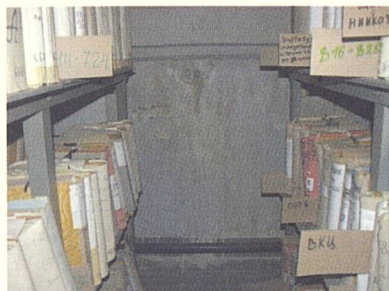


Рис. 40. Общий вид.



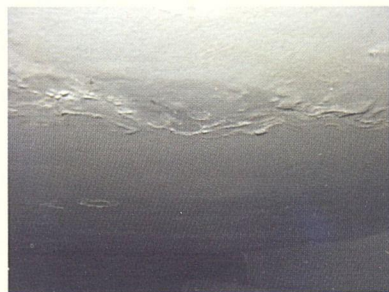
Участок 1.



Участок 2.



Участок 3.



Участок 4.



Участок 5.



## Определение количества микроорганизмов в пробе

Результаты посева проб из зон деструкции строительных материалов. Номера проб соответствуют участкам отбора, показанных на рис. 40.



Рис.41. Доминирование в пробе 1 *Sporotrichum sp.*, в пробе 2 – *A. versicolor*.



Рис.42. Низкая численность микроорганизмов и других микроорганизмов в пробах 3 и 4.



Рис.43. Доминирование в пробе 5 *Acetoniium tigrigit*, к сожалению, темные колонии плохо видны на черном фоне. Доминирование *Sporotrichum sp.* в пробе 6.



Рис.44. Вверху фоновая проба. Внизу посев пробы с участка 8.

## Определение уровня микробной контаминации биолюминесцентным методом

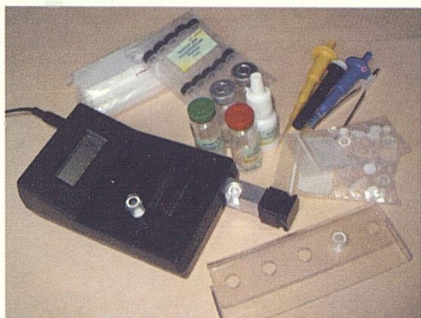


Рис.45. Микролюминометр, модель 3560. Портативный прибор для регистрации хемилюминесценции в видимой области спектра. Пригоден для использования в полевых условиях.

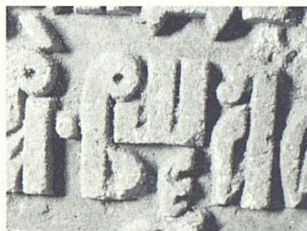


Рис.46. Обрастание закладных плит в Подземной палате колониями микроорганизмов. С поверхности плит отбирались пробы для определения численности микроорганизмов биолюминесцентным методом.



Рис.47. В центре участок настенной живописи в Софийском соборе, с которого были отобраны пробы для определения численности микроорганизмов биолюминесцентным методом.

## Определение микроорганизмов в воздухе

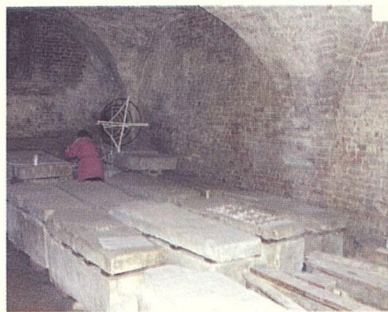


Рис.48. Отбор проб воздуха чашечным методом в Подземной палате.

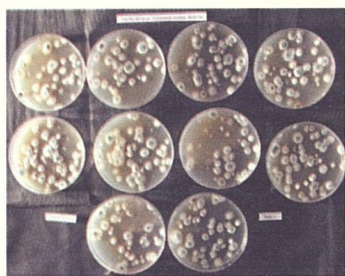


Рис.49. Колонии грибов, развившиеся из спор грибов, осевших из воздуха после часовой экспозиции в зоне 1 Подземной палаты, слева среда Чапека, справа среда Чапека с крахмалом.



Рис.50. Колонии грибов, развившиеся из спор грибов, осевших из воздуха после часовой экспозиции в зоне 3 Подземной палаты, слева среда Чапека, справа среда Чапека с крахмалом.

## Перерождение свинцовых белил

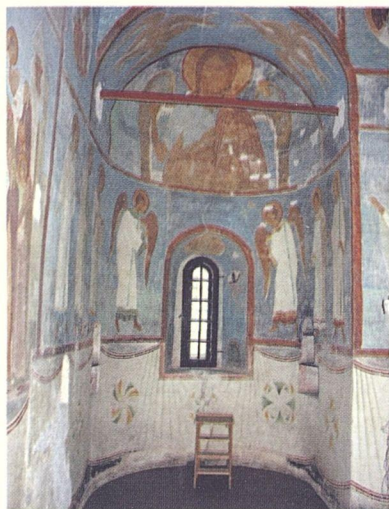
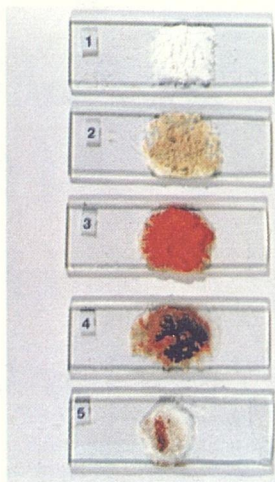


Рис. 51. Рождественский собор Феропонтова монастыря. Участок, на котором живопись была восполнена на реставрационной вставке штукатурного слоя, показан стрелкой. Справа этот же участок, светлый квадрат (стрелка) – пробная реставрационная расчистка. Почернение связано с перерождением свинцовых белил в двуокись свинца.



1. свинцовые белила

2. свинцовые белила после добавления щелочи

3. свинцовые белила после добавления более крепкой щелочи

4. свинцовые белила после добавления щелочи и 3% перекиси водорода

5. то же после добавления уксусной кислоты и 3% перекиси водорода

Рис. 52. Экспериментальное окисление и восстановление свинцовых белил.



Рис. 53. Справа, перерождение свинцовых белил в двуокись свинца на миниатюре (рукопись на пергаменте Морозовское Евангелие), в местах контакта с зелеными (смесь индиго и аурипигмента) участками красочного слоя заставки; слева заставка.



Рис. 54. Инициалы в Морозовском Евангелии. Высветления (пробела) на зеленом (смесь индиго и аурипигмента) написаны аурипигментом, тогда как на синем и красном свинцовыми белилами.

## Бурые пятна на бумаге

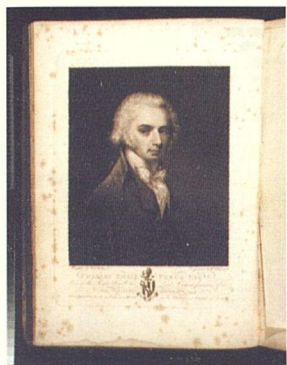


Рис. 55. Гравюра в книге "Sovereign", Лондон, 1800 г. Фоксинги на полях и вдоль натиска гравировальной доски

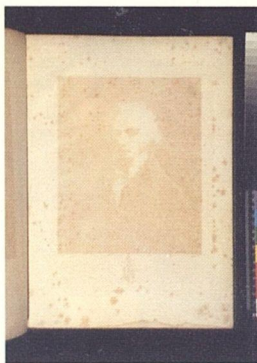


Рис. 56. Оборот гравюры. Фоксинги располагаются преимущественно на полях и на участках, побуревших под действием типографской краски.

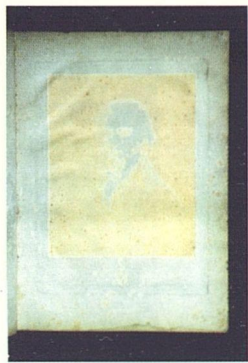


Рис. 57. Люминесценция в УФ области спектра. Свечение периферийной части фоксинговых пятен и границ участков, побуревших под действием типографской краски.

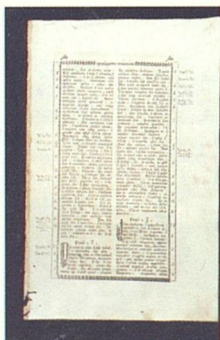


Рис. 58. Лист из Библии, сер. XVIII в. Фоксинги на полях. Слабо заметное побурение бумаги в результате воздействия типографской краски. Слева остатки клея в виде полосы и следы повреждения точильщиком.

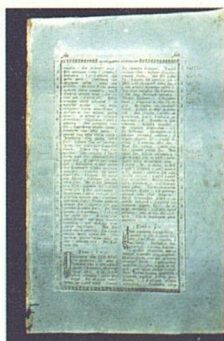


Рис. 59. Люминесценция в УФ области спектра. Бумага на участках локальной окислительной деструкции вследствие действия типографской краски: строки текста, особенно выносные, орнаментальные украшения, имеет белое свеч, также как и края листа, периферические участки фоксингов.

### Приложение 1.

## Виды грибов часто встречающиеся в зоне деструкции строительных материалов

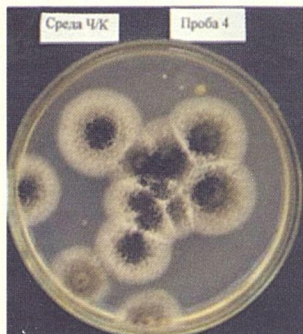
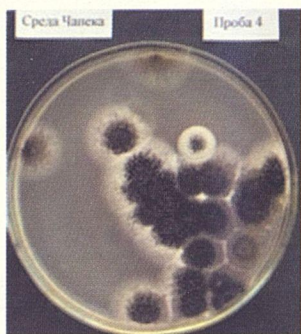


Рис. 60. Колонии *Acremonium tuorum*.

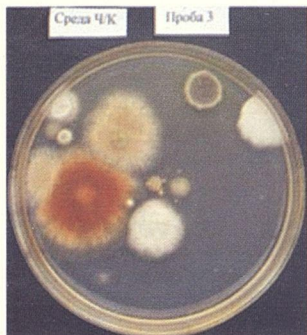
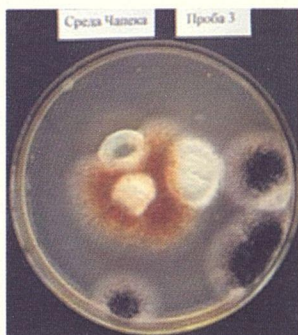


Рис. 61. Колонии *Verticillium lateritium*, цвета ржавчины, *Scoriariopsis brevicaulis*.

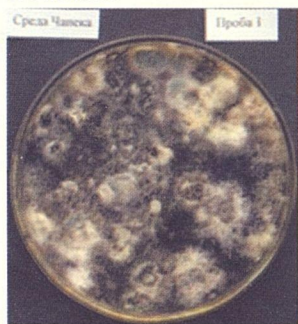


Рис. 62. Сплошной рост колоний *A. tuorum* и *Verticillium sp.*



Рис. 63. Колонии *Sporotrichum* sp., *Scopulariopsis* sp.; *Penicillium* sp.; *Cladosporium* sp., *Ascretonium* sp.



Рис. 64. Колонии *Tritirachium* (*Sporotrichum*) sp.



Рис. 65. Колонии *Mortierella* sp. и актиномицетов (мелкие точечные колонии).



*Научное издание*

**РЕБРИКОВА Наталия Львовна**

**Руководство по диагностике  
микробиологических повреждений  
памятников искусства и культуры**

– М.: Товарищество научных изданий КМК. 2008. 80 с.

Отпечатано в ООО «Галлея-Принт»

Москва, ул. 5-я Кабельная, 2б

Подписано в печать 23.10.2008.

Формат 60х90/16. Объем 5 печ. л. Бум. мел.

Тираж 300 экз.



