

Tallinna Tehnikaülikool Tartu Kolledž

Keskkonnakaitse õppetool

**EHITUSMATERJALINA KASUTATAVATEL
PÕHUPLOKKIDEL ESINEVA MIKROOBIKOOSLUSE
TÕRJE JA SELLE EFEKTIIVSUS SÕLTUVALT
POPULATSIOONITIHEDEST**

Magistritöö tööstusökoloogia erialal

Airika Vettik

Juhendaja: MSc Sander Kutti

Tartu 2014

Autorideklaratsioon

Deklareerin, et käesolev magistritöö, mis on minu iseseisva töö tulemus, on esitatud Tallinna Tehnikaülikooli bakalaureusekraadi taotlemiseks ja selle alusel ei ole varem taotletud akadeemilist kraadi.

Kõik töö koostamisel kasutatud teiste autorite tööd, olulised seisukohad, kirjandusallikatest ja mujalt pärinevad andmed on viidatud.

.....
Kuupäev

.....
Allkiri

SISUKORD

KASUTATUD MÕISTED	4
SISSEJUHATUS	6
1 KIRJANDUSE ÜLEVAADE.....	7
1.1 Ökoloogiline ehitus.....	7
1.2 Põhumajad	9
1.3 Põhk kui ehitusmaterjal	13
1.4 Põhu botaaniline ja keemiline koostis	14
1.5 Põhul esinev mikroobikooslus	15
1.5.1 Bakterid	15
1.5.2 Seened.....	16
1.6 Muutused põhus mikroorganismide elutegevuse tagajärjel.....	18
1.7 Mikroobikoosluse võimalik kahju inimtervisele	19
1.8 Mikroorganismide tõrje	20
2 MATERJAL JA METOODIKA.....	22
2.1 Katse ülesehitus ja proovide võtmine	22
2.2 Kasutatud söötmeplaadid	22
2.3 Vältimistesti läbiviimine esinevate kemikaalidega.....	24
2.4 Populatsioonitihedusest sõltuva inhibitsioonitesti läbi viimine.....	25
2.5 Seenete ja bakterite identifitseerimine	27
3 TULEMUSED	29
3.1 Vältimistest	29
3.2 Populatsioonitihedusest sõltub inhibitsioon.....	30
3.3 Seente ja bakterite identifitseerimine.....	31
4 ARUTELU	32
4.1 Kemikaalide mõju bakterite ja seente elutegevusele	32
4.2 Mikroobikoosluse tõrje sõltuvalt populatsioonitihedusest	33

KOKKUVÕTE	34
SUMMARY	36
TÄNUSÕNAD	38
KASUTATUD KIRJANDUS	39
LISA 1	43
LISA 2	45

KASUTATUD MÕISTED

Aflatoksiin – on väga kantserogeensed omavahel lähedase koostisega ained, mida teatud tingimustel toodavad hallitusseened ja mõned teised liigid.

Aktinomütseedid – bakterite hulka kuuluvad organismid. Sarnaselt mikrosetega moodustub keha hüüfidest. Võivad kahjustada erinevaid objekte.

Allergeen – allergiat põhjustav aine.

Allergia – organismi harilikust erinev tundlikkus või ülitundlikkus mõne aine suhtes. Võib olla kaasasündinud või elu jooksul tekkinud.

Antibiootikumid – keemilised ühendid, mis pärsvivad bakterite elutegevust või hävitavad neid.

Biokahjustus – igasugune ebasoovitatav muutus materjalide või keskkonna omadustes, mille on põhjustanud organismide (kahjurite) elutegevus.

Denaturatsioon – valkudele iseloomulike füüsikaliste, keemiliste ja bioloogiliste omaduste pöördumatu muutumine. Valkude denatureerumist põhjustavad kõrgem temperatuur, happed, alused, lahustid jm tegurid.

Difusioon – aine või energia ülekandumine kõrge kontsentratsiooniga piirkonnast madala kontsentratsiooniga piirkonda.

Eeltuumsed organismid (prokarüooidid) – organismid, kellel puudub rakutuum.

Ehitise (tarindi) tüüp – näitab ehitise (tarindi) tööskeemi, näiteks tala, post, kaar, jätkuvtala jne.

Formaldehüüd – sünteeriliselt valmistatud aine. See on värvitu lõhnaga aine, mis teiste ianetega koergelt reageerib ja UV-kiirguse mõjul laguneb.

Hallitus – hallitusseente kasvav koloonia elutegevuseks vajalikke aineid sisaldaval alusmaterjalil (substraadil).

Hemitselluloosid – koos tselluloosiga taimede rakukestas ja vahelamellis esinevad polüsahhariidid. Väiksema molekulmassiga kui tselluloos.

Kahjuritõrje – tegevused kahjulike organismide keemiliseks või bioloogiliseks hävitamiseks, tõrjeks, kahjustava toime ennetamiseks või muul keemilisel või bioloogilisel viisil nende ebasoovitava tegevuse ohjamiseks.

Ksüleem - ehk puiduosa on taimede juhtkude, mill epeaülesandek son vee transport kogu taime ulatuses.

Ligniin – looduslik fenoolne polümeer, leidub peamiselt puitunud taimeosades.

Mikroseened ehk **hallitusseened** – seeneriiki kuuluvad päristuumsed (eukarüootsed) heterotroofsed, ainu- või hulkraksed organismid, kes ei moodusta makroskoopilisi viljakehasid. Olulised biokahjustajad.

Mütseel – mikroseente keha, koosneb seeneniitidest (hüüfidest). Substraatne mütseel paikneb substraadi pinnal ja sees ning õhkmütseel substraadi kohal. Õhkmütseelil asetsevad harilikult seene paljunemisorganid.

Patogeen - on mikroorganism, harvem ka mingi keemiline aine, mis kutsub taim- või loomorganismis esile haigusi.

Päristuumsed organismid ehk **eukarüoodid** – organismid, kelle rakus esineb membraaniga ümbritsetud tuum.

Tselluloos – looduslik polüsahhariid, mille lineaarsed molekulid koosnevad glükoosijääkidest. Tselluloosi molekulid on vesiniksidemete varal liitunud kimpudeks. Taimsete kiudude põhikomponent.

Õhu relatiivne (suhteline) niiskus – näitab, kui lähedal on õhus leiduv veeaur küllastusolekule. Võrdub absoluutse ja küllastava niiskuse suhtega (protsentides).

SISSEJUHATUS

Maja ehitustööd, sõltumata ehitusmahust, avaldavad keskkonnale eranditult alati negatiivset mõju. Peamiselt tänu sellele, et nii ehitustöödel kui ka hilisemal ehitise sihtotstarbelisel kasutamisel võetakse vajaminev ressurss loodusest – alates kütmisest ja valgustamisest, lõpetades energiakuluga hoone lammutamiseks ning jäätmete käitlemiseks. Ehitustegevuse ja ehitise kasutamise mõju keskkonnale hinnatakse tohutuks.

Ökoloogiline ehitamine on tegevus, mille eesmärk on inimliku, ökoloogiliselt ja ökonoomselt stabiilse elukeskkonna loomine, mis pakub mugavust ja tervislikku sisekliimat, samal ajal kui energia ja ressursid on võimalikult madalad. Eelisteks on materjalide madal energiasisaldus ehk süsihappegaasi emissioon, tervislik sisekliima ning hea soojapidavusest ja –mahutavusest tingitud väikesed küttekulud. Uute ehitustehniliste lahenduste kõrval on uuesti kasutusele võetud ammu tuntud materjalid - savi ja põhk.

Põhuplokkidest on mõistlik ja lihtne ehitada. Põhuplokkiehitus on midagi enam kui vaid uut moodi seinaehitamise tehnika, see on radikaalselt erinev lähenemine tervele ehitamisele. Kahjuks ei sobi põhumaja ehituseks igasugune põhuplokk. Põhk peab olema korralikult kuivatatud ja kokkupressitud. Orgaaniline materjal, mis sisaldab valke ja süsivesikuid kannab endas palju riske. Soodsate keskkonnategurite mõjul hakkavad mikroorganismid põhku paljunema ja tulemuseks on lagunev põhk. Mikroorganismide kasvamise ja paljunemise tagajärjel muutub põhu keemiline koostis ning, mis võib inimestel põhjustada tervisekahjustusi – ärritusi ja allergiaid.

Biokahjustajatest on igal juhul lihtsam hoiduda, kuid neid hiljem kõrvaldada, sest piisavalt tugev mikoobikooslus ei pruugi hiljem enam alluda tõrjele. Õiged tõrjet kasutades on tulemus alati positiivne ehk biokahjustajatest on lahti saadud.

Käesoleva töö eesmärkideks on:

- määrata ehitusmaterjalina kasutataval põhuplokkidel esinev mikroobikooslus;
- uurida kemikaalide mõju mikroobikoosluse elutegevusele;
- uurida kemikaalide efektiivsust sõltuvalt populatsioonitihedusest.

1 KIRJANDUSE ÜLEVAADE

1.1 Ökoloogiline ehitus

Inimesed on endale ilmastikukindlaid eluasemeid ehitanud juba aastatuhandeid. Pika perioodi vältel on vanad ehitusmaterjalid asendunud uutega, loodusest ning kodupaigast aina kaugemal olevatega. (Toome, 2012)

Püüdlus mugavama ja rahaliselt sõltumatu elu poole ole iga inimese unistus, sest tänapäeva stressirohked ja tihedalt asustatud linnad mõjutavad igat inimest. Kui elukvaliteet on raskendatud, siis võib sellel olla negatiivne mõju tervisele. Kõik see viib ühiskonna muutuste teele. Lisaks sotsiaalsetele ja majanduslikele teguritele mõjutab jätkusuutlikuse elustiili suunas liikumist ka pidevalt tõusev energiahind. Näiteks viimase kümne aasta jooksul on naftahind kahekordistunud. Ka kinnisvara on hakanud liikuma uues suunas, pakkudes lõppkasutajale hoonet, millel on madalad energia- ja ülalpidamiskulud ning, mis oleks keskkonnasõbralikest materjalidest ehitatud. (Bauer *et al*, 2007)

Ehitised mõjutavad keskkonda tohutult kogu oma olelusringitsükli etappides. Sellest tuleneb kliimamuutuse probleem, sest energiakasutus ehitusmaterjalide tootmiseks, hoone ehituseks, hooldamiseks ja lammutamiseks on kõrge. Ehitustööstus kasutab 40% kivi ja killustikku, 25% puitu, 16% vett igal aastal üle maailma saadud kogustest. Lisaks kasutab tööstus 40% aastas toodetud energiast ja materjalidest. Vaadates Euroopat, siis oleks 2010. aastal olnud rohkem kui viiendik energia tarbimisest ja kuni 45% miljonit tonni süsinikdioksiidi võimalik olnud säästa kui rakendatud oleks uusi standardeid uutele ja olemasolevatele hoonetele. (Milutiene *et al*, 2007)

Kasutatavaid ehitusmaterjale tuleb saada või toota looduslikest ressurssidest ja selleks läheb vaja energiat. Näiteks punaseid telliseid tuleb põletada ja tsemendi tootmiseks tuleb kaevandada lubjakivi. Kuid osa ehitusmaterjale on looduses olemas ja neid saab kasutada ilma suurema vaevata, näiteks puitu, savi ja õlgi. Tootmine ja looduslike materjalide hankimine põhjustavad peale energiakulu ka heitmeid. See on oluline, sest tootmisel või valmistamisel eralduvad kasvuhoonegaasid ja hapestumist (happvihmad) soodustavad gaasid. (Grätz *et al*, 2011).

Elukeskkondade kaasajastamise kõrgperioodil kasutasid loodussõbralikke ja naturaalseid materjale vaid inimesed, kelle keskkonnateadlikkus oli keskmisest kõrgem. Tänu inimeste üha kasvavale teadmisele keskkonda negatiivselt mõjutavatest teguritest on antud materjalide kasutamise tendents tõusev (Toome, 2012). Inimsõbraliku eluviisi edendajad konstrueerivad oma ökoloogilise ehitise kohandatult selle elanikele. Nende prioriteediks on inimeste üldine heaolu ja tervis ning nende suhtumine kahjustavatesse ainetesse, mida sisaldavad tööstuslikul viisil toodetud materjalid, on hukkamõistev. Elamus soositakse avaraid, õhu- ja valgusküllaseid ruume, mille tarind on ehitatud looduslikest materjalidest. Energiasäästlike ehitajate praegune arusaam majade konstrueerimisest on vastupidine – majad peavad olema võimalikult energiasäästlikud ja efektiivselt soojustatud, sealjuures kasutades modernseid materjale ning tipp tehnoloogilisi süsteeme (Stroh, 2010).

Ökoloogiline ehitus ehk ökoehitus – mõiste, mida kasutatakse tänapäeval tihti, kuid alati pole kindel, mida selle all täpselt mõeldakse. Ehitamisega seoses on levinud väljendid nagu näiteks keskkonnasõbralikkus, energiatõhusus, looduslik, naturaalne, inimsõbralik, roheline, mille sisu võib olla väga erinev. Ökoloogia on teadus organismide ja nende elukeskkonna suhetest, ökoloogiline tähendab keskkonnale sobitatust või allutatust. Ökoloogiline ehitamine on tegevus, mille eesmärk on inimliku, ökoloogiliselt ja ökonoomselt stabiilse elukeskkonna loomine (Stroh, 2010).

Ökoloogilised ehitised pakuvad mugavust ja tervislikku sisekliimat, samal ajal kui energia ja ressursid on võimalikult madalad. Majanduslikel kaalutustel välja töötatud elutsükkel – ideest planeerimiseni, ehitusest renatureerimiseni. Need ehitised põhinevad integreeritud ja tulevikku suunatud lähenemisele. Ökoloogiliste ehitiste rajamisel kasutatakse kohusetundlikult loodusvarasi, see tähendab, mõjutada keskkonda võimalikult vähe ning võimalusel kasutada keskkonnasõbralikke materjale (Bauer *et al*, 2007). Kuigi ökoehituse spetsialiste Eestis napib, on need vähesed nõus oma teadmisi jagama. Internetis leiab hulgaliselt eestikeelset infot ja traditsiooniliste materjalide renoveerimise kui ka ehitamise kohta (Toome, 2012).

Ökomajade eelised võrreldes traditsiooniliste majadega on materjalide madal energiasisaldus ehk süsihappegaasi emissioon, tervislik sisekliima ning hea soojapidavusest ja –mahutavusest tingitud väikesed küttekulud. (Valner, 2010)

Ehituses on pilgud pööratud keskkonnasõbralikkuse peale – mõeldakse nii looduslike materjalide kasutamisele, ümbertöötlemisele kui ka ehitise ülalpidamiskulude vähendamisele. Uute ehitustehniliste lahenduste kõrval on kasutusele võetud ammu tuntud materjale, näiteks savi ja põhk. (Konovalov, 2013)

Hästi ehitatud põhumaja soojusjuhtivuse näitajad on kaks korda paremad kui keskmisel Eestis ehitataval välispiirdel. Looduslikud materjalid ei saasta maja õhku keemiliste ühenditega ning tagavad inimesele parima suhtelise õhuniiskuse. Savi- ja lubikrohv siseviimistluses aitavad tänu oma suurele soojusakumulatsioonivõimele hoida ühtlast temperatuuri. (Konovalov, 2013)

1.2 Põhumajad

Põhuplokkidest on mõistlik ja lihtne ehitada. Põhupallehitus on midagi enam kui vaid uutmoodi seinaehitamise tehnika, see on radikaalselt erinev lähenemine tervele ehitamisele. (Amazon Nails, 2001)

Maailma esimene põhumaja ehitati 19.sajandi lõpus USA-sse Nebraskasse. Ehitus on seotud põhupakkemasina leiutamiselega 19.sajandil (Kalberg, 2013). Sealsed uusasunikud, kes olid saabunud asustamata kõnnumaale vilja kasvatama, ei saanud oma esimese talve eel kätte vajalikke ehitusmaterjale ning puidunappuses kasutati ajutiste ehitiste valmistamiseks põhupakke. Selliselt ehitatud onnid tõestasid ennast aga üllatavalt soojapidavana ning kohalikud ei loobunudki enam neist, vaid panid aluse uudsele ehitustraditsioonile (Loonet, 2008). Põhupalliehitus õitses kuni 1940-ndateni, mil sõda ja samaaegne tsemendi populaarsuse kasv selle praktiliselt välja suretas. 1970-ndate lõpus avastasid Judy Knox ja Matts Myrhman mõned neist algupärastest ehitistes. Nad jagasid oma avastatud leide keskkonnateadliku kuulajaskonnaga, ning peagi liikus läbi roheline liikumise idee edasi (Amazon Nails, 2001). Sellest ajast on põhumajade ehitamise põhimõtte jäänud samaks, muutunud on ainult tehnoloogia, mis pidevalt uueneb (Kuznetsova, 2010).

Põhumaja ehitamise meetod põhineb blokisüsteemil, tehes disainilahenduse ülimalt lihtsaks ja kergeks kasutamiseks (Milutiene *et al*, 2007). Kaasaegse põhumaja ehituses eristatakse üldiselt kolme tüüpi majasid (Hodge, 2006; Milutiene *et al*, 2007; Loonet, 2008; Amazon Nails, 2001):

1. Nebraska ehk *load-bearing* on algupärane ja vanim ehitusviis, mille mõtlesid välja Nebraska asunikud. Tagatakse seinte stabiilsus üleslaotud pöhupakkide jäigaks massiivseks surumisega. Ehitusviisi eeliseks on lihtsus. Ümarad vormid on kergesti saavutatavad. Täielik täpsus pole planeerimise eesmärgiks, suuremad möödalaskmised saab kergesti tagasi õigesse vormi ajada, kuna põhk on väga järeleandlik. Piirangud: toestamata seina pikkus kuni 6m ning akende ja uste pind ei tohi ületada seina pinnast üle 50%.
2. Kandvate seinte meetod. Ehitatakse lisaks pöhupakkidest seintele ka puit- või teraskarkass, mis jääb ise hoidma katuse raskust. Selline ehitusviis võimaldas katuse ehitust enne seinade püstitamist pakkudes seeläbi pöhupallide kaitset vihma eest. Pöhupakke kasutatakse täitematerjalina. Eeliseks on pöhuseina kaitse ehitamise ajal. Aknad ja ukseraamid on stabiilsemad. Teraskarkassiga on võimalik ehitada suuri hooneid. Puudusteks on kallim hind, keerulisus ning suur puidu kulu.
3. Hübriidmeetod. Ehitusviis, mis ühendab kahte ülalkirjeldatud meetodit või kasutab uusi ideid. Pöhupalliehitus on siiski veel eksperimentaalne valdkond, jättes ruumi paljudele uutele ideedele ja uuendustele.

Põhumaja pakub palju eeliseid, alates heast isolatsioonist ja soojapidavusest kuni tervisliku sisekliimani. (Milutiene *et al*, 2007; Grätz *et al*, 2011). Kui suvel näitab termomeeter õhusooja 29°C, siis põhumajas on temperatuur 19°C. Lisaks stabiilsele sisetemperatuurile on majas õhuniiskus 56%, mis olevat inimesele kõige parem (Kalberg, 2013). Põhumajad on orkaani- ning tulekindlad. Krohvitud pöhupaneele katsetati üle tuhande kraadise kuumuse käes, konstruktsioon pidas vastu nõutava 30 minuti asemel vastu üle kahe tunni (Valner, 2010). Põhumaja ehituseks ei sobi igasugune materjal – pöhupakid peavad olema korralikult pressitud ja kuivatatud. Eestis materjali leidmine on keeruline (Grätz *et al*, 2011).

Põhumaja on keskkonnasõbralik, ent hoonel on veel palju muidu häid omadusi (Elsayed, 2000; Amazon Nails, 2001):

- Jätkusuutlik. Põhk on taastuv looduslik materjal, mille tootmisel on energiallikaks päikesevalgus. Põhu kasutamisega väheneb vajadus teiste keskkonnale kahjulikumate materjalide järele. Juhul, kui hoonet enam ei vajata võib selle peale kasutusaja lõppu lihtsalt ära komposeerida.
- Kõrge energiatõhusus, mis on tingitud isolatsiooniomaduste olemasolust. Hästi projekteeritud põhumaja vajab väga vähe energiat, et talvel soe ja suvel jahe oleks.

Pakitud põhu K väärtus on 0,09 W/mK, kombineeritult seinte paksusega reeglina üle 450mm saame U väärtuseks 0,13 W/m²K. See väärtus on kaks kuni kolm korda madalam kui kaasaegsete ehitusmaterjalide puhul ja palju madalam kui praeguste ehitusregulatsioonid ette kirjutavad, milleks on $U < 0,45$ W/m²K. Ehitise soojusisolatsioonivõimet iseloomustab soojajuhtivusega ehk U väärtusega (W/m²K), mis väljendab kui suurel hulgal soojusel (W) õnnestub pääseda läbi ühest ruutmeetrist pinnast, kui seespool seina on temperatuur 1 (Kelvini) kraadi võrra kõrgem kui väljas.

- Põhupalliseinad on akustiliselt hästi isoleeritud. USAs on näiteks kaks helilindistusstuudiot, mis on ehitatud põhupallidest. Samuti on põhupalle kasutatud helibarjääradena lennujaamade lähistel kõnniteede servas ning suurte maanteedee ääres nii USAs kui Euroopas.
- Hea tervisele, kuna ei sisalda värve, kemikaale, liime ega toksilisi aineid. Majas on kombineeritud savi ja lubi, mis on looduslikud. Seinad hingavad, mis tagavad loomuliku, värsket ja tervislikku elukeskkonda. Paksud põhuplokid tagavad müratõkke.
- Hinnaeelis. Odavam materjal, millega saab vähendada maja ehitus eelarvet 5-10%. Kulub vähem soojusisolatsioonile ja energiakulud on väiksemad. Võrreldes tavapärase eluasemega suudab põhumaja küttekulusid vähendada kuni 75%.
- Konstruksioonitööde võimalus. On näidatud, et struktuurselt üles ehitatud põhuplokidest sein talub koormust ca 50 000 kg/m².
- Põhumaja loob tervisliku elukeskkonna. Kuna põhk on orgaaniline, siis on see alternatiiv moodsatele ehitusmaterjalidele. Põhk ei põhjusta heinapalavikku ja on tegelikkuses valitud sobivaks materjaliks paljude allergikute poolt, kuna on ohutu. Elu põhupalliseinte vahel parandab meie hingatava õhu kvaliteeti, kuna ei eralda õhku kahjulikke gaase, nagu näiteks formaldehüüdid, mida mitmed kaasaegsed materjalid eritavad. Kuna tegemist on hingava materjaliga, siis püsib õhk alati värsket.
- Mugavus, loovus ja esteetika. Seinte paksus annab tunda rahulikku, turvalist ja mugavat meeleolu.

Põhumaja sein on tulenevalt põhupaki mõõtudest väga paks – ca 50 cm põhku ja mõlemal pool ca 5 cm krohvi. Üks põhuseina suuri eeliseid on hingatavus – põhk ja krohv seovad hästi niiskust, seetõttu ei ole oht, et tekiks probleeme õhuniiskuse loomulikul liikumisel läbi seina, mis on tervisliku sisekliima oluline komponent (Valner, 2010). Ühe ruutmeetri kandva põhupakkseina ehitamiseks kulub viis-kuus põhupakki (Luht, 2013). Ideaalne ehituspakk on

kuivanud talv läbi varju all, pakitud tugeva nõoriga ja nii tihedalt, et kuupmeetri pakitud põhku kaaluks 80 kuni 120 kg. Kandvate seinade jaoks soovitatakse pakke, mille kuivkaal oleks 112 kg/m³ kohta. Mõõtudega 5 x 5 x 2,44 m hoone seinadele kulub kõige rohkem 130 meetripikkust palli, 150 m² suuruse elumaja ehitamiseks kulub põhku ligi kümme tonni (Klais, 2006). Põhumaja seinapaksus jääb 40 ja 60 sentimeetri vahele, sõltuvalt krohvikihitide paksusest. Tänu põhu heale temperatuuri isoleerimise omadusele soojeneb põhumaja kütmisel kiiresti. Kui soovitakse sooja kaua hoidvat maja, tarvitseks kasutada välisseina siseosal paksu (umbes 5-15 cm) krohvikihiti või massiivseid põrandaid ja siseseinu (Viese, 2010).

Põhumaja püstitamine meie kliimas on võimalik vaid loetud suvekuudel ja ka krohvikihit peab jõudma enne sügiskülmade saabumist korralikult kivistuda. Seetõttu on mõistlik alustada planeerimist ja info kogumist juba talvel või veel parem, sügisel, kui põhupakke on võimalik järgmiseks suveks soodsalt valmis osta. (Klais, 2006)

Ameerikast alguse saanud põhumajade ehitamine on viimastel aastatel kiire hüppe teinud ka Euroopas (Kuznetsova, 2010). Põhumajadel on suur tulevik, sest inimeste huvi selle vastu on märgatavalt kasvanud. Ehitustööstus Eesti, Lätis ja Leedus on kasvanud kiiresti, ning tarbijad ja ehitajad otsivad aina uusi, tõhusamaid ja majanduslikult odavamaid lahendusi ehitamiseks. (Milutiene *et al*, 2007)

Taani ehitati esimene põhumaja 1998ndal aastal, kuid alates 90ndate keskpaigast on põhumajad ökoloogilise traditsiooni üks osa. 2001 aastal algatati programm SBI – Danish Building Research Institute, mille rahastajaks oli Taani valitsus. Programmi raames kontrolliti põhumajade soojustus, heliisolatsiooni, niiskust, tulekindlust, põhuplokkide pakkimist ja nende omadusi. Nüüdseks on professionaalsed põhumajaehitajad, kes iga aasta ehitavad 10-20 maja, jagavad oma kogemusi, et tagada kõrge kvaliteet. 2007ndal aastal oli Taanis umbes 150-200 põhumaja. Läti esimene põhumaja projekteeriti Camphilli külla Rožkalni 2000ndal aastal Norra arhitekti Rolf Jakobseni poolt. 1996 aastal avastas Leedu arhitekt Petras Devizis enda jaoks põhumaja. Esimene põhumaja ehitati Taraldziai külla, järgmine ehitati 2002 aastal. 2005ndal aastal ehitas jurist, kellel puudus ehitusalane haridus, oma perele ise põhumaja, võttes mitmeid konsultatisoone Petras Devizilt. Jurist tõestas, et põhumaja ehitus on lihtne tehnoloogia ja kõik, kes vähegi soovivad saavad selle ehitamisega hakkama. (Milutiene *et al*, 2007)

2004-ndal aastal ehtiati Eestisse esimene põhumaja, milleks oli saun. Põhumajade ehitus sai hoo sisse 2006 suvel (Milutiene *et al*, 2007). Ilmselt Eesti kõige kuulsam põhumaja on 2011. aasta suveks ehitatud NO99 Põhuteater, mis algselt asus Tallinnas ja hiljem kolis Lilleorgu. (Toome, 2012)

Põhupalliehituse levimisega maailmas on kogunenud palju kogemusi, teadmisi ja välja on kujunenud uued ehitusstiilid. Kuid mis on sobilik ühes kliimas ei pruugi osutada parimaks praktikas teises. Samuti on erinevad materjalide hinnad ja kättesaadavus eri riikides. (Amazon Nails, 2001)

1.3 Põhk kui ehitusmaterjal

Viimase 15 aasta jooksul on põhumajade ehituse vastu huvi suurenenud, just põhu suurepärasele soojus- ja heliisolatsiooni omadustele. Põhul on madalama energiaga tootmisprotsess, kui teistel ehitusmaterjalidel. Lisaks põhk isoleerib süsinikdioksiidi fotosünteesi abil vähendades selle sisaldust atmosfääris. Need omadused teevad põhumajast maja, millel puudub ökoloogiline jalajälg. (Lawrence *et al*, 2009)

Põhk on tervislik, odav ja tehnoloogiliselt lihtne materjal. Ehituseks sobilike põhupakkide tegemine nõuab eraldi tegemist. Esiteks ei pressita põhku siis väikesteks pakipressiga ja teiseks pole lihtsalt säilitamiseks mõeldud põhupakkide tihedus ja põhu kvaliteet enamasti ehitamiseks piisav (Luht, 2013). Põhku toodetakse nõuetele, nii on see odav ja kergesti kättesaadav. Selline põllukultuuride kasvatamine ehituse eesmärgiks on jätkusuutlik ja ökoloogiline viis. Põhk kui ehitusmaterjal pakub palju võimalusi ning arvatakse, et nii mõnigi on veel avastamata. (Milutiene *et al*, 2007)

Põhk on kiudmaterjal, mis saadakse loodusliku kuivatamise teel teraviljataimedest või muudest kuivtaimedest. Omaduselt on tegu kerge materjaliga, mille levik katab kogu Euroopat. Selle tõttu on põhk materjal, mille transpordiks kulutatakse minimaalselt energiat. Põhk pressitakse tarnimise lihtsustamise eesmärgil erineva suurusega pallideks. Hetkel on enamlevinud põhuplokkidest majad puitkarkasstarandiga, mille sees on kasutatud soojustuseks põhuplokke. Samuti võib põhku kasutada isolatsioonimaterjalina põrandates, hoone alusplaadis, sarikate vahel või väliskihis. Sõltuvalt karkassist saab põhku kasutada ka koormuskandvas tarindis, kuid seda reguleerivad ehitusnormid. Põhk seob endas süsinikku, mis põhu töötlemise ajal väga minimaalselt vabaneb. Sellest tulenevalt on põhk ideaalne

keskkonnahoidlik materjal omades väikest energiasaldust. Tähtis on mainida, et põhk ei ole paslik materjal majade masstootmise ja ehituse industrialiseerimise korral. Põhu lõpp-tarbimine on äärmiselt aja- ja töökulukas ning seetõttu on välistatud materjali masstootmine. Eelkõige on põhk põnevaks valikuvariandiks neile, kes on oma kodu rajamisel valmis rohkem tööd tegema (Grätz *et al*, 2011). Põhk on kaks ühes ehitusmaterjal ja soojusmaterjal, ning on üks keskkonnasõbralikumaid materjale (Loonet, 2008).

Põhk on orgaaniline materjal, mis kannab endas palju riske. Esiteks on põhk äärmiselt tuleohtlik. Teiseks sisaldab põhk valke ja süsivesikuid, mis aitab säilitada elu putukate ja näriliste näol. Kolmandaks põhk laguneb (aeroobselt ja anaeroobselt) õigetes keskkonningimustes. Neljandaks põhul on struktuuriline ebastabiilsus – põhupallid, -plokid on madala surve- ja paindetugevusega ning jäigad. (Lawrence *et al*, 2009)

1.4 Põhu botaaniline ja keemiline koostis

Põhk on looduslik kiud, mis võib püsida aastaid õigetest tingimustel. Vastavates tingimustes laguneb põhk aeglaselt, nagu kõik teised looduslikust kiust materjalid nagu puit, paber, puuvillane riie jne. Lagunemiskiirus oleneb keskkonnast, kus põhku hoitakse, üldjuhul niiskusesisaldusest ja temperatuurist. (Summers *et al*, 2003)

Kõrred või õled on struktuurne materjal, mis hoiab taime püsti. See kiustruktuur koosneb tselluloosi, hemitselluloosi ja ligniini kiududest. Pärast taime koristamist ja kuivamist jääb struktuur samaks (Summers *et al*, 2003). Kõrs ehk vars koosneb lühikestest jäikadest paksenenud kõrresõlmedest ja viiest kuni seitsmest pikast õõnsast torujast sõlmevahest. Kõrred kasvavad nii tipust kui sõlmede pealt, ning iga sõlmevahe on pikem temast allpool olevast sõlmevahest. Kõrre pikkus sõltub sordist ja kasvutingimustest. Kõrs koosneb kolmest osast – kõrresõlmedest, sõlmevahedest ja lehtedest. Nende proportsioon erineb paljudest teguritest – liigist, saagist, pinnasest, kliimast jne (Vessart, 2011).

Rakukest koosneb kolmest struktuurilisest süsivesikust: tselluloos, hemitselluloos ja pektiin. Kõrgeim tselluloosi sisaldus on odral, väikseim nisul. Teised koostisosade jäägid säilitatakse polüsahhariidides, nagu glükoos ja fruktoos. Ligniin moodustub struktuurilt keeruliste ainete sidumisel kovalentselt külghelate pidi ksüleemi rakukestas. See on takistuseks struktuursele süsivesikutele lagundamisele ja häirib mikroobset tegevust. (Antongiovanni, Sargentini, 1991)

Elustaime rakukestas on struktuurilised valgud. Sisaldus sõltub pinnase tingimustest, väetistest, saagist, kliimast, kõrre kasvamisest jm. Enamik valke seostub teiste rakukesta koostisosadega (ligniin, struktuurne süsivesik, ränidioksiid), mille tulemusena lagunevad ja seeduvad kõrred halvemini. Mineraalid on veel üheks takistuseks süsivesikute lagundamisel. Peamine mineraal kõrres on ränidioksiid. (Antongiovanni, Sargentini, 1991)

1.5 Põhul esinev mikroobikooslus

Mikroobikooslus põhul pakub huvi ehitajatele, sest need mikroorganismid pallitakse põhupallidesse ja transporditakse maja seina. (Wihan, 2007)

Bakterid ja seened on üldlevinud. Bakterite ja seente eosed, ning bakterid ise, on ainuraksed, mis levivad õhu kaudu ja loomade poolt. Maatüki mikroobikooslus erineb iga aasta. Otsustavaks teguriks on toitainete kättesaadavus. Taime pind, fülloosfäär on mikroorganismidele väga vaenulik keskkond, kus on kõikuv temperatuur ja suhteline niiskus. Mikroorganismid on sageli häiritud UV kiirguse ning pidevalt muutuva niiskuse käes. Fülloosfäär pakub piiratud toitainete ressursse. Hoolimata stressirohkest keskkonnas on taimel erinevaid bakterite ja seente kolooniad. Uuringud on näidanud, et rukki ja nisu taimel paiknevad kuni 85 eri liiki mikroorganisme. Suurem osa fülloosfäärist on bakterite all, seened on peamiselt eose kujul. Suurema osa bakterite populatsiooni võib vihm ära uhuda või UV-kiirgus või seen tappa, kuid tundub, et nad on harjunud raske elukeskonnaga. (Wihan, 2007)

1.5.1 Bakterid

Bakter on prokarüoot ehk eeltuumne organism, kellel puudub membraaniga piiritletud tuum ning sisemuses on tunduvalt vähem erinevaid organelle ja membraanseid struktuure (Clynes, 2009). Baktereid pole võimalik palja silmaga näha, kuid neid esineb kõikjal üsna suurel hulgal. Nad toituvad osmootselt, omastades nii väliskeskkonnast vees lahustunud toitaineid kogu raku pinnaga ja eritavad rakust välja ainevahetude jääkprodukte. Baktereid leidub kõikjal, kuid aktiivselt kasvavad nad seal, kus on vett. Temperatuur ei ole seejuures eriti oluline, kuid enamik bakteritest eelistab siiski soojemat kliimat. Bakterite hulgas on nii hetero- kui ka autotroofseid organisme. Autotroofsed bakterid kahjustavad enam anorgaanilisi ja heterotroofsed orgaanilisi materjale. (Konsa, Pilt, 2012)

Tsüanobakterid on bakterid, kelle rakud sisaldavad klorofüllit, järelikult on tegemist autotroofsete organismidega. Neil on ühiseid jooni nii bakterite (raku ehitus, biokeemiline koostis) kui ka vetikatega (fotosünteesivõime). Tsüanobakterite kasvuks ja arenemiseks hädavajalikud keskkonnatingimused on valgus ja niiskus. Samal ajal on nad vastupidavad läbikuivamise ja veestressi suhtes, suudavad kasvada valguse väikse intensiivsuse juures, taluda ka valguse tugevat intensiivsust ja kõrget temperatuuri. Tsüanobakterid on hoonetel üsna levinud organismid. (Konsa, Pilt, 2012)

Aktinomütseedid moodustavad sarnaselt tsüanobakteritega iseseisva rühma bakterite hulgas. Samas on neil mitmeid sarnaseid jooni seentega – keha ehk mütseel moodustub kiirjalt hargnenud üherakulistest niitidest (hüüfidest). Aktinomütseedid on väga tavalised müüridel, tellistel, krohvipindadel ja freskodel. Üldjuhul esinevad nad väga niisketes tingimustes ja pinnasega kontaktis olevatel materjalidel. Intensiivse kasvu korral on seintel naha valkjast või hallikas mütseel. Valisel vaatlusel sarnanevad aktinomütseedid hallitusseentega. Nad on äratuntavad iseloomuliku pinnaselõhna järgi. Nende kasv ei ole küll nii ulatuslik kui bakteritel või hallitusseentel, kuid nad on vähetundlikud erinevate keemiliste ja füüsikaliste desinfitseerimismeetodite suhtes. (Konsa, Pilt, 2012)

Põhk sarnaneb oma keemilise koostise poolest puidule, koosnedes tselluloosist, polüsahhariitidest ja ligniinist (Ghaffar, Fan, 2013). Kuna kirjanduses pole täpselt välja toodud spetsiifilisi bakterite perekondi ega liike, mida võib leida põhult, siis võib järelda, et identifitseerimisel leiame bakterite perekondi, mis leiduvad ka puidul.

Puidult leitud bakterite perekondi - *Acinetobacter*, *Alcaligenes*, *Bacillus*, *Citrobacter*, *Clostridium*, *Corynebacterium*, *Enterobacter*, *Envinia*, *Pseudomonas*, *Rhodococcus*, *Serratia*, *Streptomyces*. (Gaylarde, Morton, 1999)

1.5.2 Seened

Seened on eukarüootid ehk päristuumsed organismid, kelle rakud on päristuumset tüüpi. Rakutuumas asub geneetiline informatsioon, mis on membraaniga ümbritsetud organel. Seente niidistik on suurem ja nähtavam kui bakteritel (Clynes, 2009). Seened toituvad juba valmis orgaanilisest ainest, lagundades seda endale toiduks sobivateks aineteks. Nad kohanevad kergesti erinevate tingimustega, seetõttu leidub neid praktiliselt kõikjal, kus on orgaanilist ainet, eriti puitmajades. Sõltuvalt kasvu iseloomust eristatakse substraatset ja

õhkmütseeli. Substraatne mütseel paikneb substraadi pinnal ja sees. Suurem osa mütseelist asub harilikult kasvusubstraadi sees, seetõttu on seente tekitatud kahjustused alati märksa ulatuslikumad, kui esmapilgul arvatakse. Õhkmütseel asetseb substraadi kohal, üksikustes punktides sellele toetudes. Harilikult moodustavad õhkmütseelil paljunemisorganid. (Konsa, Pilt, 2012)

Seente kõige olulisemaks keskkonnateguriks on niiskus, mis on vajalik toitainete difusiooniks rakku, samuti rakusiseseks metaboliks. Erinevatel seeneliikidel on niiskusevajadus erinev. Hallitusseened on võimelised kasvama ka siis, kui suhteline õhuniiskus on kõigest 60%. Seened taluvad küllalt hästi nii madalaid kui ka kõrgeid temperatuure, nad on võimelised kasvama laias temperatuurivahemikus (-5 kuni +50°C). Seente kasv ja areng võivad ebasoodsates tingimustes peatuda, kuid eluvõime säilib (Konsa, Pilt, 2012). Põhult leitud seeneliike näitab Tabel 1.

Tabel 1. Seeneliigid, mis on leitud ehitushoonetelt, võimalik koloniseerimine põhumajadel.
(Clynes, 2009)

Perekond	Liik
<i>Eurotium</i>	<i>Repens</i>
<i>Aspergillus</i>	<i>Sydowii, ustus, versicolor</i>
<i>Penicillium</i>	<i>Brevicompectum, chrysogenum, corylophilum, expansum, polonicum, palitans</i>
<i>Cladosporium</i>	<i>Sphaerospermum, herbarum</i>
<i>Alternaria</i>	<i>Tenuissima</i>
<i>Rhodotorula</i>	<i>Rubra</i>
<i>Stachybotrys</i>	<i>Chartarum</i>
<i>Ulocladium</i>	<i>Chartarum, atrum</i>
<i>Chaetonium</i>	<i>Globusum</i>

Eestis ehitushoonetest kõige sagedamini esinevad mikroseente perekonnad (Nuter, Baklan, 2012):

- Kerahallik (*Aspergillus fumigatus*, *A. versicolor* ja *A. flavus*), mille mõningad liigid produtseerivad mürgiseid aflatoksiine ning tekitavad ohtlikku mükoosi – aspergilloosi.

- Pintsellhallik (*Penicillium*), mis on siseruumides alati olemas, isegi puhtas keskkonnas. See nn moosipurgi-hallitus muutub probleemiks siis, kui seeneeoseid on siseõhus rohkem kui välisõhus.
- *Cladosporium*, mille mõningaid liike loetakse tugevateks allergeenideks, on kõigesõoja. Ta võib hakata kasvama nii mööblil, riidel, värvitud pindadel, ventilatsioonitorudes kui ka silikoonil.
- Musta hallitust (*Stachybotrys chartarum*), mis kasvab rohekasmustade kolooniatena ning eelistab kõrge tselluloosi- ning madala lämmastikusisaldusega materjale, peetakse ohtlikuks tema võime tõttu sünteesida mükotoksiine. Suuremat tihutööd alustas ta seoses uudsete loodussõbralike ehitusmaterjalide kasutuselevõtuga. Suudab kasvada märjal heinal, põhul, tapeedil, laepaneelidel, kipsplaatidel ning tselluloosi sisaldavil isolatsioonimaterjalidel. *Stachybotrys chartarum*i tuvastamine on keerukas, see eeldab nii pinnaseproovide võtmist kui ka erisöötme kasutamist. Seenest vabanemiseks tuleb kindlasti rakendada eritõrjemeetmeid ja ettevaatusabinõusid. Viimastel aastakümnetel on just see hallitusseen põhjustanud kõige enam paanikat ning andnud alust tuhandeteks kohtuvaidlusteks ehitajate, maaklerite, kindlustusseltside ja kinnisvaraomanike vahel.

1.6 Muutused põhus mikroorganismide elutegevuse tagajärjel

Põhk on toiduallikaks mikroorganismidele nagu bakterid ja seened. Sobivates tingimustes on mikroorganismide olemasolu esmatähtis just põhu lagunemisel nagu kompostimisel (Summers *et al*, 2003). Põllult korjatud ja pakitud põhus on juba mikroorganismid olemas. Andes neile õiged keskkonnatingimused suudavad nad kiiresti kasvada ja paljuneda. Viis peamist keskkonnategurit, mis mõjutavad mikroorganismide paljunemist ja sellega põhu lagunemise kiirust – toitained, valgus, hapnik, temperatuur ja niiskus. Näiteks, kui põhuplokk pole enne hoonekonstruktsiooni paigutamist korralikult ära kuivatatud, siis suure tõenäosusega hakkab mikroorganismide toimel põhk lagunema (Konsa, Pilt, 2012; Summers *et al*, 2003). Enamikul juhtudest on objektide kahjustused põhjustatud erinevate tegurite koosmõjust ning seetõttu on kahjustuste täpset iseloomu raske kindlaks määrata (Konsa, Pilt, 2012).

Taime läbivad eluaja jooksul mitmed lahustunud anorgaanilised elemendid - toitained, sealhulgas hapnik, vesinik, süsinik ja lämmasik. Kasvava taime mõned toitained muutuvad molekulideks, luues uusi orgaanilisi aineid uue taime jaoks. Taime lagunemisprotsessis toimub vastandlik tegevus. Pärast saagikoristust on põhk orgaaniliste ainete hoidla. Keemilise

lagundmise käigus, mille algatajateks on kindel ensüüm, mis vabaneb bakterite, seente või lihtsamalt öeldes mikroorganismide toimel, muutuvad orgaanilised elemendid anorgaanilisteks. (Wihan, 2007)

Seened lagundavad puidu struktuurseid komponente rakuseinas – tselluloosi, ligniini ja hemitselluloosi. Puitu lagundavate seente kahjustatud materjal säilib esialgu enam-vähem terve kahjustamata puidu kuju, kuid tema kaal ja tihedus vähenevad, olenevalt protsessi intensiivsusest ja kestvusest muutuvad puidu mehaanilised, füüsikalised ja keemilised omadused. (Konsa, Pilt, 2012)

Kuna bakterid ja seened on peamised lagundajad, siis nende kasvamise ja paljunemise tagajärjel muutub põhu keemiline koostus - põhk kaotab kuivainesisaldust ning muutub niiskusesisaldus. (Klamer *et al*, 1998; Chico-Santamarta *et al*, 2011). Kuna lagunemise käigus muutub keemiline koostus, toimuvad muutused ka mikroobikoostuses, sest mikroobidel on ainevahetus erinev ja seetõttu lagunevad põhuühendid erinevalt. Mikroobid, kes lagundavad kiiremini muutuvad ka domineerivaks. Katsed on näidanud, et esialgses lagunemisfaasis domineerivad bakterid, kuna on võimelised kiiresti kasvama kergesti kättesaadavate ühendite olemasolul – valgud, suhkrud, tärklis. Seened kasvavad aeglasemalt, kuna suudavad raskeid ühendeid lagundada – tselluloos ja hemitselluloos (Marschner *et al*, 2011)

1.7 Mikroobikoosluse võimalik kahju inimtervisele

Inimesed veedavad suurema osa oma ajast siseruumides, sellepärast on väga tähtsal kohal õhukvaliteet. Saastunud õhk mõjub inimese tervisele negatiivselt, tekitades allergiaid, infektsioone või mürgitusi. (Khan *et al*, 2012)

Rakuseina ehitusest sõltuvalt jagatakse bakterid grampositiivseteks ja gramnegatiivseteks. Gramnegatiivsete bakterite rakuseina üks komponentidest on endotoksiin ja see koosneb peamiselt lipopolüsahhariididest, valkudest ja fosfolipidest. Keskkonnas, kus lagundatakse orgaanilist ainet täheldatakse reeglina kõrget endotoksiinide taset. Selle sissehingamisel võib tekkida hingamisteede haigus või häire. Endotoksiiniga kokkupuutel võib avalduda astma, bronhiit ja hingamisteede tundlikkus. (Madsen, Nielsen, 2010)

Erinevalt hallitusseentest on majaseente mõju inimesele oluliselt väiksem. Majaseenteks nimetatakse puitu lagundavaid seeni, mis on võimelised elama hoonetes. Enamus majaseente

eoseid on ärritava või allergilise toimega seetõttu, et nende eosed on hallitusseente eostest oluliselt suuremad ja seega ärritavad limaskestasid ja hingamisteid. Majaseente eosed ei erita mükotoksiine ega meile inimesele ohtlikke aineid. Majaseente eoste mõju võib käsitleda nagu orgaanilist tolmu, mis tekitab kuiva köha, silmade-, kurgu- ning nina ärritusi. Majaseente niidistik ja viljakehad on enamasti happelised, seega võivad kokkupuutel nahaga olla ärritavad ja kergelt söövitava toimega. (Pilt, 2014a)

1.8 Mikroorganismide tõrje

Kuna igal juhul ja alati on märgatavalt lihtsam biokahjustajatest hoiduda, kui neid hiljem hävitada, siis on ülioline tunda biokahjustajate limiteerivaid keskkonnategureid. See võimaldab luua kahjutekitavate organismide kasvuks ja arenguks võimalikult ebasoodsad keskkonnatingimused. Iga elusorganism vajab eluks elementaarseid ressursse – toitu, vett, varjupaiku. Seega suudab iga konkreetne elupaik ülal pidada vaid teatud suurusega populatsiooni. Soodsates elukeskkondades on raske organisme täielikult hävitada, sest ka suure hulga populatsiooni hävitamisel tõuseb ellujäänute viljakus ning organismide arvukus taastub, kuid muutes keskkonnatingimused ebasoodsateks, hävib populatsioon iseenesest. (Konsa, Pilt, 2012)

Esmaseks ülesandeks biokahjustuste tõrjel on alati alustada kahju tekitavate organismide elukeskkonna muutmist ebasoodsaks. Selleks on oluline teada antud tingimustes limiteerivaid tegureid organismide suhtes. (Konsa, Pilt, 2012)

Puit, nagu ka põhk, on orgaaniline materjal, mis allub kergesti kahjustavatele teguritele nagu mädanik. Puidu kaitseks bioloogiliste kahjustuste eest on kõige efektiivsemateks ja praktilisemateks meetoditeks puidu antiseptimine või konserveerimine. Antud meetodid põhinevad mikroorganismide toksiliste ainete kasutamisel eesmärgiga hävitada puidus esinevad mikroorganismid või luua ebasoodne eluks ebasoodne keskkond. Antiseptimine tähendab õhukese antiseptikumikile pealekandmist puidu pinnale, mis pakub lühiajalist kaitset seenkahjustuste eest. Konserveerimiseks nimetatakse puidu pikaajalist kaitset bioloogiliste kahjustuste eest. Erinevalt antiseptimisest, viiakse konserveerimisel antiseptikumid immutusmeetodit kasutades puitmaterjali sisse. (Reiska, 2012)

Boorühendite seenevastane mõju on tuntud ning neid loetakse üheks paremaks ja püsivamaks puidukaitsevahenditeks (Reiska, 2012). Boorhapel (H_3PO_3) on mürgine mõju organismidele

ning söövitav taimedele. Täpselt samamoodi nagu naatrium-hüpokloriidi lahus (NaOCl), mis on registreeritud biotsiidina. Mõlemad kemikaalid on väga mürgised, põhjustavad põletusi, ärritavad silmi, hingamisteid ja nahka. Kemikaalidega töötades on vajalik piisav üldventilatsioon ja kohttõmme, nende puudumisel kasutada sobivat hingamisteede vahendit. Kasutada kaitsekindaid, silmade ja näo kaitset. Boorhape on stabiilne ja niiskustundlik (HNK, 2014)

2 MATERJAL JA METOODIKA

2.1 Katse ülesehitus ja proovide võtmine

Käesoleva magistritöö eesmärgiks oli uurida ehitusmaterjalina kasutatavatel põhuplokkidel esinevat mikroobikooslust, katsetada mikroobikoosluse tõrjevõimalusi ja selle efektiivsust sõltuvalt populatsioonitihedusest. Katse läbiviimiseks hangiti põhuplokk, mis koosnes peamiselt rukki teraviljast. Mikroorganismid pandi kasvama söötmeplaatidele, mille koostisosad on toodud alampeatükis 2.2.

Hangitud põhuploki suurus oli 20x40x10cm, mida hoiti üks kuu kinnises ruumis, mille keskmine temperatuur oli 15 °C. Kuu aja möödudes lõigati põhuplokki erinevatest kohtadest ühe sentimeetri suurused põhutükid, mis hiljem peenestati ning lisati eelnevalt valmistatud puhverlahusele – kaaliumfosfaatpuhvri. Igale söötmeplaadile pandi 1ml põhukülvi, mis hõõruti pindkylvina spaatliga söötmeplaati ning plaat asetati inkubaatorisse 30°C juurde üheks nädalaks. Ühe nädala möödudes loeti kõikidel söötmeplaatidel nädala jooksul kasvama läinud bakterite ja seente kolooniad.

Söötmeplaatide valamist ja ümberkylvamist tehti iga nädal ja nii kuus nädalat ehk kuus korda, et bakterid ja seened oleksid võimalikult uued ja harjunud uute elutingimustega. Mikroorganismid kasvasid ja paljunesid optimaalse temperatuuri juures, milleks oli 31°C (Summers, 2003, Hasenberg, 2011). Umbes üks nädal peale ümberkylvamist on bakterid ja seened piisavalt kasvanud ja paljunenud, et moodustavad tugevaid kolooniad.

2.2 Kasutatud söötmeplaadid

Mikrobioloogia jaoks tehti söötmeplaadid, millele pandi kasvama vastavalt kas bakterid või seened. Bakterite jaoks koostati söötmeplaadid, mille koostisosad on toodud tabelites 4 ja 5. Kasutati kahte erinevat retsepti, kuna trüptiksoja sai laboritöö käigus saastatud ning muutus kasutuskõlbmatuks. Bakterite (I) söötmeplaatide tegemiseks segati kokku agar, trüptiksoja ja destilleeritud vesi ning pandi ahju 110°C juurde autoklaavima 30-60 minutiks või seniks kuni agar oli lahustunud. Peale autoklaavimist jahutati söödet ning lisati eelnevalt kokku segatud tsükloheksimiidi ja alkoholi lahus, mis takistab seente elutegevust. Lahus lisati jahtunud söötmele, et see ei kaotaks oma mõju. Jahtunud sööde valati Petri tassidesse ning oodati selle täielikku tahkestumist.

Bakterite (II) söötmeplaatide tegemiseks kasutati pärmiekstrakti, peptooni, soola, agarat ja destilleeritud vett. Kõik ained segati omavahel kokku ning pandi ahju 110°C juurde autoklaavima 30-60 minutiks. Söötme lasti jahtuda ning seejärel valati Petri tassidesse ja oodati selle täielikku tahkestumist.

Tabel 2 *Bakterite (I) söötmeplaadi koostisosad*

3,75 g	Agar
10 ml	trüptiksoja
240 ml	destilleeritud vett
0,2 g	tsükloheksimiid
10 ml	alkohol (90% piiritus)
KOKKU 250 ml	

Tabel 3 *Bakterite (II) söötmeplaadi koostisosad*

0,5 g	pärmiekstrakt
1,25 g	peptoon
1,25	sool
3,75 g	agar
250 ml	destilleeritud vett
KOKKU 250 ml	

Seente jaoks koostati söötmeplaadid, mille koostisosad on toodud tabelis 6. Seente söötmeplaatide tegemiseks segati kokku agar, linnaseekstrakt, kloramfenikool ja destilleeritud vesi. Söötme koostisosas olev kloramfenikool on aine, mis takistab mikroobirakus valgusünteesi ja pärsib seega bakterite elutegevust. Seejärel pandi sööde ahju 110°C juurde autoklaavima 30-60 minutiks või seniks kuni agar on lahustunud. Peale autoklaavimist lasti söötme lasti jahtuda ning valati Petri tassidesse ja oodati selle täielikku tahkestumist.

Tabel 4 *Seente söötmeplaadi koostisosad*

3,75 g	Agar
5 g	linnaseekstrakt
0,05 g	kloramfenikool
250 ml	destilleeritud vett
KOKKU 250ml	

2.3 Vältimistesti läbiviimine esinevate kemikaalidega

Vältimistesti läbiviimiseks kasutati alapeatükis 2.2 eelnevalt valmistatud mikroorganismidega söötmeplaatide ning kahte kemikaali. Bakterite tarvis valmistatud söötmeplaatidel kasutati tabelis 4 nimetatud söötmeplaatide koostisosasid. Kemikaalideks osutusid boorhape ja naatrium-hüpokloriidi lahus. Boorhape osutus valituks sellepärast, et Eesti ehitajad kasutavad antud kemikaali puidu töötlemiseks ning naatrium-hüpokloriidi lahuse puhul toob antud kemikaali tootja ise välja, et toode sobib kasutamiseks põhumajade mikroorganismide tõrjeks.

Vältimistesti esimese katse läbiviimiseks tehti eelpool nimetatud kemikaalidest lahjendused. Mõlemat kemikaali lahjendati destilleeritud veega. Boorhape algseks kontsentratsiooniks sai valitud 5g/100ml kohta, sest täpselt sellist lahjendust kasutavad Eesti ehitajad puidu töötlemiseks. Naatrium-hüpokloriidi lahuse kontsentratsiooniks sai tootja poolt välja pakutud kontsentratsioon, milleks oli algse toote 10 kordne lahjendus. Mõlema kemikaali puhul sai esimeses katses edasine kontsentratsiooni valitud vastavalt kümne, saja, tuhande ja kümne tuhande kordne lahjendus. Esimese katse kemikaalide kontsentratsioonid ja tähistus on toodud tabelis 7.

Vältimistesti teises ja kolmandas katses sai kemikaalide kontsentratsioon valitud vastavalt vältimistesti esimese ja teise katse tulemuste põhjal. Teise katse kemikaalide kontsentratsioonid ja tähistus on toodud tabelis 8 ning kolmas katse tabelis 9.

Teise katse jaoks valitud boorhappe kontsentratsiooniks jäi 5,7g/100ml, mis on ühtlasi kõige kangem, sest 100ml-s üle 5,7g boori ei lahustu, tegemist oleks küllastunud lahusega. (Lenntech, 2014) Eelnevalt valmistatud söötmeplaatidele ja seal kasvamas mikrobikooslusele tilgutati 100µl kemikaali. Kõik kolm katset tehti kahes korduses.

Tabel 5 Vältimistest - I katse

Tähistus	Boorhape	Tähistus	Naatrium-hüpokloriidi lahus
0B	5g / 100 ml	0H	25ml kemikaali + 75ml destilleeritud vett (1:3 kemikaali lahjendus)
1B	10x lahjendus	1H	10x lahjendus
2B	100x lahjendus	2H	100x lahjendus
3B	1000x lahjendus	3H	1000x lahjendus
4B	10000x lahjendus	4H	10000x lahjendus

Tabel 6 Vältimistest - II katse

Tähistus	Boorhape	Tähistus	Naatrium-hüpokloriidi lahus
0B	5,7g / 100 ml	0H	25ml lahust + 75ml destilleeritud vett (1:3 kemikaali lahjendus)
1B	5x lahjendus	1H	2x lahjendus
2B	10x lahjendus	2H	4x lahjendus
3B	15x lahjendus	3H	6x lahjendus
4B	20x lahjendus	4H	8x lahjendus

Tabel 7 Vältimistest - III katse

Tähistus	Boorhape	Tähistus	Naatrium-hüpokloriidi lahus
B	5,7g / 100 ml	0H	lahjendamata
B	5,7g / 100 ml	1H	2x lahjendus
B	5,7g / 100 ml	2H	3x lahjendus
B	5,7g / 100 ml	3H	4x lahjendus
B	5,7g / 100 ml	4H	5x lahjendus

2.4 Populatsioonitihedusest sõltuva inhibitsioonitesti läbi viimine

Populatsioonitihedusest sõltuva inhibitsioonitesti läbi viimiseks tehti söötmeplaadid. Bakter ja seen külvati vastavalt 2.2 alapeatükis toodud söötmeplaatidele, millele valamise käigus lisati tabelis 10-12 näidatud kemikaali kogus. Testis kasutati bakterite tarvis söötmeplaadi koostisosasi, mis on toodud tabelis 5. Inhibitsioonitesti jaoks osutus valituks üks bakter ja üks seen, mis hiljem identifitseeriti mikroskoobi all. Kemikaalideks olid juba eelpool mainitud boorhape ja naatrium-hüpokloriidi lahus. Boorhape kontsentratsiooniks jäi 5g/100ml ja naatrium-hüpokloriidi lahus 1:3 lahjendus (25ml kemikaali + 75ml destilleeritud vett).

Inhibitsioonitesti jaoks kasutati rakupopulatsiooni määramiseks valgus spektromeetriat, mille jaoks lisati 1ml destilleeritud vette bakteri või seente massi. Spektrofotomeetria võrdleb uuritavat lahust puhta lahustiga, milleks oli destilleeritud vesi, lastes sealt läbi valgust 600nm ning registreeritakse erinevatel lainepikkuste uuritava lahuse tihedus. Saadud tulemused arvutati ümber ja lahjendati, ning saadi populatsioonitihedusteks 12^8 rakku/plaadi kohta. Igale järgnevale plaadile tehtid kümne kordne lahjendus. Populatsioonitihedus on toodud tabelites 10-12.

Tabel 8 Populatsioonitihedusest sõltuva inhibitsioonitesti läbi viimine - kemikaali kogus 100 μ l

Tähistus Boorhape	Tähistus Naatrium- hüpokloriidi lahus	Kemikaali kogus	Populatsioonitihedus
B 1-1	H 1-1	100 µl	12 ⁸ rakku/plaadi kohta
B 1-2	H 1-2	100 µl	12 ⁷ rakku/ plaadi kohta
B 1-3	H 1-3	100 µl	12 ⁶ rakku/ plaadi kohta
B 1-4	H 1-4	100 µl	12 ⁵ rakku/ plaadi kohta
B 1-5	H 1-5	100 µl	12 ⁴ rakku/ plaadi kohta

Tabel 9 Populatsioonitihedusest sõltuva inhibitsioonitesti läbi viimine - kemikaali kogus 200 µl

Tähistus Boorhape	Tähistus Naatrium- hüpokloriidi lahus	Kemikaali kogus	Populatsioonitihedus
B 2-1	H 2-1	200 µl	12 ⁸ rakku/plaadi kohta
B 2-2	H 2-2	200 µl	12 ⁷ rakku/ plaadi kohta
B 2-3	H 2-3	200 µl	12 ⁶ rakku/ plaadi kohta
B 2-4	H 2-4	200 µl	12 ⁵ rakku/ plaadi kohta
B 2-5	H 2-5	200 µl	12 ⁴ rakku/ plaadi kohta

Tabel 10 Populatsioonitihedusest sõltuva inhibitsioonitesti läbi viimine - kemikaali kogus 300 µl

Tähistus Boorhape	Tähistus Naatrium- hüpokloriidi lahus	Kemikaali kogus	Populatsioonitihedus
B 3-1	H 3-1	300 µl	12 ⁸ rakku/plaadi kohta
B 3-2	H 3-2	300 µl	12 ⁷ rakku/ plaadi kohta
B 3-3	H 3-3	300 µl	12 ⁶ rakku/ plaadi kohta
B 3-4	H 3-4	300 µl	12 ⁵ rakku/ plaadi kohta
B 3-5	H 3-5	300 µl	12 ⁴ rakku/ plaadi kohta

Triipkülvivi testi läbi viimiseks valati 2.2 alampeatükis toodud söötmeplaadid ning lasti neil tahkestuda. Iga tahkestunud söötmeplaadile lisati 100µl kemikaali, millede kontsentratsioon on

toodud tabelis 13. Kui kemikaal oli korralikult söötmesse imendunud külvati triibutamistehnikat kasutades mikroorganismid peale.

Tabel 11 Triipkülvivi kemikaali kontsentratsioonid

Tähistus	Boorhape	Tähistus	Naatrium-hüpokloriidi lahus
0B	5g/100ml	0H	25ml lahust + 75ml destilleeritud vett (1:3 kemikaali lahjendus)
1B	2x lahjendus	1H	2,5x lahjendus
2B	3x lahjendus	2H	5x lahjendus
3B	4x lahjendus	3H	7,5x lahjendus
4B	5x lahjendus	4H	10x lahjendus

2.5 Seenete ja bakterite identifitseerimine

Identifitseerimiseks sai bakterid ja seened võetud 2.4 alapeatüki inhibitsioonitesti läbiviimiseks kasutatud söötmeplaadidelt, kuhu sai külvatud üks bakteri- ja seeneliik. Silmajärgi otsustades olid mõnel plaadil ka muid liike, ning valituks osutusid need viis seene- ja bakteriliiki.

Kõigile kümnele klaasplaadile tilgutati 10µl destilleeritud vett, kuhu pandi hästi natukene uuritav materjal. Klaasplaadid asetati tõmbekapi alla kuivama, seniks kuni veetilk on täiesti aurustunud. Seejärel toimus klaasplaatide kuumfikseerimine, mille käigus klaasplaat liigutati paar korda läbi leegi. Sellekäigus denatureeruvad seene või bakteri valgud klaaspinnale kinni ning nii on neid kindlam ja lihtsam värvida, et neid hiljem identifitseerida.

Seente identifitseerimiseks värviti seened bengaalpunasega, et neid hiljem oleks mikroskoobi all näha. Bengaalpunase saamiseks valmistati 5%-line värvilahus, mille koostisosad on toodud tabelis 14. Seente värvimist korrati kolm korda, et värv kinnituks korralikult. Peale igat värvimist eemaldati üleliigne värv destilleeritud veega.

Tabel 12 Bengaalipunase 5% värvilahus

0,01 g	bengaalipunane (pulber)
0,1 ml	alkohol (90% piiritus)
1,9 ml	destilleeritud vesi
KOKKU 2ml	

Bakterite identifitseerimiseks kasutati Grami värvimist, mille võttis kasutusele teadlane H.C.J Gram 1884-ndal aastal. Grami värvimismeetod põhineb bakteriraku seina ehitusel, mille järgi bakterid jagunevad kaheks – grampositiivsed ja gramnegatiivseks. (Elias, 2014a)

Gram'i värvimise esimeseks etapiks on bakterpreparaadi värvimine kristallvioletiga. Edasi töödeldakse preparaati Lugoli lahusega, mille ülesandeks on kinnistada kristallviolett grampositiivsete bakterite peptidoglükaani kihtidesse. Selle tulemusena moodustub grampositiivsete bakterite kristallviolett-joodi kompleks. Järgmises etapis toimub preparaadi värvustamine, pestes seda etanooliga. See etapp toob esile erinevad astmed Gram'i värvimisel. Nimelt grampositiivsed bakterid hoiavad kristallvioletti täna paljudele peptidoglükaani kihtidele kinni ja jäävad violetseteks. Samas gramnegatiivsed bakterid muutuvad värvituks, kuna nendel on peptidoglükaani kihte oluliselt vähem. Nende bakterite esile toomiseks toimub järelvärvimine safraniiniga. Iga etapi vahel loputatakse preparaati destilleeritud veega. Selle tulemusena värvuvad gramnegatiivsed bakterid punaseteks (roosadeks), grampositiivsed jäävad violetseks. Kui preparaat on kuivanud toimub mikroskopeerimine. (Elias, 2014b)

3 TULEMUSED

Antud töö kõige esimeseks tulemuseks oli söötmeplaatidel olevate seente ja bakterite kolooniate arvu leidmine. Bakterite keskmiseks kolooniate arvuks sai $382,2 \pm 50$ KMÜ ning seente keskmiseks kolooniate arvuks saadi $562,6 \pm 144,5$ KMÜ. Sellest tulenevalt võib väita, et üllatuslikul kombel eksisteerib rukkipoõhul palju arvukam seente populatsioon kui bakterite oma.

3.1 Vältimistest

Vältimistesti katsete ülesehitus on ära toodud 2.3 alapeatükis.

Viiele söötmeplaatidele, kuhu oli eelnevalt külvatud bakterite külviaasad tilgutati $100\mu\text{l}$ boorhapet kontsentratsiooniga $5,7\text{g}/100\text{ml}$. Vältimistesti kolmas katse näitas, et bakteritele avaldab boorhape vähest mõju. Viiest bakteri külviaasaga söötmeplaadist kolm näitasid kemikaali vähest mõju bakterite populatsioonidele. LISA 1 joonis 1 pildilt on näha, et punase joonega märgitud aladel on boorhape mõju avaldanud kuid mitte piisavalt, et hävitada populatsioone. Tugevamad bakterid on suutnud oma elutegevust jätkata ka pärast kemikaali tilgutamist populatsioonile.

Viiele söötmeplaatidele, kuhu oli eelnevalt külvatud bakterite külviaasad tilgutati $100\mu\text{l}$ naatrium-hüpokloriidi lahust vastavate kontsentratsioonidega, mis on toodud 2.3 alapeatükis tabelis 9. Vältimistesti kolmas katse näitas, et kemikaal häirib bakterite elutegevust, kuid mitte piisavalt, et hävitada populatsioone. LISA 1 joonis 2 pildilt on näha, et punase joonega näidatud aladel on naatrium-hüpokloriidi lahus mõju avaldunud kuid jällegi mitte piisavalt, et hävitada populatsioone.

Viiele söötmeplaatidele, kuhu oli eelnevalt külvatud seente külviaasad tilgutati $100\mu\text{l}$ boorhapet kontsentratsiooniga $5,7\text{g}/100\text{ml}$. Vältimistesti kolmas katse näitas, et seentele mõjub boorhape väga vähe, mõju on praktiliselt olematu. Viiest seene külvaasaga söötmeplaatidest kaks näitasid kemikaali väga vähest mõju seente populatsioonidele. LISA 1 joonis 3 pildilt on näha, et punase joonega märgitud alal on mingi muutus toimunud, kuid kindlasti ei ole see piisav, et hävitada populatsioone.

Viiele söötmeplaatidele, kuhu oli eelnevalt külvatud seente külviaasad tilgutati $100\mu\text{l}$ naatrium-hüpokloriidi lahust vastavate kontsentratsioonidega, mis on toodud 2.3 alapeatükis tabelis 9. Vältimistesti kolmas katse näitas, et kemikaal häirib seente elutegevust, kuid mitte

piisavalt, et hävitada populatsioone. LISA 1 joonis 4 pildilt on näha, et punase joonega näitatud aladel on naatrium-hüpokloriidi lahus avaldanud mõju, kuid mitte piisavalt, et hävitada populatsioone. Tugevamad seemed suudavad kasvada ja elumärke näidata ka peale kemikaali tilgutamist populatsioonidele.

3.2 Populatsioonitihedusest sõltub inhibitsioon

Inhibitsioonitesti ülesehitus on välja toodud 2.4 alapeatükis.

Bakterite populatsioonitihedusest sõltuvalt saab välja tuua, et boorhape kontsentratsiooniga 5,7g/100ml avaldab väikest mõju väiksema populatsioonitihedusega kolooniatele. Boorhape mõjutab baktereid, mille populatsioonitihedus jääb alla 250 tuhande raku plaadi kohta. Kui bakterite populatsioonitihedus ületab antud arvu, suudavad bakterid kemikaalist olenemata paljuneda ja suuremaid kolooniaid moodustada. Lisaks populatsioonitiheduse muutmisega muudeti katses kemikaali kogust. Katse näitas, et antud kemikaali kogus mõjutab kolooniate tekkimist vähe, ent mõjutab nii palju, et tekkinud kolooniad on väiksemad. LISA 2 joonis 5 pildilt on näha katse tulemus.

Samal ajal kui boorhape näitab nõrka tulemust, avaldab naatrium-hüpokloriidi lahus bakteritele tugevat mõju. LISA 2 joonis 6 pildilt on näha tulemust, kus populatsioonitihedusest sõltumata mõjub kemikaal ka 500 miljoni bakteriraku olemasolul.

Seente populatsioonitihedusest sõltuvalt saab välja tuua, et boorhape kontsentratsiooniga 5,7g/100ml avaldab väikest mõju väiksema populatsioonitihedusega kolooniatele. Boorhape mõjutab seeni, mille populatsioonitiheduses jääb alla 300 tuhande raku plaadi kohta. Kui seente populatsioonitihedus ületab antud arvu, suudavad seemed kemikaalist olenemata paljuneda ja rohkemaid kolooniaid moodustada. Kemikaali koguse suurendamisega mõjutatakse kolooniate teket. Tekkinud kolooniate arv on väiksem. LISA 2 joonis 7 pildilt on näha katse tulemusi.

Naatrium-hüpokloriidi lahusega tehtud katsed näitavad selgelt, et ka see kemikaal avaldab populatsioonidele mõju, kui populatsioonitihedus jääb alla 300 tuhande raku plaadi kohta. Kemikaali koguse suurendamisega mõjutatakse kolooniate teket, mida suurem kogus kemikaali, seda vähem on kolooniaid. LISA 2 joonis 8 pildilt on näha katse tulemusi.

Triipkülv näitas, et boorhape ei avalda seente ega bakteritel olenemata kontsentratsioonist mitte mingit mõju. Mõlemad mikroorganismid suutsid edukalt kolooniaid tekitada. Seevastu naatrium-hüpokloriidi lahus näitas, et bakterite kolooniaid oli vähem ja need olid väiksemad. Seentele mõjus kemikaal vastaval tootja poolt välja toodud lahjendus, 1:3 lahjendus, ning sellest tehtud 2,5x lahjendus.

3.3 Seente ja bakterite identifitseerimine

Seente identifitseerimisel selgus, et söötmeplaatidel esines kaks seente perekonda – Aspergillus ja Penicillium.

Bakterite identifitseerimisel selgus, et viiest valitud bakteritest kaks olid grampositiivsed ja kolm gramnegatiivsed. Grampositiivsed bakterid kuulusid antinomütseetide hulka, plaatidelt leitud perekonnaks osutus Streptomyces. Gramnegatiivsete plaatidelt leiti perekond Pseudomonas.

4 ARUTELU

Antud töös uuriti, milline on ehitusmaterjalina kasutatavatel põhuplokkidel esinev mikroobikooslus. Samuti, millised oleks mikroobikoosluse tõrje võimalused ja nende efektiivsus sõltuvalt populatsioonitihedusest.

Seente ja bakterite identifitseerimine näitas, et antud töö tarvis hangitud ja kasutatud põhuplokilt leiti kirjanduses välja toodud mikroobikoosluste perekonnad. Leitud bakterite perekonnad *Streptomyces* ja *Pseudomonas*. Esimese puhul on tegemist laialt levinud ja hästi uuritud antinomütseetiga, kes elavad pinnases ning on peamiselt patogeendid taimedele. Näiteks *Streptomyces scabiei*, *Streptomyces stelliscabiebi* ja *Streptomyces ipomoeae*. Nad moodustavad rohkem kui pool maailmas müüdavast antibiootikumidest, mis tähendab, et neil on hindamatu väärtus meditsiini valdkonnas. *Pseudomonas* puhul on tegemist erinevates keskkondades elutseva perekonnaga. Võivad elada nii pinnases, vees kui ka taimedel. Paljud selle perekonna liigid on patogeendid, mis mõjutavad inimese või looma tervist. Perekonda kuulub *Pseudomonas aeruginosa*, millega kokkupuutel võib bakter põhjustada kopsupõletikku või kuseteede infektsiooni. (Nidirect, 2014; Microbiologybytes, 2014)

Seente puhul oli tegemist kahe väga tuntud ja levinud perekonnaga - *Aspergillus* ja *Penicillium*. Esimest perekonda võib leida õhu- ja pinnaproovidest ning nii mõnigi liik perekonnast on patogeendid, mis on sissehingamisel väga mürgised. Penicilliumi puhul on tegemist meie kõige tavalisema moosipurgihallitusega, kuid leida võib neid nii hoonetest kui ka mullast. Siia perekonda kuulub väga ohtlik, tavaliselt surmaga lõppeva süvamükoosi – penitsilloosi tekitaja *Penicillium marneffeii*, mida Eestis õnneks ei esine. Klassikaliselt on perekond tuntud antibiootikumide moodustajana. (Pilt, 2014b)

4.1 Kemikaalide mõju bakterite ja seente elutegevusele

Katsed näitasid, et boorhape ja naatrium-hüpokloriidi lahus ei suuda hävitada juba tekkinud mikroobikooslust. Mõlemad kemikaalid suutsid mikroobikooslust nõrgestada surmates kolooniaid, kuid ühe nädala möödudes kaotasid kemikaalid oma toime. Mikroobikooslus harjus häirituse olemasoluga ning jätkas oma elutegevust. Katses oli näha, et naatrium-hüpokloriidi lahusel oli tugevam mõju bakteritele kui seentele. Seda juba sellepärast, et bakteritel puudub nii tugev rakukest kui on seda seentel.

Katsed näitasid, et boorhape ja naatrium-hüpokloriidi lahus ei sobi biotõrjeks, kui põhiplokkidel on tugev mikroobikooslus juba välja kujunenud.

4.2 Mikroobikoosluse tõrje sõltuvalt populatsioonitihedusest

Vastavalt vältimistesti tulemustele, mis näitasid selgelt, et antud kemikaalid ei suuda hävitada juba tekkinud mikroobikooslust, uuriti järgmises katses juba populatsioonitihedusest sõltuvalt kemikaali mõju. Sooviti teada saada millise arvu rakkude juures kemikaali toime on püsiv ja toimiv.

Populatsioonitihedusest sõltuvalt võib järeldada, et kemikaalide toime avaldab mõju teatud arvu mikroobikoosluse olemasolul. Boorhappe mõju mikroobikooslusele oli märgatav, kuid ainult siis kui bakterirakke jäi alla 250 tuhande ja seenerakke alla 300 tuhande. Tegemist on väga väikeste arvudega, mis tähendab, et mikroobikoosluste olemasolul põhul tuleks tegutseda võimalikult kiiresti, et hävitada või saada kontrolli alla kogu populatsioon. Naarium-hüpokloriidi lahuse mõju oli oluliselt tugevam bakteritele, kus oli selgelt näha, et olenemata populatsioonitiheduses suutis kemikaal hävitada kõik bakterid. Kemikaal näitas mõju 300 tuhande seeneraku juures.

Antud katse puhul mängis olulist rolli ka kemikaali kogus, mis sai lisatud söötmeplaatidele. Katse näitas, et koguse suurendades muutusid mikroobikooslused väiksemaks ning neid oli ka arvuliselt vähem. Kindlasti tuleks kemikaali kogusest sõltuvat populatsioonitiheduse uuringut rohkem uurida, sest antud katses oli selgelt näha kogusest sõltuvat mõju mikroobikooslusele.

Antud katsetest võib järeldada, et naatrium-hüpokloriidi lahus sobib biotõrjeks paremini kui boorhape.

KOKKUVÕTE

Käesoleva magistritöö eesmärgiks on uurida, milline on ehitusmaterjalina kasutatavatel põhuplokkidel esinev mikroobikooslus. Samuti, millised oleks mikroobikoosluse tõrje võimalused ja nende efektiivsus sõltuvalt populatsioonitihedusest.

Seente ja bakterite identifitseerimine näitas, et antud töö tarvis hangitud ja kasutatud põhuplokilt leiti kirjanduses välja toodud mikroobikoosluste perekonnad. Leitud bakterite perekonnad *Streptomyces* ja *Pseudomonas* ning seente puhul oli tegemist kahe väga tuntud ja levinud perekondadega - *Aspergillus* ja *Penicillium*.

Antud töö läbiviimiseks hangiti põhuplokk, mille suurus oli 20x40x10 cm ning koosnes peamiselt rukki teraviljast. Hangitud põhuplokki hoiti üks kuu kinnises ruumis, mille keskmine temperatuur oli 15 °C. Mikrobioloogia jaoks tehti söötmeplaadid, millele pandi kasvama vastavalt kas bakterid või seened. Mikroobikoosluse tõrjeks kasutati boorhappet ja naatrium-hüpokloriidi lahust. Boorhappe osutus valituks sellepärast, et Eesti ehitajad kasutavad antud kemikaali puidu töötlemiseks (15% lahus) ning naatrium-hüpokloriidi lahuse puhul toob antud kemikaali tootja ise välja, et toode sobib kasutamiseks põhumajade mikroorganismide tõrjeks.

Söötmeplaate kasutati kolme testi läbiviimiseks – vältimistest, triipkülv test ning inhibitsioonitest test. Vältimistesti tulemus näitas, et antud kemikaalid ei sobi juba tekkinud mikroobikooslust hävitama. Nad küll suudavad kooslust nõrgestada, kuid aja möödudes kaotab kemikaal oma mõju ning koosluste elutegevus jätkub. Triipkülv näitas samuti, et boorhappe ei avalda seente ega bakteritel olenemata kontsentratsioonist mitte mingit mõju. Mõlemad mikroorganismid suutsid edukalt kolooniaid tekitada. Seevastu naatrium-hüpokloriidi lahus näitas, et bakterite kolooniaid oli vähem ja need olid väiksemad. Vastavalt vältimistesti ja triipkülv tulemustele uuriti viimases katses juba populatsioonitihedusest sõltuvalt kemikaali mõju. Järeldus, et kemikaalide toime avaldab mõju teatud arvu mikroobikoosluse olemasolul. Boorhappe mõju mikroobikooslusele oli märgatav, kuid ainult siis kui bakterite rakke jäi alla 250 tuhande ja seente rakke alla 300 tuhande. Naatrium-hüpokloriidi lahuse mõju oli oluliselt tugevam bakteritele, kus oli selgelt näha, et olenemata populatsioonitiheduses suutis kemikaal hävitada kõik bakterid. Kemikaal näitas mõju 300 tuhande seeneraku juures.

Kõik kolm testi näitasid, et kasutatud kemikaalid ei suuda juba tekkinud ja tugevat mikroobikooslust hävitada, kuid suudavad populatsioonitihedusest sõltuvalt mikroobikooslust piisavalt häirida ning nende paljunemist piirata.

SUMMARY

„The effect of chemical treatment on different microbial population densities on straw blocks used for green housing projects“

The aim of this Master's dissertation is to examine the microbial population on straw bale used as construction material and to study the use and effects of chemical treatment depending on population density.

Identification of fungi and bacteria showed that microbial genera found in the subjected straw bale were identical to those described in literature. Results showed two predominant bacterial genera – *Streptomyces* and *Pseudomonas*, together with two abundant genera of fungi – *Aspergillus* and *Penicillium*.

This study was conducted on a straw bale the size of 20x40x10cm that mainly consisted rye straw. Straw bale was placed in a sealed room with an average temperature of 15°C. Selective agar media was used for cultivating bacteria and fungi. Boric acid and sodium hypochlorite dilution were used for chemical treatment. Boric acid was selected for the reason that Estonian constructors use it to process wooden material. Sodium hypochlorite was used because the manufacturer of the chemical states, that their product is suitable for controlling and exterminating microorganisms in straw buildings.

Two different selective agar media were used to conduct three tests – avoidance test, strip cultivation test and inhibition test. Microbial population was identified additionally. Avoidance test results showed that pre-mentioned chemicals are not suitable to exterminate an already grown microbial population. They are effective on debilitating the population but over time lose their potent and as a result of that, microbial population begins to grow. Strip cultivation test showed also, that boric acid has no effect on either group, regardless of concentration of the chemical. Both microorganisms managed to produce colonies. However the results with sodium hypochlorite showed that amount of colonies were smaller. Considering the results from the avoidance tests, the next test was carried out to determine chemical effects relative to population density. Consequently chemicals affect only certain amount of microbial population. Effects of boric acid were substantial only when bacterial cell population was under 250 thousand cells and fungal cell population under 300 thousand cells. Sodium hypochlorite dilution was able to exterminate the entire bacteria population,

regardless of its density. Among fungi, sodium hypochlorite showed efficiency up to 300 thousand cells.

Each of the three tests showed, that the chemicals used in the experiments are unable to exterminate an already grown population, although they are capable of limiting reproduction and disrupting its growth.

TÄNUSÕNAD

Magistritöö autor soovib tänada oma juhendajat Sander Kuttit abivalmiduse ja hea juhendamise eest.

Autor tänab ka Tallinna Tehnikaülikooli Tartu Kolledžit, oma perekonda, kursusekaaslast ja sõpru.

KASUTATUD KIRJANDUS

Amazon Nails. 2001. Information guide to straw bale building for self builders and the construction industry. Amazon Nails. 78 lk.

Antongiovanni, M. Sargentini, C. 1991. Variability in chemical composition of straws. In : Tisseran d J.-L. (ed.), Alibés X. (ed.). Fourrages et sous-produits méditerranéens. Zaragoza : Ciheam, 1991 . p. 49 -53

Bauer, M. Möhle, P. Schwarz, M. 2007. Green Building – Guidebook for Sustainable Architecture. Springer-Verlag. Saksamaa. 208 lk.

Chico-Santamarta, L. Humphries, A. C. Chaney, K. White, D. R. Magan, N. Godwin, R. J. 2011. Microbial changes during the on-farm storage of canola (oilseed rape) straw bales and pallets. Biomass and Bioenergy. 35. p. 2939-2949.

Clynes, J. 2009. Decay Characteristics of Different Types of Straw Used in Straw Bale Building. Graduate School of the Environment Centre for Alternative Technology. 78 lk.

Elias, A. 2014a. Bakteriraku ehitus ja endosporide moodustumine: Gram-positiivsed ja -negatiivsed bakterid. <http://www.bakterirakuehitusjaendosporid.edicypages.com/rakuorganite-kirjeldus/gram-positiivsed-ja-negatiivsed-bakterid-1>. (29.05.2014)

Elias, A. 2014b. Bakteriraku ehitus ja endosporide moodustumine: Gram'i värvimine. <http://www.bakterirakuehitusjaendosporid.edicypages.com/rakuorganite-kirjeldus/grami-varvimine-1>. (29.05.2014)

Elsayed, M. S. G. 2000. Straw Bale is Future House Building Material. Egiptus. 14 lk.

Gaylarde, C. C. Morton, L. H. G. 1999. Deteriogenic Biofilms on Buildings and their Control: A review. Biofouling: The Journal of Bioadhesion and Biofilm Research. 14(1). p. 59-74.

Ghaffar, S. H. Fan, M. 2013. Structural analysis for lignin characteristics in biomass straw. Biomass and Bioenergy. 57. p. 264-279.

Grätz, M. Indriksone, D. 2011. Ökoloogilised ehitusmaterjalid. AS Rebellis. Eesti. 29 lk.

Hasenberg, M. Behnsen, J. Krappmann, S. Brakhage, A. Gunzer, M. 2011. Phagocyte responses towards *Aspergillus fumigatus*. International Journal of Medical Microbiology. 301. p. 436-444.

HNK Analüüsitehnika. 2014. Ohutuskaardid: boorhape ja naatrium-hüpokloriidi lahus. <http://www.hnk.ee/index.php?page=108>. (21.05.2014)

Hodge, B. 2006. Building your straw bale home from foundations to the roof. Csiro publishing. Austraalia. 260 lk.

Kalberg, S. 2013. Põhumaja säästab kütet ja on samal ajal mõnusa sisekliimaga. Eesti päevaleht. 14.08.2013. lk. 13.

Khan, A. A. H. Karuppayil, M. 2012. Fungal pollution of indoor environments and its management. Saudi Journal of Biological Sciences. 19. p. 405-426.

Klais, R. 2006. Põhupallidest maja ehitamine. Ajakiri „Ehitaja“. Detsember. lk. 72-75.

Klamer, M. Bååth, E. 1998. Microbial community dynamics during composting of straw material studied using phospholipid fatty acid analysis. FEMS Microbiology Ecology. 27. p. 9-20.

Konovalov, L. 2013. 10 uut ja vana ehitusmaterjali. Äripäev „Ehitus“. 06. lk. 12.

Konsa, K. Pilt, K. 2012. Hoonete biokahjustused. AS Atlex. Tartu. 168 lk.

Kuznetsova, A. 2010. Straw use in Ukraine – opportunities and options. In: German–Ukrainian Policy Dialogue in Agriculture Institute for Economic Research and Policy Consulting. Kiiev. 22 lk.

Lawrence, M. Heath, A. Walker, P. 2009. Determining moisture levels in straw bale construction. Construction and Building Materials, 23. p. 2763-2768.

Lenntech. 2014. Boron (B) and water. <http://www.lenntech.com/periodic/water/boron/boron-and-water.htm>. (28.05.2014)

Loonet, H. 2008. Keskkonnasõbralik põhumaja. Äripäev „Ehitus“. 02. lk.10-11.

Luht, E. 2013. Taaskasutus ehitusplatsil. Põhust ja plastist majad. Äripäev „Oma Maja“. 10 (114). lk. 30.

Madsen, A. M. Nielsen, S. H. 2010. International Journal of Hygiene and Environmental Health. 213. 278-284.

Marschner, P. Umar, S. Baumann, K. 2011. The microbial community composition changes rapidly in the early stages of decomposition of wheat residue. Soil Biology & Biochemistry. 43. p. 445-451.

Microbiologybytes. 2014. Streptomyces <http://www.microbiologybytes.com/video/Streptomyces.html> (28.05.2014)

Milutiene, E. Jürmann, K. Keller, Lars. 2007. Straw bale building – reaching energy efficiency and sustainability in northern latitudes. Promotion of Straw Bale Building for the Climate Change Mitigation. 6 lk.

Nidirect. 2014. Pseudomonas. <http://www.nidirect.gov.uk/pseudomonas> (28.05.2014)

Nuter, V. Baklan, A. 2012. Hallitus, ohtlik võõrleegion. <http://hallitus.ee/hallitus-ohtlik-voorleegion/>. (20.05.2014)

Pilt, K. 2014a. Sissejuhatus ehitismükoloogiasse – majaseened. <http://mycology.ee/userfiles/files/Puitulagundavad%20seened.pdf>. (18.05.2014)

Pilt, K. 2014b. Ehitismükoloogia. Mikro- ehk makroseened. <http://mycology.ee/userfiles/files/mikroseened-ehk%20hallitusseened-korteriuhistu.pdf>. (18.05.2014)

Reiska, R. 2012. Puidu kaitseimmutus. Puidu kuivatamine ja hüdrotermiline töötlemine. KMM0240. 41 lk.

Stroh, L. 2010. Ökoehitus – mis see on? Keskkonnatehnika 2/2010. lk. 21-23.

Summers, M. D. Blunk, S. L. Jenkins, B. M. 2003. How Straw Decomposes: Implications for Straw Bale Construction. EBNet Straw Bale Test Program. USA. 6 lk.

Toome, T. 2012. Unustatud vana on saanud uueks ja moodsaks. Äripäev „Ehitus“. 09. lk.12-16.

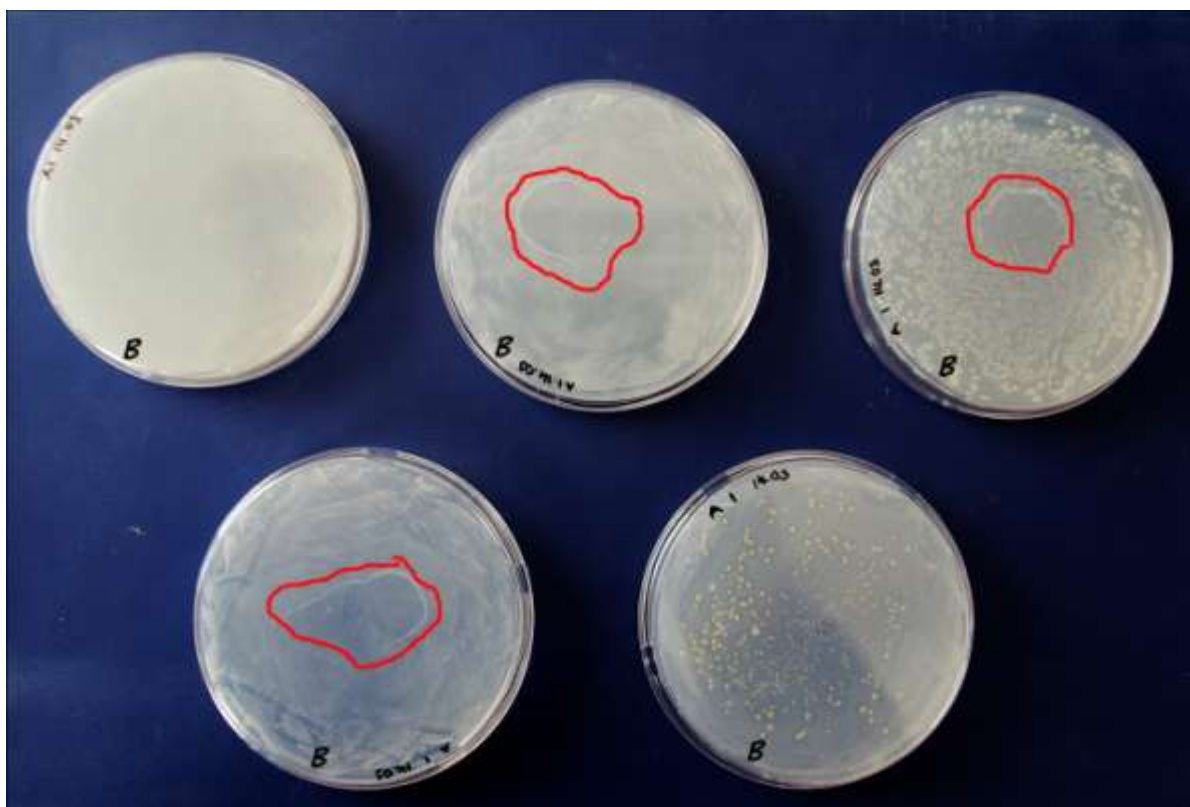
Valner, R. 2010. Miks on põhumaja hea? Ajakiri „Kodumaja“. Juuni/juuli. lk. 4.

Vessart, K. 2011. Taimekasvatus. http://www.e-ope.ee/download/euni_repository/file/2510/Vessart%20Taimekasvatus.pdf. (20.05.2014)

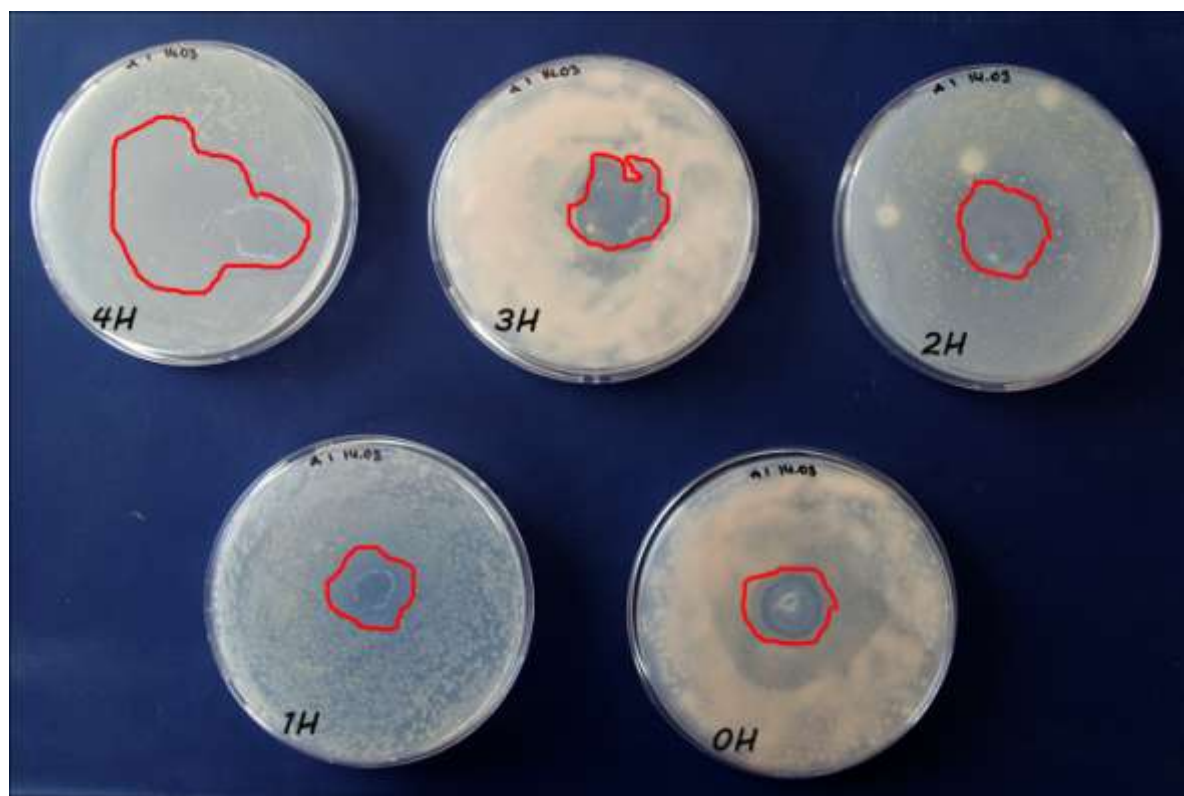
Viese, J. 2010. Loodusehituse lihtsus ja võlu. Ajakiri „Eesti Loodus“. 6-7/2010. http://www.loodusajakiri.ee/eesti_loodus/artikkel3364_3333.html.

Wihan, J. 2007. Humidity in straw bale walls and its effect on the decomposition of straw. University of East London School of Computing and Technology. 271 lk.

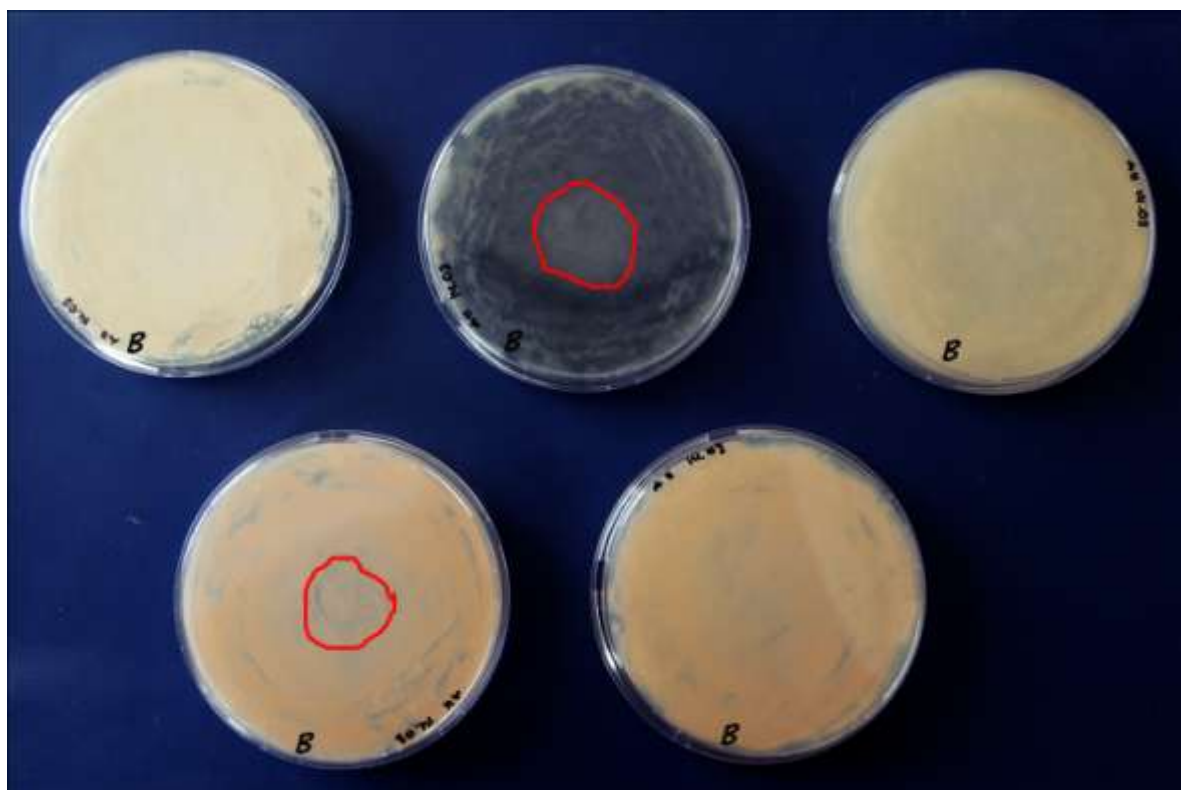
LISA 1



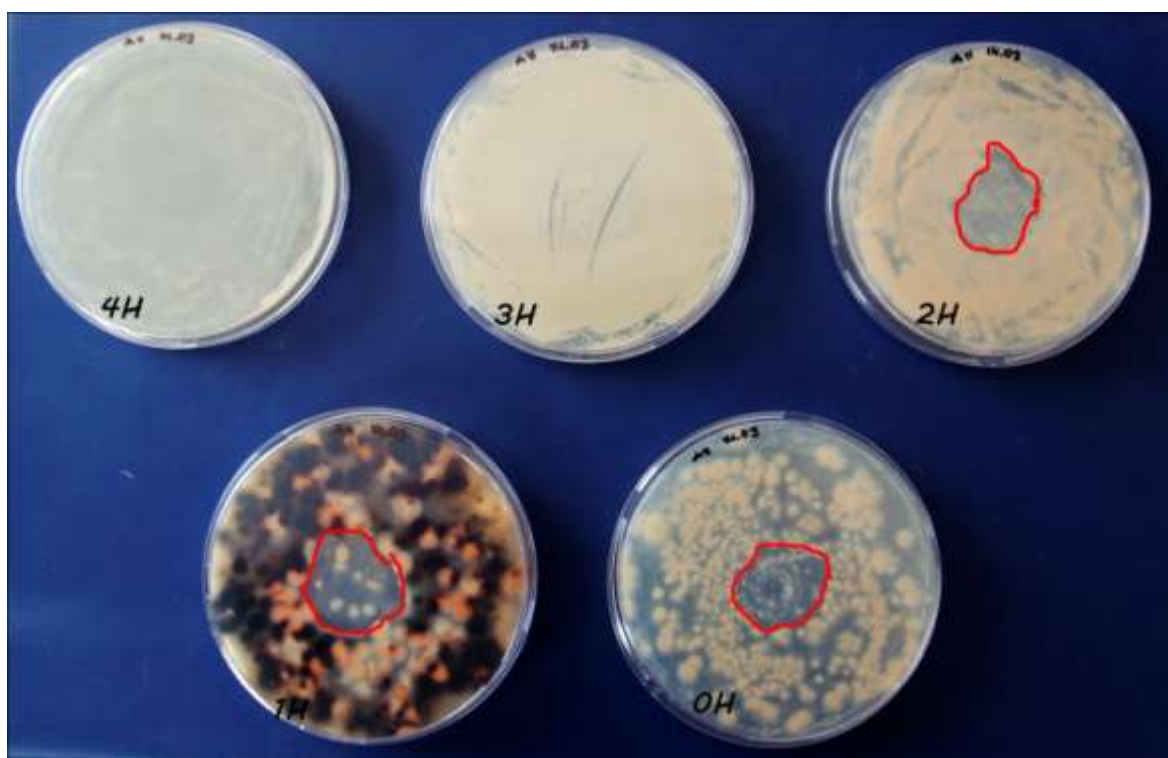
Joonis 1 Vältimistesti tulemused - boorhape mõju bakterite populatsioonidele (punase joonega märgitud kemikaali mõju ulatus)



Joonis 2 Vältimistesti tulemused - naatrium-hüperkloriidi lahuse mõju bakterite populatsioonidele (punase joonega märgitud kemikaali mõju ulatus)



Joonis 3 Vältimistesti tulemus - boorhape mõju seente populatsioonidele (punase joonega märgitud kemikaali mõju ulatus)



Joonis 4 Vältimistesti tulemus - naatrium-hüpokloriidi lahuse mõju seente populatsioonidele (punase joonega märgitud kemikaali mõju ulatus)

LISA 2



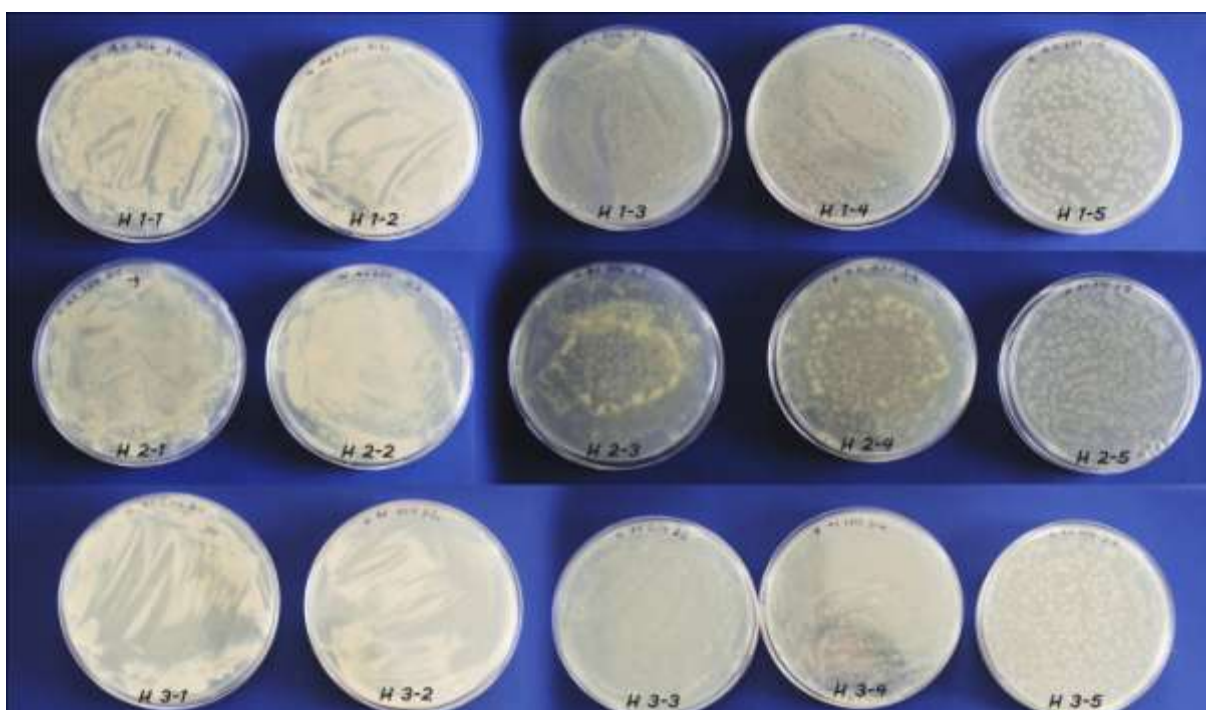
Joonis 5 Inhibitsioonitesti tulemused - boorhape mõju bakterite populatsioonile, selle tihedusest sõltuvalt



Joonis 6 Inhibitsioonitesti tulemused – naatrium-hüpokloriidi lahuse mõju bakterite populatsioonile, selle tihedusest sõltuvalt



Joonis 7 Inhibitsioonitesti tulemused - boorhape mõju seente populatsioonile, selle tihedusest sõltuvalt



Joonis 8 Inhibitsioonitesti tulemused – naatrium-hüpokloriidi lahuse mõju seente populatsioonile, selle tihedusest sõltuvalt