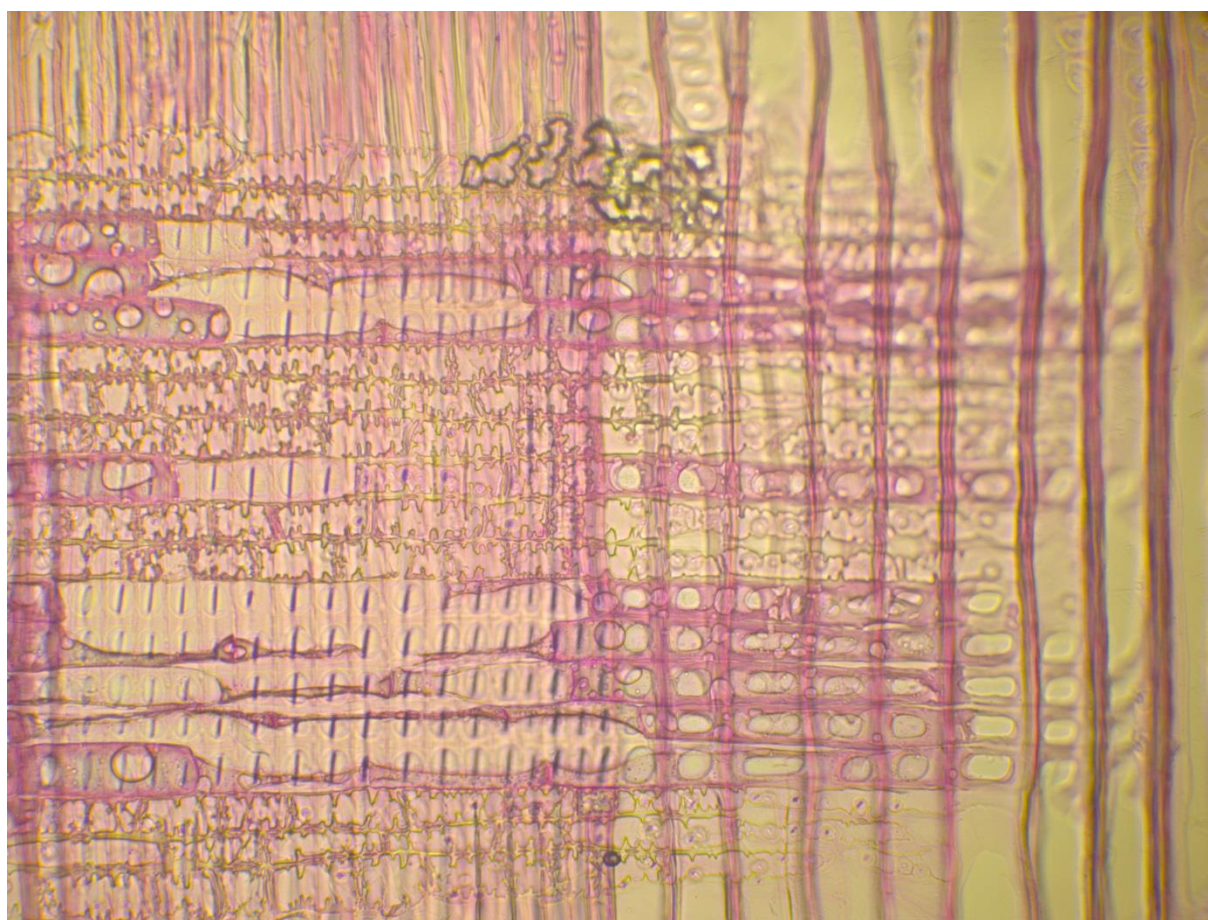


**Onderzoeksrapport:** Conserveren van houten paalfunderingen tegen aantasting onder water

**Rapportcode:** 16.0000

**Datum:** 14 maart 2017



SHR  
"Het Cambium"  
Nieuwe Kanaal 9b  
Postbus 497  
6700 AL Wageningen

Tel: 0317 – 467366  
Fax: 0317 – 467399

E-mail: r.klaassen@shr.nl

Dit rapport heeft 59 bladen. Het is eigendom van de opdrachtgever, die gerechtigd is dit rapport integraal te publiceren. Gedeeltelijke publicatie, ook door de eigenaar, is slechts toegestaan na schriftelijke toestemming van SHR.

Opdrachtgever: KCAF  
Toscalaan 17  
3438 CW Nieuwegein

Bijlage: 2

Projectnummer: 16.0000

Auteurs:

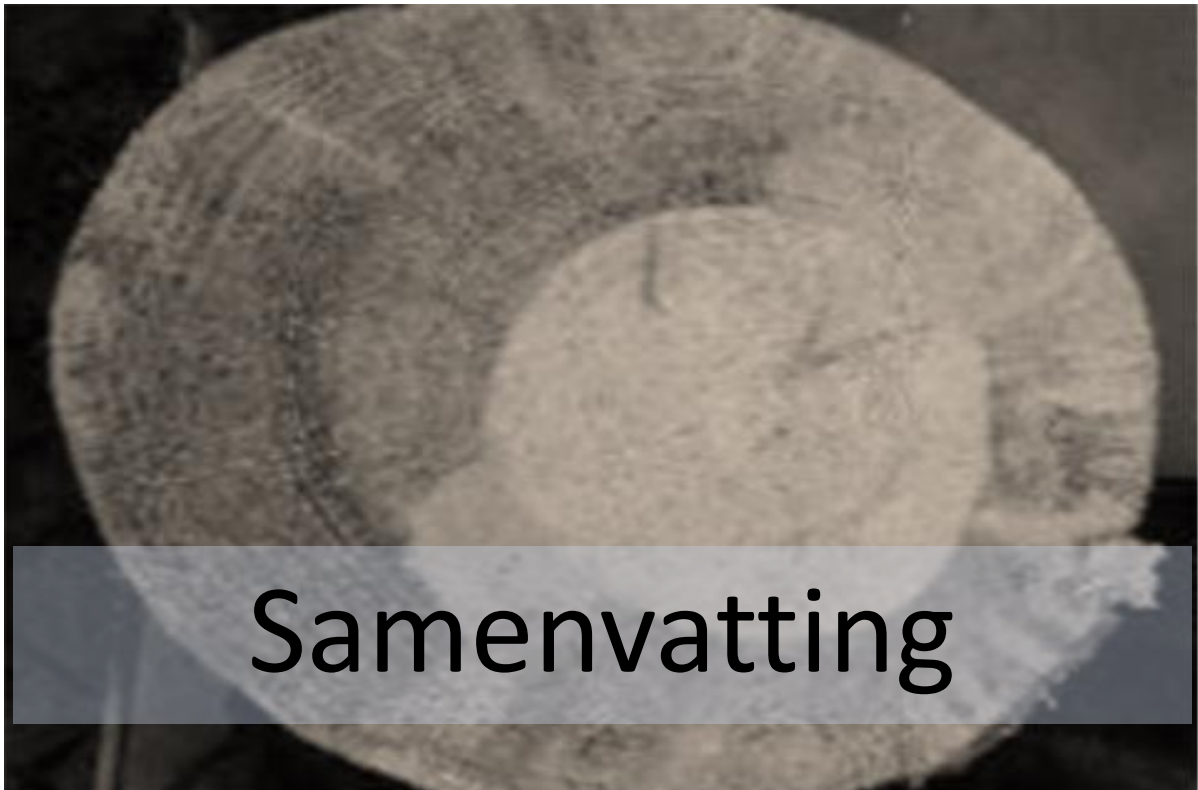
Dr. R.K.W.M. Klaassen  
Projectleider

Ir. B.F. Tjeerdsma  
2<sup>e</sup> auteur

Trefwoorden: Conserveringsmethode, bacteriële  
aantasting, grenen, waterstroom

Foto voorblad: microscopische opname van slijm in de stralen van een van de geteste grenen stammen

SHR werkt volgens NEN-EN-ISO/IEC 17025:2005 "Algemene eisen voor de competentie van beproevings- en kalibratielaboratoria".



Van het KCAF is de opdracht ontvangen om onderzoek te doen naar de mogelijkheid om houten heipalen in situ te behandelen tegen aantasting onder water.

De hoofdopdracht was om vast te stellen of verblauwing een goede conserveringsmethode is voor houten heipalen tegen aantasting onder water. Hiernaast zijn ook mogelijke alternatieve methodes gescreend op hun geschiktheid en er is gezocht naar potentiële meetmethoden om watertransport in houten heipalen te kunnen monitoren.

Via diverse bosbeheerders is onderzoeksmateriaal verkregen (vers gevelde grenen stammen). Met dit materiaal zijn diverse laboratoriumonderzoeken uitgevoerd naar de snelheid van verblauwing en naar de mate van verstopping van de houtstructuur. Alternatieve methodes zijn vanuit het experiment en op basis van literatuur beschouwd. Er zijn contacten gelegd met boomfysiologen over hun ervaringen met monitoringstechnieken.

Gedurende de looptijd van deze opdracht zijn diverse onderzoeksmethoden uitgetoetst en is kennis verzameld omtrent het gedrag van blauwschimmel in grenenspint. Het blijkt dat verblauwing op zich niet tot verstopping van de houtstructuur leidt, maar dat verblauwing wel een signaal is dat er iets met het hout is gebeurd, waardoor het verstopt is. Het lijkt er sterk op dat andere micro-organismen onder drogere omstandigheden door slijmvorming een verstoppend effect kunnen hebben. Dit dient nader uitgezocht te worden want ook bij dit soort processen lijkt praktische applicatie relatief

eenvoudig. Indien dat niet lukt, zou ook gekeken kunnen worden naar de inzet van houtmodificerende stoffen waarbij furanen en silicaten de meeste potentie hebben.

Tenslotte hebben we in dit onderzoek kennis opgedaan over de waterstroomsnelheid die we in heipalen kunnen verwachten en de aangetroffen snelheid kan gemonitord worden met bestaande sensortechnieken. Het enige dat aangepast moet worden is om de toepassing geschikt te maken voor gebruik onder water.

## Inhoudsopgave

|  |  |
|--|--|
| Samenvatting.....  | <b>Fout! Bladwijzer niet gedefinieerd.</b> |
| Inhoudsopgave .....  | 5  |
| 1 Inleiding .....  | <b>Fout! Bladwijzer niet gedefinieerd.</b> |
| 1.1. Achtergrond .....   | 7  |
| 1.2 Aantasting onder water.....  | 8  |
| 1.3 Uitgangspunten onderzoek .....   | 8  |
| 1.4 Leeswijzer.....  | 9  |
| 2 Materiaal.....   | <b>Fout! Bladwijzer niet gedefinieerd.</b> |
| 2.1. Stamhout eerste serie .....   | 10   |
| 2.2. Stamhout tweede serie.....  | 12   |
| 2.3. Stamhout derde serie .....  | 12   |
| 3 Methode.....   | <b>Fout! Bladwijzer niet gedefinieerd.</b> |
| 3.1. Maken van de sporensuspensies .....                                   | 14   |
| 3.2 Voorverblauwingsexperiment .....                                       | 15   |
| 3.2.1 Eerste serie .....   | 15   |
| 3.2.2 Tweede serie .....   | 15   |
| 3.2.3 Derde serie .....  | 16   |
| 3.3. Behandelingsmethode.....  | 17   |
| 3.3.1 Kleine blokjes .....   | 17   |
| 3.3.2 Voorproef stammen .....  | 18   |
| 3.3.2 Behandeling stammen hoofdexperiment.....                             | 19   |
| 3.3.3 Behandeling mogelijke alternatieve stammen voor hoofdexperiment..... | 19   |
| 3.4 Monster voorbereiding en waterstroomexperiment.....                    | 20   |
| 3.4.1 Epoxy coating .....  | 20   |
| 3.4.2 Voorexperiment waterstroming .....                                   | 20   |
| 3.4.3 Inzetten en verloop waterstroomexperiment .....                      | 21   |
| 3.4.4 Hoofdexperiment serie A en B .....                                   | 21   |
| 3.4.5 Hoofdexperiment, serie gewaterde stammen.....                        | 22   |
| 3.4.6 Hoofdexperiment serie C.....   | 23   |
| 3.4.7 Aankleuring gebieden van watertransport in de stammen. ....          | 24   |
| 3.4.8 Microscopisch onderzoek. ....  | 24   |
| 3.5 Literatuurstudie naar modificerende stoffen .....                      | 25   |

---

|       |  |  |
|-------|--|--|
| 4     | Resultaten.....  | <b>Fout! Bladwijzer niet gedefinieerd.</b> |
| 4.1   | Voorverblauwing.....   | 26   |
| 4.1.1 | Eerste serie .....   | 26   |
| 4.1.2 | Tweede serie .....   | 27   |
| 4.1.3 | Derde serie .....  | 29   |
| 4.2   | Behandelingsmethode.....   | 30   |
| 4.2.1 | Kleine blokjes .....   | 30   |
| 4.2.2 | Voorproef stammen.....   | 30   |
| 4.2.3 | Behandeling stammen hoofdexperiment.....   | 31   |
| 4.3   | Waterstromingexperiment .....  | 31   |
| 4.3.1 | Voorexperiment: staakjes.....  | 31   |
| 4.3.2 | Hoofdexperiment serie A en B, de niet behandelde stammen.....                            | 32   |
| 4.3.3 | Hoofdexperiment, serie C en D de behandelde stammen .....                                | 34   |
| 4.4   | Resultaten van de literatuurstudie naar het in situ modificeren van houten heipalen..... | 39   |
| 4.5   | Monitoring van watertransport in stamhout. ....  | 43   |
| 5     | Discussie .....  | <b>Fout! Bladwijzer niet gedefinieerd.</b> |
| 5.1   | Initiëren van blauw.....   | 44   |
| 5.1.1 | Relevante informatie over blauw in hout .....  | 44   |
| 5.1.2 | Het initiëren van blauw in proefstukken.....   | 46   |
| 5.2   | Verstopping door verblauwing .....   | 47   |
| 5.3   | Alternatieve methodes.....   | 49   |
| 6     | Conclusie.....   | <b>Fout! Bladwijzer niet gedefinieerd.</b> |
| 7     | Aanbevelingen.....   | <b>Fout! Bladwijzer niet gedefinieerd.</b> |
|       | Literatuur.....  | <b>Fout! Bladwijzer niet gedefinieerd.</b> |
|       | Bijlage 1: Stammen serie A en B voor en na schoonmaken .....                             | 56   |
|       | Bijlage 2: Stammen serie C voor en na schoonmaken .....                                  | 59   |





# 1. Inleiding

Van het KCAF is op 7 december 2015 de opdracht ontvangen om onderzoek te doen naar de mogelijkheid om houten heipalen in situ te behandelen tegen aantasting onder water. Dit onderzoek werd mogelijk gemaakt door financiering door het ministerie van Binnenlandse Zaken en Koninkrijksrelaties, de gemeente Zaandam, SKH, de gemeente Rotterdam, gemeente Schiedam en de provincie Friesland.

## 1.1. Achtergrond

Aantasting van hout onder water, of te wel houtaantasting door bacteriën is een fenomeen dat veel minder lang bekend is dan houtaantasting door schimmels. Toch was het al in 1931 dat Wijnperse meldde dat grenen palen niet geschikt waren voor het gebruik in funderingsconstructies. Omdat dit door anderen werd betwist duurde het nog 53 jaar voordat dit als een algemeen uitgangspunt werd aanvaard. In 1949 schreef bijvoorbeeld Varossieau (afdeling hout van het Centraal Instituut voor

materiaalonderzoek Delft) op basis van Rotterdams onderzoek dat grenen een goede houtsoort was voor gebruik in funderingen. Bij de herziening in 1983 van de NEN EN 5491 stond grenen niet meer genoemd als potentiële houtsoort en was daarmee feitelijk verboden voor gebruik in funderingsconstructies.

Echte kennis over bacteriële houtaantasting kreeg pas in de jaren 80 van de vorige eeuw brede verspreiding in houtwetenschappelijke kringen. Daarbij werd eerst alleen de morfologie van de aantastingspatronen beschreven. Pas in het zogenaamde BACPOLES consortium werd meer bekend over de identiteit en het leefgedrag van deze houtaantasters. BACPOLES was een internationaal consortium van wetenschappers, dat binnen een door de EU gefinancierd en door SHR geleid project onderzoek naar dit fenomeen deed van 2001 - 2005. De resultaten van BACPOLES zijn gepubliceerd in een special issue van het wetenschappelijke tijdschrift *International Biodeterioration and Biodegradation*, waarbij Klaassen et al 2005 het editorial schreef. De uitkomsten van Bacpoles boden directe aanleiding om een conserveringsmethode te ontwikkelen. De diverse voorstellen die vanaf 2005 in dat kader zijn ingediend, zijn echter nooit gehonoreerd. Dit heeft tot een enorme tijdsvertraging geleid, want de inschatting was dat binnen 4,5 jaar een praktisch uitvoerbare conserveringsmethode te realiseren moest zijn. In 2015 is het met behulp van het KCAF gelukt om een eerste fase van het onderzoeksvoorstel in een eenvoudige vorm gefinancierd te krijgen. Dit had ook te maken met de toenemende problemen op het gebied van houten paalfunderingen.

Nadat men in de jaren zeventig van de vorige eeuw in diverse steden in Nederland (zoals Haarlem en Schiedam) geconfronteerd werd met problemen met houten paalfunderingen, werd het probleem pas vanaf de jaren negentig door de grootschalige problemen in de Amsterdamse buurt in Haarlem naar een landelijk niveau getild. Het toenmalige ministerie van VROM liet literatuurstudies uitvoeren naar de oorzaken op basis van de toenmalige kennisniveau. Verder werden aanzetten gedaan om tot een eenduidige wijze van inspecteren te komen van de houten paalfunderingen (1998 1<sup>ste</sup> protocol VNG), wat inmiddels heeft geresulteerd in een volwassen document: F3O richtlijn 2016 (3<sup>de</sup> druk).

## **1.2 Aantasting onder water**

Het huidige kennisniveau van aantasting van hout onder water door bacteriën geeft aan dat het om een consortium van verschillende soorten gaat die allen van elkaar afhankelijk zijn. De een leeft van de afvalstoffen van de anderen. De schatting is, dat er mogelijk 10 soorten betrokken zijn. De houtaantastende bacteriën zijn niet mobiel (ze hebben geen flagel) en zijn voor hun verplaatsing dan ook afhankelijk van celdeling, beweging van hun slijm laag waarmee ze aan de celwand verklevan en waterstroming in het hout. Het is gebleken dat wanneer in hout geen waterbeweging plaats vindt en het zich onder zuurstofloze omstandigheden bevindt, het hout niet wordt aangetast. Opgravingen van meer dan 6000 jaar oude, geheel gezonde grenen stammen, bewijzen dit.

## **1.3 Uitgangspunten onderzoek**

Om bacteriële houtaantasting te stoppen wordt ingezet om waterbeweging in het hout te stoppen. Empirische waarnemingen aan heipaalmonsters gaven de indruk dat verblauwd grenenspint een



hogere weerstand tegen bacteriële aantasting heeft dan niet verblauwd grenen spint. Dit wordt in verband gebracht met het verstoppem van de houtstructuur door de blauwschimmeldraden. Mogelijk zijn er nog andere biologische processen die de houtstructuur kunnen verstoppem. Hierbij wordt onder andere gedacht aan activiteiten van niet-hout-aantastende bacteriën. Indien biologische processen niet in staat zijn houten palen in situ voldoende te kunnen verstoppem dan zou ook nog gebruik gemaakt kunnen worden van stoffen die aan het grondwater worden toegevoegd en die de eigenschap hebben om met hout te reageren en zodoende tot verstopping zouden kunnen leiden. Ongeacht de methode die gekozen zal worden, is het belangrijk om in de praktijk te kunnen vaststellen of de methode ook effectief is in het blokkeren van de waterstroming in het hout. Een meettechniek om de waterstroming in de palen vast te stellen is dan ook wenselijk.

De hoofdopdracht binnen deze studie was om vast te stellen of verblauwing een goede conserveringsmethode is voor houten heipalen tegen aantasting onder water. Omdat grenen spint het meest gevoelig hiervoor is, is deze houtsoort als uitgangspunt genomen. Omdat de effectiviteit van verblauwing niet duidelijk is, is deze studie ook gebruikt om mogelijke alternatieve methodes te vinden en hierbij is een screening gemaakt van potentiële stoffen die in situ voor verstopping van de houtstructuur kunnen zorgen. Omdat het uitgangspunt hierbij het reageren met het hout is, is de screening vooral uitgevoerd op basis van de kennis die de afgelopen jaren is opgedaan op het werkveld van houtmodificatie.

Om de effectiviteit in de praktijk te kunnen monitoren is tevens gezocht naar potentiële meetmethoden om watertransport in houten heipalen te kunnen meten.

#### **1.4 Leeswijzer**

Hoofdstuk 1 geeft de uitgangspunten en de achtergrond van het onderzoek aan. Hoofdstuk 2 beschrijft het gebruikte onderzoeksmateriaal. In hoofdstuk 3 wordt de onderzoeksmethode beschreven. Daarbij wordt onderscheid gemaakt tussen de voorbereidende werkzaamheden waarbij experimenten (§ 3.2 en §3.3.1 en 3.3.2) als voorexperimenten worden gezien die meer informatie moeten leveren over het initiëren van het biologische proces dat als potentiële conserveringsmethode wordt gezien. In § 3.4 wordt het hoofdexperiment beschreven. Tenslotte wordt in §3.5 de zoektocht naar mogelijke alternatieve verstopingsmethodes beschreven. Hoofdstuk 4 laat de resultaten zien van de voor- en hoofdexperimenten, mogelijke alternatieven en een mogelijke methode om de mate van conservering in de praktijk te monitoren. In hoofdstuk 5 worden de resultaten vergeleken met literatuurgegevens en besproken in het kader van de vraagstelling. Hoofdstuk 6 geeft de conclusies en hoofdstuk 7 geeft aanbevelingen voor de vertaling van de resultaten naar een praktische conserveringsmethode.



## 2. Materiaal

### 2.1. Stamhout eerste serie

Op 21 januari 2016 zijn bij het Geldersch landschap en Kasteelen (contactpersoon Menno Tillema, hoofd bouwkunde) zes vers gevelde grenen stammen opgehaald. De stammen hadden diameters variërend van 12 tot 22 cm.







Zes stammen van het Geldersch Landschap & Kasteelen



Extra stam (jaarringen spint 30, totaal 50)



Extra stam (jaarringen spint 21, totaal 38)

|   | Stammen   |   |   |   |
|---|---|---|---|---|
|   | 1   | 2   | 3   | 4   |
| Kopse kanten                              |  |  |  |  |
| Jaarringen aantal spint/totaal            | 20/38   | 19/49   | 26/32   | 21/26   |
| Diameter [cm]                             | 20  | 17  | 15  | 12  |
| Spintbreedte [cm]                         | 6,5   | 7   | 8   | 8   |
| Totale kopse oppervlak [cm <sup>2</sup> ] | 314   | 227   | 177   | 113   |
| Spintoppervlak [cm <sup>2</sup> ]         | 171   | 148   | 138   | 100   |

Vier stammen (genummerd als 1, 2, 3 en 4) zijn voor de experimenten gebruikt, de andere twee waren reserve. De genummerde stammen zijn in vier stukken van 23 cm lengte gezaagd (A, B, C, D). Elk stamstuk heeft een specifieke behandeling ondergaan. In onderstaande tabel is aangegeven wat er met de stamstukken is gedaan.

| monster | behandeling                 |                       |                       |
|---------|-----------------------------|-----------------------|-----------------------|
| A       | 7 dagen kopse vlak gedroogd | Ingezet in experiment |                       |
| B       | Ingezet in experiment       |                       |                       |
| C       | Opgeslagen                  | Verblauwd             | Ingezet in experiment |
| D       | reserve                     | --                    | --                    |

Alle stamstukken zijn in plastic geseald en gesteriliseerd (gamma-doorstraald met 25-50 kiloGray). Hiervoor zijn de stammen op 2-2-2016 opgestuurd naar *Synergy Health* te Ede. Bij terugkomst (9-2-2016) bleek de folie bij twee stamstukken te zijn gescheurd, deze stammen zijn niet meegenomen in de experimenten.



Gamma-doorstraalde stammen (d.d. 12-2-2016)



Ontschorst stammen v.l.n.r. 2, 1, 4 en 3 (d.d. 24-2-2016)

## 2.2. Stamhout tweede serie

Op 12 mei 2016 zijn op het landgoed Prattenburg (contactpersoon Gerard Koopmans, rentmeester) twee extra, in het voorjaar gevelde grenen stamstukken gehaald. Dit hout is gebruikt om te worden verblauwd.

## 2.3. Stamhout derde serie

Op 14 juni 2016 zijn op landgoed Welda (Diepenheimseweg 102 Markelo, contactpersoon André Dreteler, rentmeester) verblauwde grenen stammen opgehaald. Het zijn echter stammen die enkele jaren gewaterd zijn maar in verband met blauw niet gebruikt worden. De stammen lagen ongeveer één jaar op het land en waren ontschorst. Van vijf stammen zijn stukken gezaagd. Eén stam was behoorlijk verblauwd en van deze stam zijn uit het verblauwde onderstuk 8 stamstukken gezaagd (lengte circa 27 cm, diameter 29 cm, spintbreedte 7,5 cm).

Direct na aankomst bij SHR zijn twee stammen in epoxy geseald en aan de bovenzijde van een kraag voorzien. De andere stukken zijn buiten uit de zon onder zeil op de grond opgeslagen. Twee schijven van circa 6 cm dik zijn gebruikt om het houtvochtgehalte vast te stellen. Dit bleek over de hele stam 31 en 40% te zijn.



Stamstukken zagen op Welda



Alle stamstukken bij SHR



Met stamstuk 2 (deze) en 3 is het experiment ingezet





## 3. Methode

Er is een experimentenreeks opgezet om te kijken of grenen stammen verstopt kunnen worden door het stimuleren van biologische activiteit. Hoofdexperiment is het bepalen van waterstroming door behandelde stammen. Het uitgangspunt bij de behandeling was verstopping door verblauwing. In dit hoofdstuk worden de verschillende onderdelen beschreven:

1. Het maken van een sporensuspensie, waarmee hout behandeld kan worden en waarmee de infectie met blauwschimmel versneld zou kunnen worden.
2. Het simuleren van blauwschimmelgroei in hout onder laboratoriumomstandigheden. Hiermee wordt informatie verkregen, die gebruikt kan worden om de stammen voor het hoofdexperiment effectief te behandelen en die gebruikt kan worden voor een vertaling naar een praktische conserveringsmethode.
3. Het zoeken naar een goede methode om de stammen voor het hoofdexperiment te behandelen.
4. Het behandelen van de stammen voor het hoofdexperiment.
5. Het klaar maken van de stammen voor het hoofdexperiment.
6. Het uitvoeren van het hoofdexperiment.

### 3.1. Maken van de sporensuspensies

Op 26 januari 2016 is gestart met het maken van de sporensuspensie. Hierbij is zoveel mogelijk de EN 152 gevolgd. In 500 ml steriel mout-extract zijn twee soorten blauwschimmels geënt (*Aureobasidium pullulans* en *Sydowia polyspora*) direct uit de buis waarin ze zijn aangeleverd. De erlenmeyer met het mout-extract is 5 dagen geschud en daarna is het aantal sporen bepaald. Volgens EN 152 moet dit minimaal 300.000 sporen/ml zijn. De tellingen zijn gedaan in een Bürker-Türk-telkamer (kleine kamer in objectglas). Het gemiddelde van 15 tellingen was 4.1 voor *Aureobasidium pullulans* en 8.8 voor *Sydowia polyspora*. Omgerekend naar aantallen sporen per milliliter leverde voor *Aureobasidium pullulans* 1.033.333.333 en voor *Sydowia polyspora* 2.200.000.000 op.



Beide schimmeloplossingen zijn samengevoegd via een filter (wegvangen van mycelium en schimmeldraden) waardoor een oplossing met alleen sporen ontstond: de sporensuspensie. Op 17 februari en 15 maart en 12 april is deze procedure voor het maken van sporensuspensie, herhaald. Op 12 april is 40 liter sporensuspensie gemaakt in plaats van 500 ml. De gemaakte oplossingen zijn gebruikt om het hout mee te behandelen.

### 3.2 Voorverblauwingsexperiment

In het voorverblauwingsexperiment is door middel van een aantal voortestjes getracht een idee te krijgen over de snelheid waarmee blauw zich in het hout kan verspreiden. Hierbij is gebruik gemaakt van klimaatkamers waarin optimale omstandigheden voor de groei van blauwschimmels zijn gecreëerd, houtvochtgehalte en een sporensuspensie.

#### 3.2.1 Eerste serie

Op 1 februari zijn twee grenen planken, uit de SHR voorraad, met veel spint, behandeld met sporensuspensie (gemaakt 26-1-2017). Bij de ene plank is de langszijde ingesmeerd met de suspensie en bij de andere plank de kopse kant. Monsters zijn hierna in een klimaatkamer (28°C en 90% RV) gezet.

De monsters zijn na 2, 5, 7, 10 en 14 dagen visueel beoordeeld op verblauwing.

#### 3.2.2 Tweede serie

Op 23 februari is de 2<sup>de</sup> serie ingezet. Dit waren vier grenen kwarten afkomstig van elk van twee stammen (verkregen via het Geldersch landschap & Kasteelen). Het vochtgehalte van het spint en het kernhout van de stammen is gemeten (capacitieve houtvochtmeter SHR/133). Hierna zijn de kwarten volgens onderstaande tabel behandeld (hierbij is sporensuspensie van 17 februari gebruikt). Monsters zijn hierna in een klimaatkamer (27°C en 90% RV) gezet. De monsters zijn na drie dagen, op 26 februari, visueel beoordeeld en op 1 maart zijn radiale coupes gesneden met een dikte van 20 µm en deze zijn onder het microscoop beoordeeld op de aanwezigheid van hyfen (schimmeldraden) en indien deze niet aanwezig waren op de aanwezigheid van schimmelsporen.

| Monster | Houtvochtgehalte [%] |      | Aanbrengen sporen op 23-2-16 |                            |
|---------|----------------------|------|------------------------------|----------------------------|
|         | spint                | kern | Met kwast                    | Vacuüm-druk                |
| 1a      | 41,5                 | 23,2 | ja                           | Nee                        |
| 1b      |                      |      | nee                          | Verdund met extra dextrine |
| 1c      |                      |      | nee                          | Verdund                    |
| 1d      | 45,5                 | 30,4 | ja                           | Nee                        |
| 3a      | 39                   | 22,4 | ja                           | Nee                        |
| 3b      |                      |      | Nee                          | Verdund met extra dextrine |
| 3c      |                      |      | nee                          | Verdund                    |
| 3d      | 55,4                 | 36,7 | ja                           | Nee                        |



De acht kwarten zoals die in de kimaatkamer hebben gestaan

### 3.2.3 Derde serie

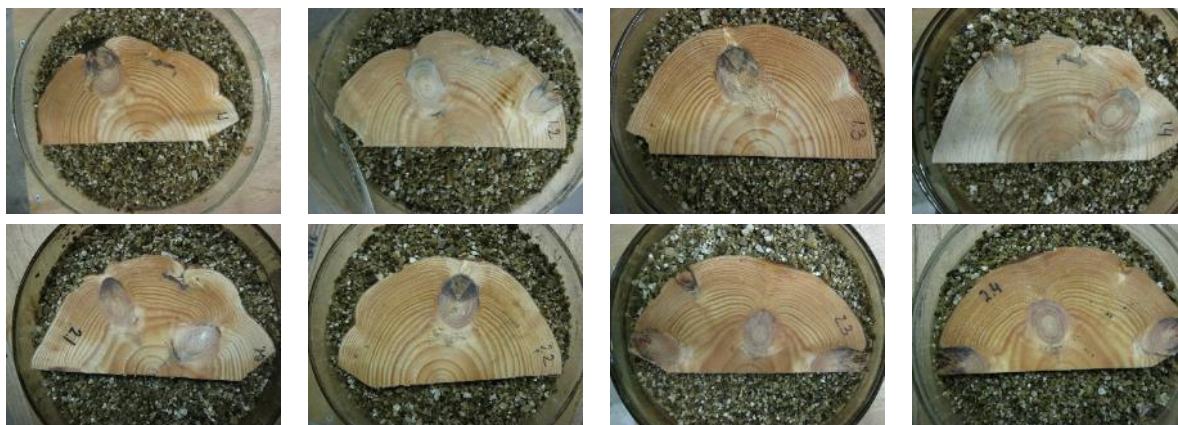
Op 10 maart zijn acht halve grenen schijven van ongeveer 1 cm dik, in een klimaatkast (SHR kast nr. 330, circa 20°C, 50% RV) gezet. De schijven zijn afkomstig van één stam zoals verkregen via het Geldersch landschap & Kasteelen. Om een idee te krijgen over de relatie tussen het aanbrengen van de sporensuspensie, het vochtgehalte en de snelheid van verblauwing zijn deze schijven getest volgens de EN 152. Dit is een norm waarmee de effectiviteit van een verduurzamingsmiddel tegen verblauwing wordt getest. Niet behandeld grenen wordt in deze test meegenomen als referent en de referenten zijn na de test volledig verblauwd. In dit onderzoek is al het hout onbehandeld grenen met veel spint. In tegenstelling tot de EN 152, waar met gesteriliseerde blokjes van 40\*10\*90 mm wordt gewerkt, zijn hier niet-gesteriliseerde schijven gebruikt.

De EN 152 vraagt om een geklimatiseerd vochtgehalte bij 65% RV en 20°C. Het verloop van het houtvochtgehalte tijdens klimatiseren staat weergegeven in onderstaande tabel.

| Houtvochtgehalte [%] bij begin en verloop experiment |         |          |          |          |          |
|--|---------|----------|----------|----------|----------|
| monster  | 9 maart | 10 maart | 14 maart | 18 maart | 23 maart |
| 1,1  | 27%     | 16%      | 14%      | 15%      | 14%      |
| 1,2  | 21%     | 14%      | 13%      | 13%      | 13%      |
| 1,3  | 23%     | 15%      | 13%      | 13%      | 13%      |
| 1,4  | 22%     | 14%      | 12%      | 13%      | 13%      |
| 2,1  | 29%     | 15%      | 14%      | 14%      | 13%      |
| 2,2  | 28%     | 15%      | 13%      | 14%      | 13%      |
| 2,3  | 27%     | 15%      | 13%      | 13%      | 12%      |
| 2,4  | 23%     | 15%      | 13%      | 13%      | 13%      |

Op 23 maart waren de halve schijven geklimatiseerd en zijn ze in gesteriliseerde (30 min in de autoclave bij 121 ± 1°C) petrischalen gelegd met 500 ml vermiculiet (gezeefd >1,4 mm) en 200 ml demiwater. De schijven 1.2, 1.4, 2.2 en 2.4 zijn gedompeld in een sporensuspensie (gemaakt op 15

maart) en in een petrischaal gelegd met 40 ml sporensuspensie toevoeging. Dit is de procedure zoals beschreven in de EN 152. De schijven 1.1, 1.3, 2.1 en 1.3 zijn ingesmeerd met een sporensuspensie (gemaakt op 15 maart) en zonder extra toevoeging in de petrischalen gelegd. De monsters zijn in een klimaatkamer gezet bij 28°C en 95% RV. De petrischalen van de monsters 1.1, 1.2, 2.1 en 2.2 hadden deksels en die van monsters 1.3, 1.4, 2.3 en 2.4 hadden geen deksels.



24 maart, start experiment

### 3.3. Behandelingsmethode

#### 3.3.1 Kleine blokjes

Grenen blokjes (15x25x50 mm) zijn op 1 maart met de sporensuspensie behandeld. De onderstaande tabel laat de verschillende behandelingen zien. Hierna zijn de blokjes geconditioneerd bij 27°C, 90% RV.

| Monster   |                         | Behandeling: dippen in sporensuspensie |                        |                                 |
|---|-------------------------|--|------------------------|---------------------------------|
| code  | VM [kg/m <sup>3</sup> ] | Gewicht monster [g]                    | toegevoegde sporen [g] | Vochtgehalte [%] na impregneren |
| A1  | 447                     | 8,3879                                 | 0,8908                 | 23%                             |
| A2  | 431                     | 8,0736                                 | 1,136                  | 27%                             |
| A3  | 628                     | 11,7734                                | 1,0192                 | 21%                             |
| A4  | 460                     | 8,6271                                 | 1,0104                 | 24%                             |
| A5  | 522                     | 9,7791                                 | 1,0491                 | 23%                             |
| Behandeling: impregneren met water en dan dippen in sporensuspensie |                         |  |                        |                                 |
| B1  | 449                     | 8,4243                                 | 0,3098                 | 126%                            |
| B2  | 671                     | 12,5806                                | 0,2236                 | 84%                             |
| B3  | 655                     | 12,2764                                | 0,3121                 | 91%                             |
| B4  | 610                     | 11,433                                 | 0,2975                 | 96%                             |
| B5  | 458                     | 8,5872                                 | 0,3449                 | 142%                            |

| Behandeling: impregneren met water, bij 60°C onder zeil, dippen in sporensuspensie |     |         |         |      |
|--|-----|---------|---------|------|
| C1   | 477 | 8,9507  | 0,36    | 129% |
| C2   | 583 | 10,9361 | 0,3318  | 84%  |
| C3   | 661 | 12,3984 | 0,28    | 87%  |
| C4   | 480 | 8,9943  | 0,3578  | 113% |
| C5   | 647 | 12,1236 | 0,3601  | 88%  |
| Behandeling: impregneren met sporensuspensie                                       |     |         |         |      |
| D1   | 438 | 8,2173  | 7,6393  | 114% |
| D2   | 603 | 11,3017 | 3,8103  | 49%  |
| D3   | 466 | 8,7461  | 8,1211  | 114% |
| D4   | 630 | 11,8184 | 5,1211  | 59%  |
| D5   | 513 | 9,6268  | 9,2621  | 118% |
| Behandeling: impregneren met sporensuspensie, bij 60°C onder zeil                  |     |         |         |      |
| E1   | 642 | 12,0444 | 9,6207  | 100% |
| E2   | 427 | 8,0139  | 8,4668  | 129% |
| E3   | 631 | 11,8362 | 7,2822  | 79%  |
| E4   | 477 | 8,9482  | 10,0624 | 136% |
| E5   | 459 | 8,6027  | 5,0508  | 76%  |

Op 7 maart is één blokje per serie visueel op blauw beoordeeld.

### 3.3.2 Voorproef stammen

Van de eerste serie stamhout zijn plakken gezaagd en deze zijn op 23 februari op verschillende manieren met de sporensuspensie geïmpregneerd.

De behandeling vond plaats in de impregneerketel van SHR. De houtmonsters zijn in een bak gevuld met sporensuspensie gelegd waarbij ze geheel in de oplossing lagen en onder vacuüm geïmpregneerd. In een tweede experiment is glucose toegevoegd aan de sporensuspensie en ook hiermee zijn de monsters onder vacuüm geïmpregneerd. Bij het tweede experiment zijn de houtmonsters gedeeltelijk boven de sporensuspensie uitgekomen.

Met de periode van vacuüm is gevarieerd:

Monsters 1b en 3b: 20 minuten met -0.8 bar

Monsters 1c en 3c: 30 minuten -0.8 bar en met toegevoegde glucose (zoals voorgeschreven in NEN-EN-ISO 846).

Onderstaande tabel geeft verdere informatie over de behandeling en monsters.

|    | Lengte | startgewicht | opname sporensuspensie |      |
|----|--------|--------------|------------------------|------|
|    | [cm]   | [g]          | [g]                    | [%]  |
| 1b | 11     | 1389,6       | 83,4                   | 6,0  |
| 3b | 6      | 604,33       | 65,69                  | 10,9 |
| 1c | 10     | 1284,1       | 73,1                   | 5,7  |
| 3c | 6      | 541,45       | 64                     | 11,8 |

### 3.3.2 Behandeling stammen hoofdexperiment

Op basis van de resultaten van 3.3.1 is voor onderstaande behandelingsstrategie gekozen. Uit elke via het Geldersch landschap & Kasteelen aangeleverde stam zijn tussen de takkransen 4 stamstukken (A, B, C, rest) gezaagd, elk met een lengte van circa 25 cm. De 4 stamstukken uit serie A zijn gedurende 1 week in een continue luchtstroom gedeeltelijk gedroogd en hierna klaar gemaakt voor het experiment. De 4 stamstukken uit serie B zijn direct klaargemaakt voor het experiment. De 4 stamstukken uit serie C zijn op 11 mei 2016 geïmpregneerd (0,5 uur vacuüm, -0.7 bar en 0,5 uur druk, 6 bar) met de sporensuspensie. Hierna zijn de serie C stamstukken op verschillende locaties neergezet om de blauwschimmels te laten uitgroeien, zie onderstaande tabel. De reststukken zijn gebruikt om een aantal voorexperimenten te doen.

|    | VM                   | Hoogte stam | Opname sporensuspensie | locaties na behandelen |                            |
|----|----------------------|-------------|------------------------|------------------------|----------------------------|
|    | [kg/m <sup>3</sup> ] | [cm]        | [g]                    | [%]                    |                            |
| 1c | 411                  | 27          | 6801                   | 95                     | 26 °C 30% RV (oven bordes) |
| 2c | 521                  | 27          | 6544                   | 105                    | 27 °C 90% RV (kl-kamer)    |
| 3c | 528                  | 27          | 4678,6                 | 86                     | Buiten overdekt (houthok)  |
| 4c | 634                  | 27          | 3780,5                 | 95                     | 15°C, 60%RV (IOP-huisje)   |

### 3.3.3 Behandeling mogelijke alternatieve stammen voor hoofdexperiment

Omdat de voorverblauwingsproef weinig verblauwing liet zien, werd gedacht dat dit mogelijk te maken had met winterhout. Bij winterhout zijn de suikers in het hout opgeslagen als zetmeel. Om dit te controleren is een in mei gevelde stam opgehaald in Prattenburg (12 mei 2016). In deze stam zou het opgeslagen zetmeel al moeten zijn omgezet in vrije suikers. Deze suikers zijn een aantrekkelijkere voedingsbron voor (blauw)schimmels. Op 13 mei is deze stam in stukken gezaagd en zijn er verschillende behandelingen uitgevoerd (zie onderstaande tabel).

|                | behandeling       | stam        |             | Opname sporensuspensie |     |
|----------------|-------------------|-------------|-------------|------------------------|-----|
|                |                   | Lengte [cm] | Gewicht [g] | [g]                    | [%] |
| 5a             | water             | 27          |             |                        |     |
| 5b             | chloor            | 27          |             |                        |     |
| 5c             | blauw impregneren | 27          | 5316        | 1759                   | 33  |
| 5d             | blauw bestreken   | 27          |             |                        |     |
| 5 <sup>e</sup> | blauw bestreken   | 27          |             |                        |     |
| 5h             | blauw impregneren | 10          | 908         | 427                    | 47  |
| 5k             | blauw bestreken   | 10          |             |                        |     |



### 3.4 Monster voorbereiding en waterstroomexperiment

Tijdens het waterstroomexperiment komt een laagje water van circa 20 mm op het kopse stamhout te staan en het water dat door de stam heen loopt wordt onder de stam opgevangen. Om dit experiment te kunnen uitvoeren zijn de stammen aan de buitenzijde gecoat met epoxy en aan de bovenzijde voorzien van een kraag.

#### 3.4.1 Epoxy coating

Als epoxy is Poly-Pox GT 600 gebruikt, thixotrope oplosmiddelvrije epoxyhars, die is gemengd met Poly-Pox Harder 355 (mengverhouding in gewichtsdelen hars/harder = 100:50, potlife van ca. 25 minuten). Als kraag is geweven glasvezelband (280 gr/m<sup>2</sup>, breedte 10 cm) gebruikt, welke gedrenkt is in de epoxy. Met de kraag wordt een ruimte op het kopse stamhout gecreëerd waar water in gezet kan worden. Voordat de epoxy is aangebracht zijn de stammen iets gedroogd aan de buitenzijde (2 uur in een zuurkast), wat de hechting met de epoxy verbeterde. De kraag is bij de stammen uit de serie A en B in eerste instantie zodanig aangebracht, dat de onderste helft van de stammen niet gecoat werden. Later is bij deze stammen de coating alsnog over de gehele stam aangebracht. De andere stammen zijn meteen over de gehele lengte gecoat.

#### 3.4.2 Voorexperiment waterstroming

Uit de stam van Prattenburg en die van het Geldersch landschap & Kasteelen zijn staakjes gezaagd van 20x20x200 mm en deze zijn voorzien van een epoxylaag met een epoxykraag (zie 3.4.1). De staakjes zijn in een zuurkast zodanig opgehangen dat op het kopse hout water kon worden gezet en dat onder de staakjes het doorgestroomde water kon worden opgevangen.

Op 27 juni 2016 is het experiment gestart door water op het kopse hout te zetten. Om de paar dagen is de hoeveelheid water in het bekersglas bepaald en is het glas leeggegooid.



Voorexperiment waterstroming (v.l.n.r.: 1, 2, 3, A en B)



### 3.4.3 Inzetten en verloop waterstroomexperiment

Op het kopse hout van de stamstukken is 20 mm water gezet. Het wateroppervlak op het stamstuk wordt op één niveau gezet met het waterniveau in een grote voorraadbak met water. De stamstukken zijn met de waterbak verbonden via slangetjes en het waterniveau op de stamstukken wordt op basis van de wet der communicerende vaten via de grote waterbak aangevuld. Een vlotter houdt het waterniveau in de grote bak op een constant niveau. Aan dit systeem kunnen meerdere stamstukken worden gekoppeld.

Het water dat door de stammen loopt wordt opgevangen in een grote trechter, waarin de stammetjes staan. Via de trechter wordt het doorgelopen water in een bekeerglas / emmer opgevangen. Het aantal milliliters in het bekeerglas wordt een paar keer per week bepaald waarna het doorgelopen water wordt weggegooid. Boven de 200 ml wordt het volume in een maatbeker bepaald en beneden de 200 ml wordt het volume door weging bepaald.

### 3.4.4 Hoofdexperiment serie A en B

De vier A en vier B stamstukken zijn na bestralen uit de folie genomen en ontschorst op 24-2-2016 (zie foto), hierna is de coating en kraag aangebracht zoals beschreven in 3.4.1 en zijn de stammen in het experiment gezet (zoals beschreven in 3.4.3). Op 3 maart 2016 zijn de metingen begonnen (zie onderstaande foto).



Experiment met de A en B serie stammen



Serie A stam 4



Serie A stam 2



Serie A stam 3



Serie A stam 1



Serie B stam 4



Serie B stam 2



Serie B stam 3



Serie B stam 1

Na 10 weken (4 mei 2016) bleek op het niet gecoate hout veel oppervlakteschimmels te groeien. Deze zijn met ethanol verwijderd en hierna is de volledige langszijde van de stammetjes alsnog ingeseald met epoxy.

### 3.4.5 Hoofdexperiment, serie gewaterde stammen

Op 17 juni 2016 zijn twee gewaterde verblauwde stammen (serie D afkomstig van landgoed Welda) voorzien van een epoxylaag en kraag volgens 3.4.1 en aangesloten op het experiment volgens 3.4.3 (zie foto's). Na 3 weken is het waterstroomexperiment gestopt omdat de waterstroming door de stammen te groot was.



Op lintzaag op maat zagen



Aanbrengen van de kraag en epoxy



Experiment met de verblauwde hout van Welda

Op 5 oktober zijn twee gewaterde verblauwde stammen opnieuw aangesloten aan het waterstroomexperiment (volgens 3.4.3). De ene stam was al eerder aangesloten geweest en de andere stam was een nieuw gecoate stam (volgens 3.4.1.). De eerder aangesloten stam heeft steeds in de ruimte van het waterstroomexperiment gestaan en het kopse vlak is hierbij steeds afgedekt geweest met nat papier.



Op 5 oktober zijn twee verblauwde stammen opnieuw in de proefopstelling gezet.



Afgekoppelde verblauwde stam in een warme donkere klimaatkamer met een suikeroplossing op het kopse hout

Op 25 oktober is één van de verblauwde stammen (waar het water het snelst doorheen liep) uit het experiment gehaald en in een warme donkere klimaatkamer gezet (27°C, 90% RV). Vijfendertig dagen lang is de kraag dagelijks gevuld met suikerwater (oplossing 2000 ml met 100 g suiker). Hierna is de stam weer terug geplaatst in het experiment.

#### 3.4.6 Hoofdexperiment serie C

Deze serie van vier stammen is in het SHR laboratorium gedurende circa 3 maanden verblauwd (zie ook 3.3.2): 1C: 26°C, 30%RV; 2C: 27°C, 90% RV; C3: buiten overdekt; C4: 15°C, 60% RV. Na de incubatietijd zijn de buitenkanten van de stammen ontdaan van schimmeloppervlaktegroei en zijn de stammen op lengte (23 cm) gezaagd. Hierdoor werden schone kopse kanten verkregen. In stam 1C waren twee grote radiale scheuren aanwezig over de volle lengte van de stam. Deze scheuren zijn afgedicht. In bijlage 2 staan foto's van de wel en niet schoongemaakte stammen.

Op 1 september 2016 is het experiment met de stammen van de serie C ingezet volgens de werkwijze uit 3.4.1 en 3.4.3. Op 4 oktober zijn de stammen schoongemaakt (slijm verwijderd, zie Bijlage 2).





Het waterstroomexperiment met de serie C stammen

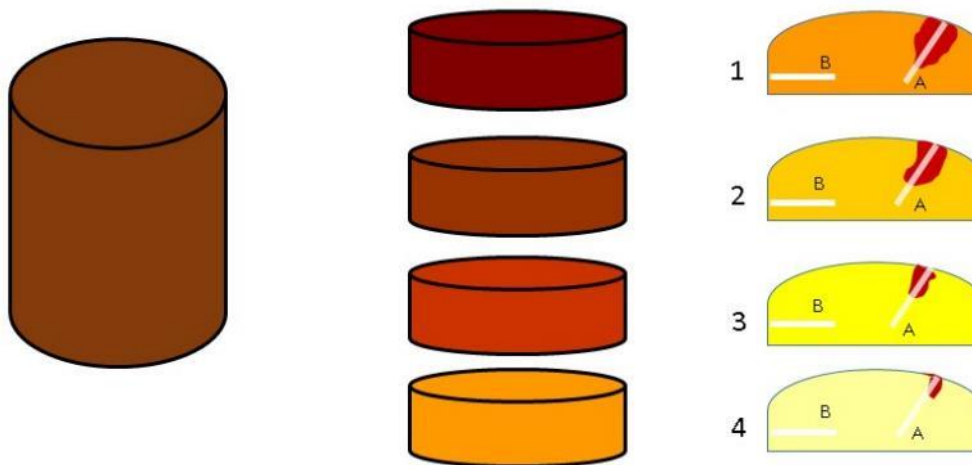
#### 3.4.7 Aankleuring gebieden van watertransport in de stammen.

Voordat het waterstroomexperiment bij de stammen werd gestopt, zijn de gebieden met waterstroming door de stammen zichtbaar gemaakt door aankleuring.

Hiertoe is een kopersulfaatoplossing (0,5%-ige oplossing kopersulfaat) op het kopse hout gezet gedurende 5 dagen. Hierna is het experiment afgebroken en is de stam voor verder onderzoek over de lengte opengezaagd. Eén stam helft is vervolgens in vier plakken gezaagd. Het kopse hout van de plakken en het langshout van de andere stamhelft zijn met een plantenspuit met diphenylcarbasid behandeld. Deze kleurstof kleurt in aanwezigheid van koper violet.

#### 3.4.8 Microscopisch onderzoek.

Uit de plakken zoals gemaakt in 3.4.7 voor de C serie, zijn radiale coupes gesneden met het microtoom van alle plakken. Er zijn coupes gesneden van het niet gekleurde hout (B: geen waterstroming) en uit het wel gekleurde hout (A: wel waterstroming). De coupes zijn onder het microscoop bekeken op de aanwezigheid en afwezigheid van blokkades in het hout. De coupes zijn gemaakt uit elke plak en dat betekent dus op vier niveaus in de stam (1: boven in de stam, 2 en 3 iets lager en 4 onder in de stam). De onderstaande figuur geeft hiervan een schematisch overzicht.



Verwerking van de stammen na aankleuring: links de gehele stam, midden de stam in vier plakken, rechts de halve schijven met aangekleurde kopersulfaat en plaats waar coupes zijn gemaakt (B: geen water stroming, A: wel waterstroming).

Voor de B serie is het microscopische onderzoek beperkt uitgevoerd aan alleen de bovenste plak.

### 3.5 Literatuurstudie naar modificerende stoffen

Bij deze literatuurstudie is gekeken naar de mogelijkheid tot het afsluiten van de houtstructuur met middelen die geen toxisch effect in de bodem hebben en waarvan de ervaring is dat ze in het hout gebracht kunnen worden en daar reageren. Uitgangspunt waren de ontwikkelingen in de houtmodificatiewereld. Verder zijn de volgende randvoorwaarden gehanteerd voor de middelen:

- zijn goed impregneerbaar in hout;
- kunnen worden ingebracht in een bestaande en functionerende houten heipaal;
- zijn milieuvriendelijk;
- zijn (uiteindelijk) biologisch afbreekbaar;
- reageren langzaam met het celwandmateriaal;
- verstoppen het hout;
- kunnen op een centraal punt aan de paal worden toegevoegd en zullen zich zodanig verdelen (door en langs de heipaal) dat er een effectieve blokkade ontstaat.

Bij het onderzoek is geput uit een aantal bronnen. Bekende (modificatie-)methoden uit de praktijk en bestaande industriële behandelingsmethoden zijn gescreend. Ook methoden die ooit onderzocht zijn, gepubliceerd zijn, maar nog niet commercieel/industriële worden toegepast, zijn gescreend. Methoden en technieken die SHR in de loop der tijd onderzocht heeft zijn gescreend. Andere stoffen en methoden dan beschouwd in de modificatiewereld die mogelijk kunnen functioneren als in situ modificatiemiddel in houten heipalen, zijn gescreend. Het overzicht is gemaakt op basis van literatuur en publicaties en er is gebruik gemaakt van de bestaande kennis en ervaring van SHR op dit gebied.



## 4.1 Voorverblauwing

### 4.1.1 Eerste serie

Hieronder is de visuele beoordeling weergegeven.

Na 1 week (8 februari 2016): Beide monsters zijn alleen aan de buitenzijde iets verblauwd (< 1mm diep).

Na 10 dagen (11 februari 2016): Verblauwing plaatselijk wat dieper (5-15 mm, zie foto's).

Monsters in tweeën gedeeld: één helft naar een andere ruimte (20°C / 65%RV)

Na 2 weken (15-2-16): Verblauwing iets dieper maar nog steeds oppervlakkig. Het lijkt erop dat iets droger hout iets meer is verblauwd.





Beide monsters bij start van het experiment op 1 februari



Na 2 dagen, al oppervlakkige verblauwing



Na 5 dagen, verdere uitbreiding van de oppervlakkige verblauwing



Na 10 dagen: monster 1 heeft enige verblauwing

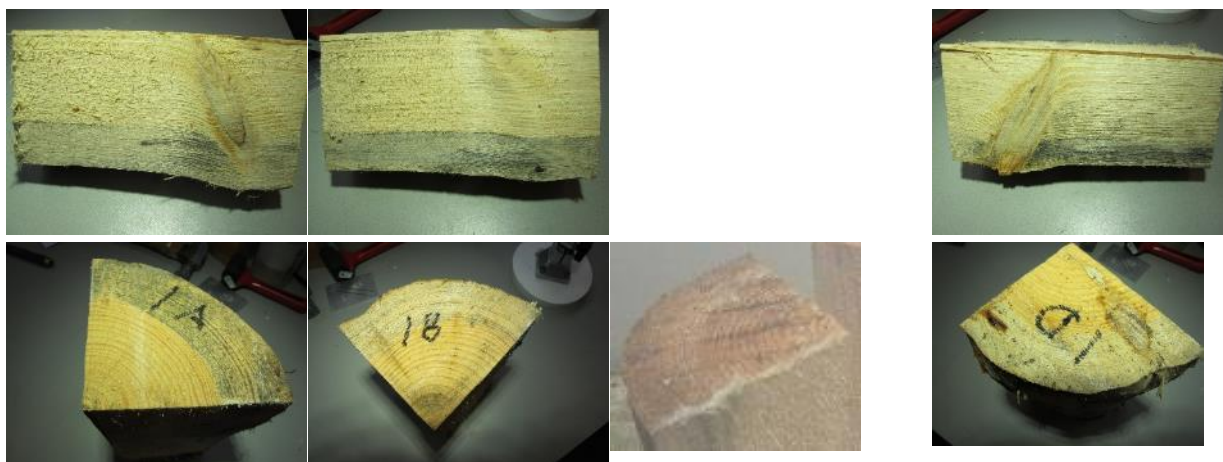


Na 10 dagen: monster 1, nu iets gedroogd, heeft enige verblauwing vooral in de buitenkant

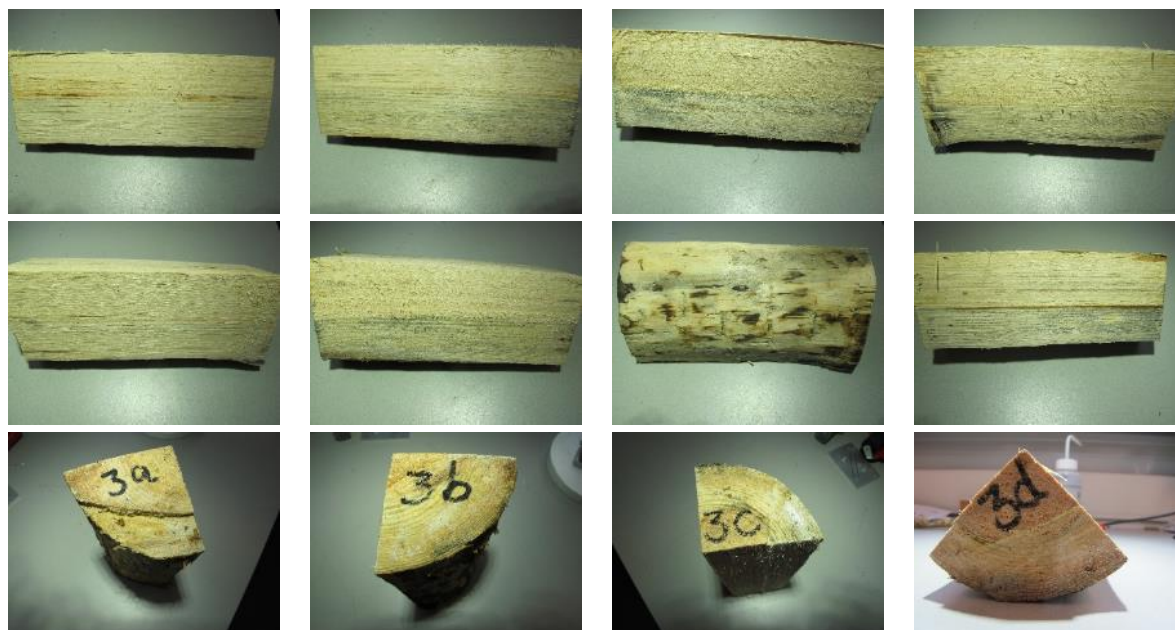
#### 4.1.2 Tweede serie

Tijdens de visuele beoordeling op 26 februari bleek dat alle kwarten slechts oppervlakkig (dus aan de buitenrand) waren verkleurd. Hier onder is een fotografische weergave van het verkleuringsbeeld. De verkleuring kon van het houtoppervlak gekrabd worden. Onder de verkleuring zat niet verkleurd hout.





26 februari: Monster 1a, 1b, 1c, 1d



26 februari: Monster 3a, 3b, 3c, 3d

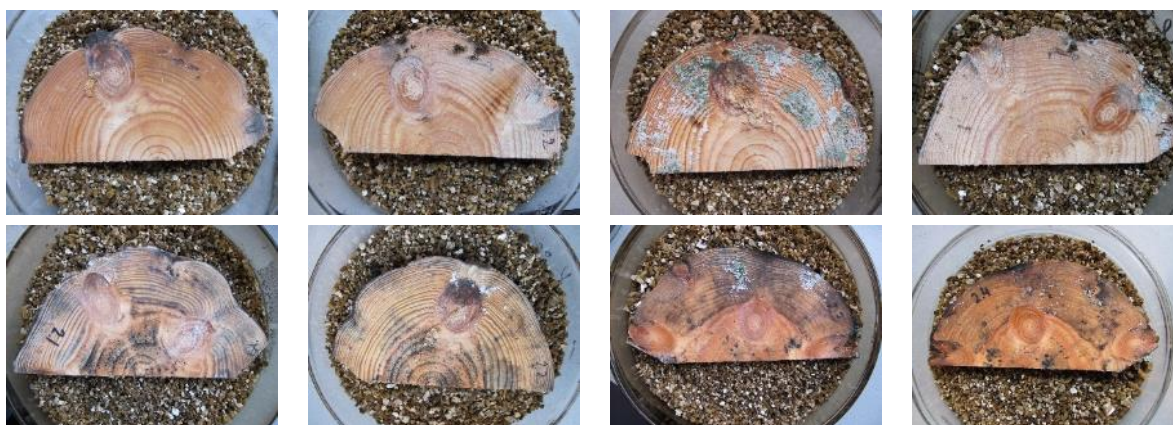
Ter controle van de 2<sup>de</sup> serie verblauwing zijn de kwarten van één stam (stam 1) op 1 maart microscopisch beoordeeld (radiale coupes bekeken onder het microscoop). Bij afwezigheid van hyfen is gekeken naar de aanwezigheid van sporen. De resultaten staan in de tabel hieronder aangegeven. In 3 stammen zijn hyfen waargenomen, maar in geen van de stammen zijn de bruine hyfen waargenomen, welke typisch zijn voor blauwschimmels.



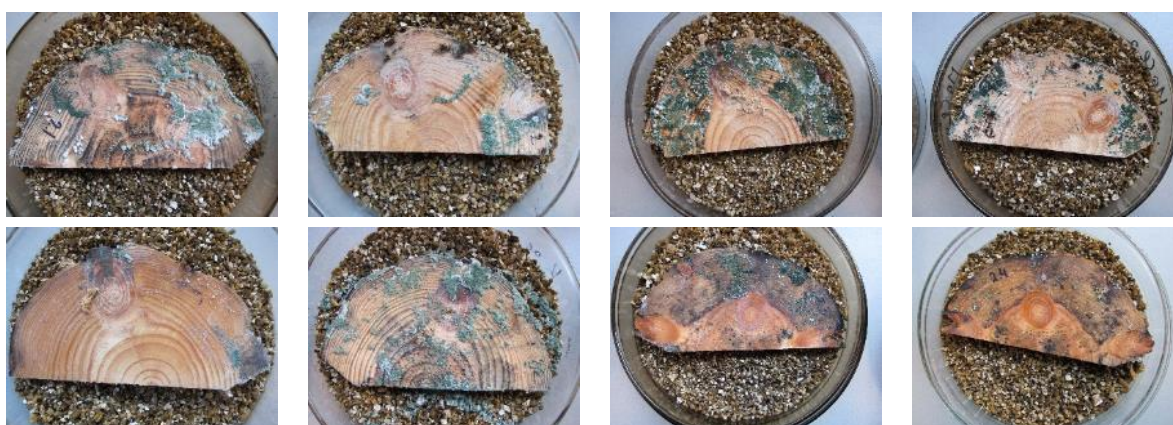
| Monster | drogen | Aanbrengen sporen |             | Observatie                |                |
|---------|--------|-------------------|-------------|---------------------------|----------------|
|         |        | Kwast             | impregneren | Transparante hyfen        | sporen         |
| 1a      | lucht  | Ja                |             | Enkele, buitenzijde stam  |                |
| 1b      |        |                   | ja          | weinig, in 20 mm          |                |
| 1c      |        |                   | ja          | geen                      | Enkele mm diep |
| 1d      | oven   | ja                |             | diverse, buitenzijde stam |                |

#### 4.1.3. Derde serie

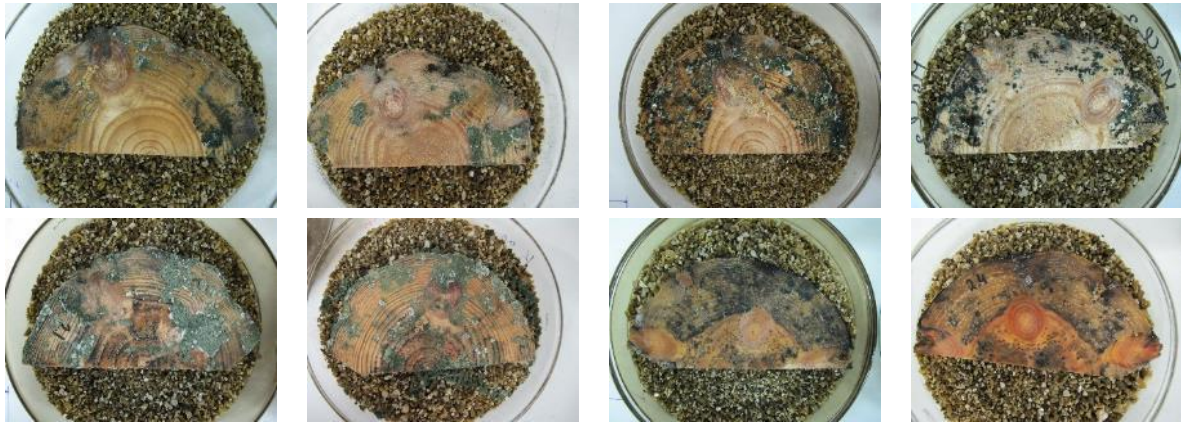
De verkleuring van de halve schijven was na 5, 8 en 13 dagen oppervlakkig. Het verkleurde hout kon weggekrabd worden en hieronder zat niet verkleurd hout. Omdat in een standaard EN 152 test, al na twee weken behoorlijke verblauwing zou zijn opgetreden, is de test afgebroken.



29 maart



1 april



5 april

## 4.2. Behandelingsmethode

### 4.2.1 Kleine blokjes

De visuele beoordeling op basis van één blokje per serie liet zien dat geen van de blokjes verblauwd was.

### 4.2.2 Voorproef stammen

De stamkwarten zijn visueel en microscopisch op blauwschimmeldraden en blauwschimmelsporen beoordeeld. Proefstukken die alleen aan de buitenzijde waren bestreken met de sporensuspensie (1a en 1d) bleken alleen in de buitenrand van het hout sporen en hyfen te hebben. Proefstukken die waren geïmpregneerd met de sporensuspensie (1b en 1c) bleken door het hele spint sporen te hebben en slechts lokaal hyfen (zie onderstaande tabel). Op basis van de resultaten van deze voorproef is besloten de stammen voor het hoofdexperiment te impregneren met de sporensuspensie. Hoewel de voorproef laat zien dat we nog niet in staat zijn om tot een versnelde hyfengroei (uit de sporen en verder in het hout) te komen, kunnen we wel door impregneren sporen door het hele spint inbrengen waardoor sneller een diepere blauwinfectie kan worden verkregen.

| Code en behandeling       | Microscopisch onderzoek over een radiaal van bastzijde tot 30 mm diep |
|---------------------------|---|
| 1B Geïmpregneerd          | Hyfen, weinig maar overal   |
| 1C Geïmpregneerd          | Hyfen, geen, sporen overal  |
| 1A Oppervlakkig bestreken | Hyfen, weinig alleen buitenzijde                                      |
| 1D Oppervlakkig bestreken | Hyfen, alleen buitenzijde   |

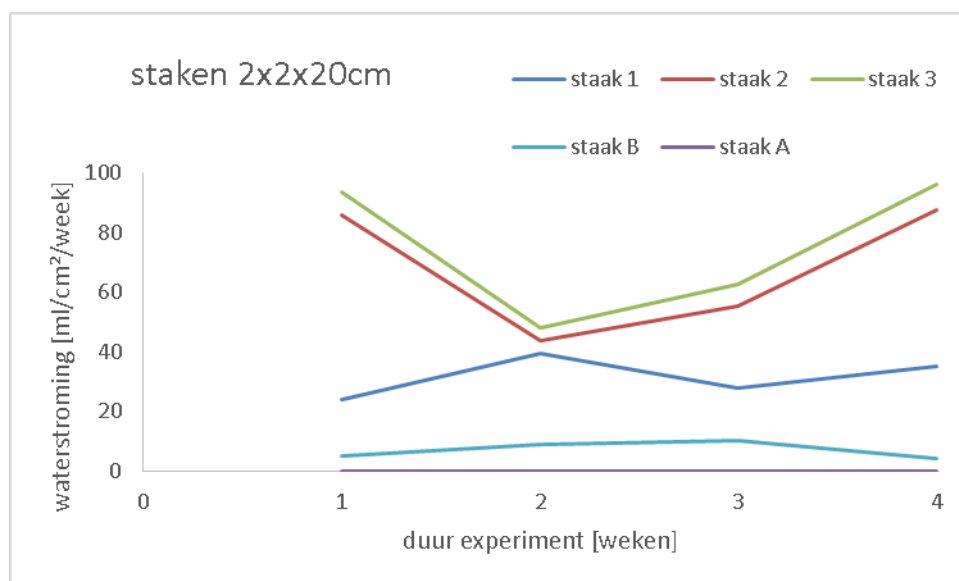
#### 4.2.3 Behandeling stammen hoofdexperiment

Al de stammen C1, C2, C3 en C4 waren behoorlijk begroeid met oppervlakte schimmel. Na het verwijderen van de oppervlakte schimmel was de visueel zichtbare verblauwing beperkt (zie Bijlage 2).

### 4.3 Waterstromingsexperiment

#### 4.3.1 Voorexperiment: staakjes

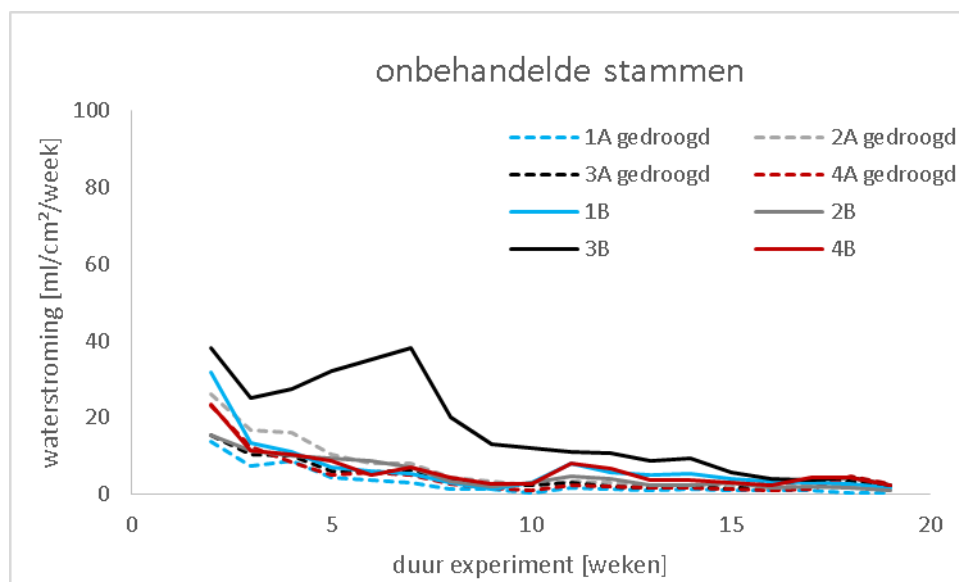
In onderstaande grafiek is de waterstroming door de staakjes per week weergegeven.



De grafiek laat grote verschillen zien tussen de staakjes. Eén staakje is geblokkeerd en één heeft een vrij lage doorstroming, twee staakjes hebben een hoge en vergelijkbare doorstroming en het vijfde staakje zit daar tussen in. Bij het geblokkeerde staakje bleek na afloop van het experiment epoxy op het kopse hout te zijn gekomen.

### 4.3.2 Hoofdexperiment serie A en B, de niet behandelde stammen

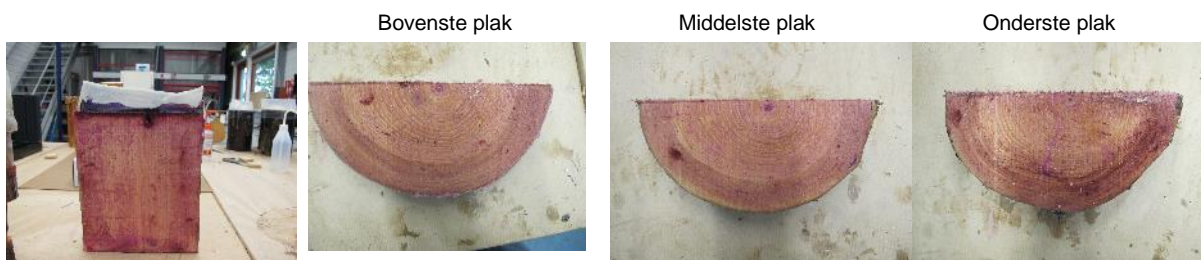
De waterdoorstroming in de niet behandelde stammen is bepaald van 3 maart tot en met 15 juli, de resultaten zijn opgenomen in de grafiek hieronder.



Tijdens het experiment ontstond bij alle A en B stammen op het kopse hout aan de bovenzijde een aanslag en aan de onderzijde bruinachtige slijmuitstulpingen. Het door de stam gelopen water was bruinig van kleur en iets slijmerig in constitutie. Op 17 mei (na 11 weken) en 10 juni 2016 (na 14 weken) zijn de kopse vlakken (boven en onder) schoongemaakt. (zie bijlage 1). Op 17 mei waren er op de stammen 2B, 3A en 4A aan de onderkant ook oppervlakteschimmels. Op 10 juni was op stam 1a aan de onderkant ook mycelium zichtbaar.

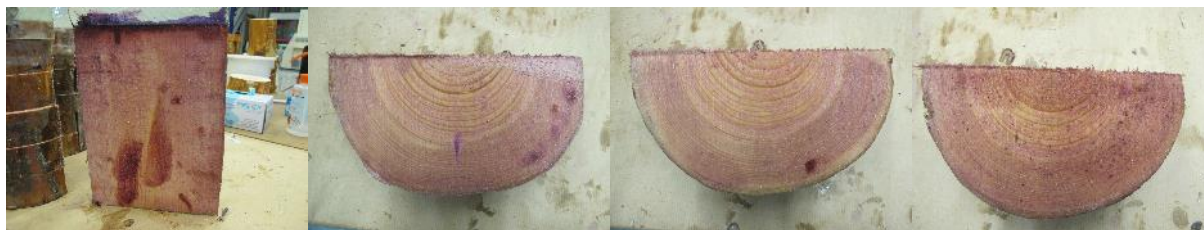
Met behulp van een FTIR scan is gecontroleerd of deze slijmlaag koolhydraat-gerelateerd was.

In de onderstaande fotoreportage is de aangekleurde watertransportweg door de palen van de A serie weergegeven. In geen van de palen is er een doorgaand watertransport door de houtstructuur.



Paal 1A: geen watertransport door de paal





Paal 2A: buiten enige waterindringing in de eerste 2 cm is er geen watertransport door de paal

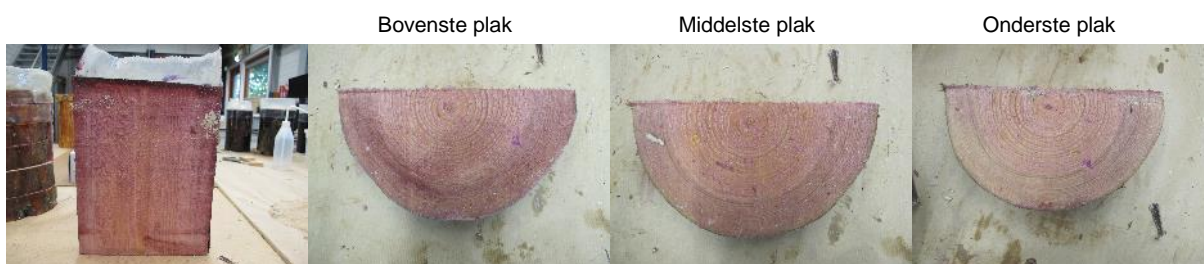


Paal 3A: alleen in de bovenste 8 cm enige waterindringing, verder geen watertransport door de paal



Paal 4A: geen watertransport door de paal

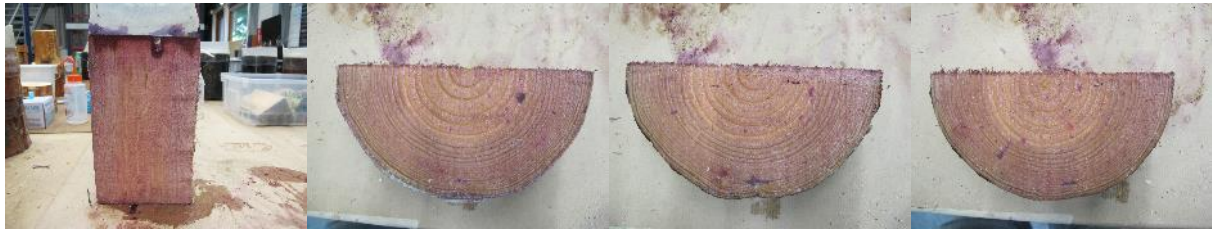
In de onderstaande fotoreportage is de aangekleurde watertransportweg door de palen van de B serie weergegeven. In geen van de palen is er een doorgaand watertransport door de houtstructuur.



Paal 1B: buiten enige waterindringing in de eerste cm is er geen watertransport door de paal



Paal 2B: buiten enige waterindringing in de eerste cm is er geen watertransport door de paal



Paal 3B: geen watertransport door de paal



Paal 4B: buiten enige waterindringing in de eerste 3 cm is er geen watertransport door de paal

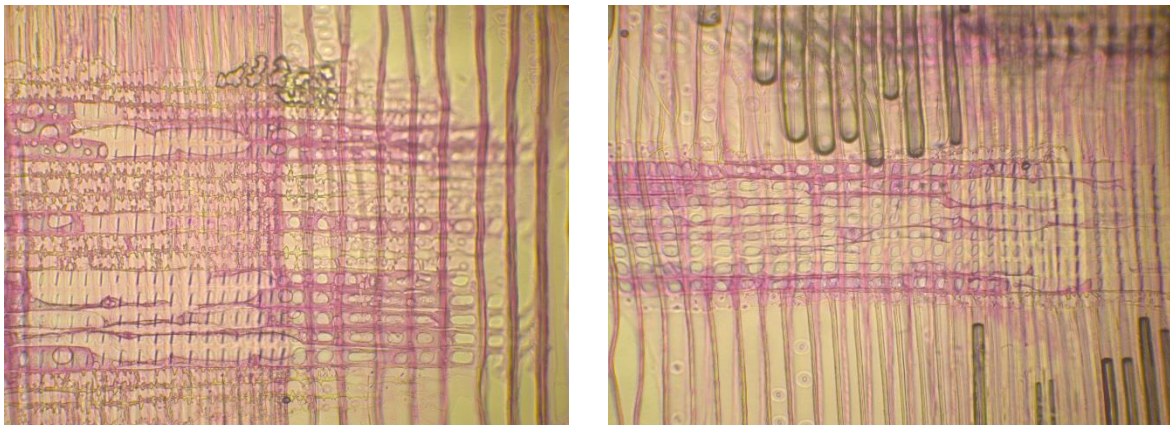
Hieronder staan de resultaten van het microscopisch onderzoek, dat alleen is uitgevoerd aan de bovenste plak van de B serie.

1B1: slijm in stralen door de hele paal

1B2: slijm in stralen door de hele paal

1B3: slijm in stralen door de hele paal, buitenzijde ook (blauw) hyfen

1B4: slijm in stralen door de hele paal



1B1: veel slijm in stralen

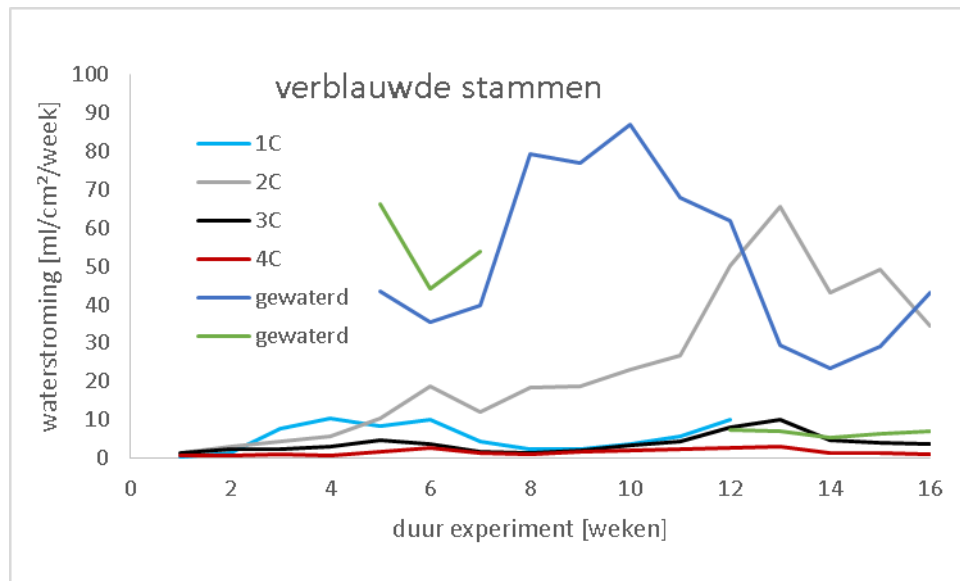
#### 4.3.3. Hoofdexperiment, serie C en D de behandelde stammen

In onderstaande grafiek staan de resultaten van het waterstroomexperiment aan de behandelde stamstukken weergegeven.

Opgemerkt moet worden dat stam 1c eerder uit het experiment is gehaald omdat de stam gescheurd was en daardoor het experiment als het ware lekte.

De gewaterde stam die een groene lijn heeft in de grafiek is van week 7 tot en met week 12 afgekoppeld is geweest.





In de onderstaande fotoreportage zijn de aangekleurde watertransportwegen door de palen van de C en D serie weergegeven. Behalve in paal 2C vindt in alle overige palen beperkt doorgaand watertransport plaats door de houtstructuur.



1C (Ø 20 cm): waterstroming door het merg, verder goede afsluiting, enkele kleine plekkjes aan de buiten kant maar deze zijn oppervlakkig (< 10 cm diep)



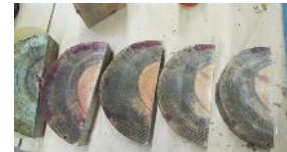
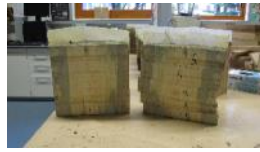
2C (Ø 17 cm) diverse grotere plekken die nog steeds water transporterend zijn over de hele lengte



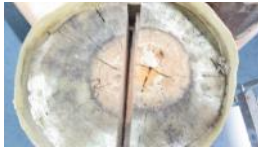
3C (Ø 30 cm): op een paar kleine plekkjes watertransport, echter niet door de hele stam



4C (Ø 25 cm): via een paar kleine plekkjes watertransport, maar niet door de hele stam



1D (Ø 29 cm): in de buitenrand waterstroming tot ongeveer 20 cm diep op enkele plaatsen



2D (Ø 29 cm): in de buitenrand waterstroming tot ongeveer 20 cm diep op meerdere plaatsen

Hieronder staan de resultaten van het microscopisch onderzoek.

**Stam 1C A (waterstroming)**

- niveau 1: geen – weinig hyfen (dun)
- niveau 2: geen - weinig hyfen (dun)
- niveau 3: geen - weinig hyfen (dun), iets slijm in de stralen
- niveau 4: geen - weinig hyfen (dun)

**Stam 1C B (geen waterstroming)**

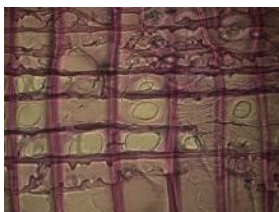
- niveau 1: weinig hyfen, weinig slijm aan de buitenkant van de paal
- niveau 2: weinig – geen
- niveau 3: weinig slijm in stralen en weinig hyfen (dik en dun)
- niveau 4: veel slijm in stralen aan de buitenkant van de paal, daar achter ook wat slijm en wat dunne hyfen



1Cb1: schone houtstructuur



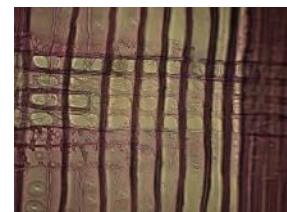
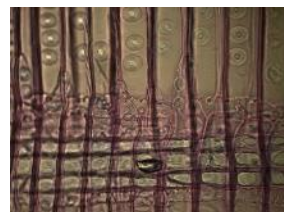
1Ca1: slijmachtige structuur in stralen in de buitenkant van de paal



1Cb2: stralen met dikke hyfen, wat afzetting op tracheide wand



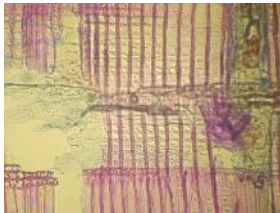
1Cb4: stralen met veel dikke en dunne hyfen



**Stam 2C A (waterstroming)**

- niveau 1: weinig hyfen (dun, ook in stralen)
- niveau 2: weinig hyfen (dun)
- niveau 3: veel hyfen (dik en dun), ook kleine afzettingen
- niveau 4: weinig hyfen (dun)

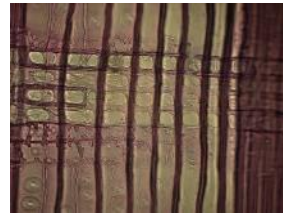
Stam 2C B (geen waterstroming) niveau 1: weinig hyfen buitenkant maar verder naar het hart toe door hyfen geblokte stralen  
niveau 2: veel hyfen (dik en dun)  
niveau 3: veel hyfen (dik en dun), ook kleine afzettingen  
niveau 4: veel hyfen (dik en dun), ook kleine afzettingen



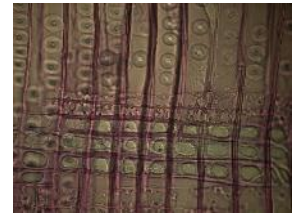
2Cb1: veel (blauw) hyfen in stralen



2c3b: veel dun en dik hyfen



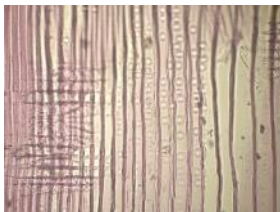
2c3b: veel dun en dik hyfen



2C4b: veel hyfen dik en dun en olieachtige afzettingen

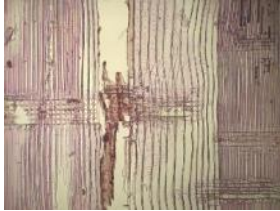
Stam 3C A (waterstroming) niveau 1: Slijm in stralen in buitenkant paal, ook hyfen en bacteriën  
niveau 2: weinig dunne hyfen  
niveau 3: buitenzijde paal slijm en hyfen in stralen, naar binnen toe alleen weinig dunne hyfen  
niveau 4: buitenzijde paal slijm en hyfen in stralen, naar binnen toe alleen weinig dunne hyfen

Stam 3C B (geen waterstroming) niveau 1: slijm in stralen in buitenkant paal, ook hyfen  
niveau 2: 2 cm aan de buitenkant met veel slijm en veel blauw, naar binnen toe weinig hyfen (dun)  
niveau 3: een paar mm aan de buitenkant met veel slijm en veel blauw, naar binnen toe weinig hyfen (dun)  
niveau 4: 2 cm aan de buitenkant met veel slijm en veel blauw, naar binnen toe weinig hyfen (dun)



3C1a: bacterien in hofstippels

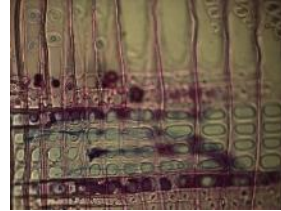




3C1b: slijmverstopping in stralen



3C2b: grote hyfen door straal



3C3b grote hyfen door straal, rand parenchymcellen vol slijm



3C3b grote hyfen door straal, slijm

**Stam 4C A (waterstroming)**

niveau 1: stralen / tracheiden met blauw en dunne hyfen en slijm in buitenkant, verder naar binnen weinig –geen hyfen

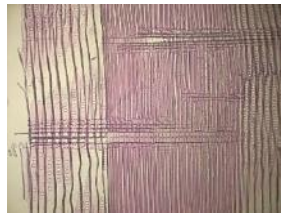
niveau 2: weinig hyfen (dun)

niveau 3: veel hyfen (dik en dun), ook kleine afzettingen

niveau 4: veel hyfen (dik en dun), ook kleine afzettingen



4C1a: blauw en slijm in stralen en tracheiden



4C3a: veel dikke hyphen in tracheiden



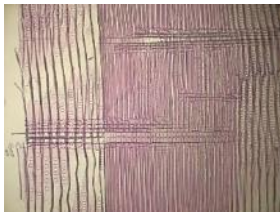
4C4a: dikke hyfe in stralen

**Stam 4C B (geen waterstroming) niveau 1: geen- weinig hyfen (dun)**

niveau 2: geen - weinig hyfen (dun), olieachtige bolletjes

niveau 3: vrijwel geen hyfen of afzettingen

niveau 4: veel hyfen (dik en dun)



4C1b: schone houtstructuur



4C4b: veel hyfe (dik en dun) in stralen

**Stam 1D A (waterstroming)**

niveau 1: --

niveau 2: enige blauw hyfen

niveau 3: enige blauw hyfen

niveau 4: veel blauw hyfen

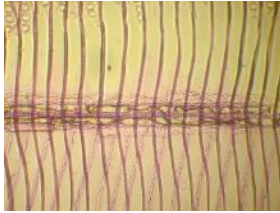
**Stam 1D B (geen waterstroming) niveau 1: --**

niveau 2: veel blauw hyfen

niveau 3: veel blauw hyfen



niveau 4: veel blauw hyfen



1D2b: stralen vol met blauw hyfen

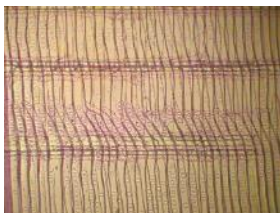
Stam 2D A (waterstroming)

niveau 1: --

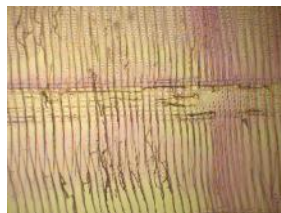
niveau 2: gebieden met veel en met weinig tot geen blauw hyfen

niveau 3: gebieden met veel en met weinig tot geen blauw hyfen

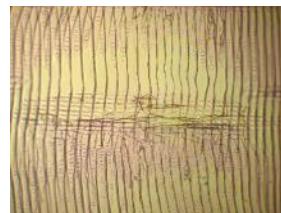
niveau 4: geheel vol met blauw



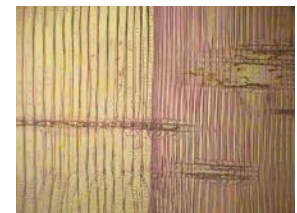
2D2a: bijna schone houtstructuur



2D2a: stralen en tracheïden vol met blauw hyfen



2D3a: veel blauw in tracheïden en stralen



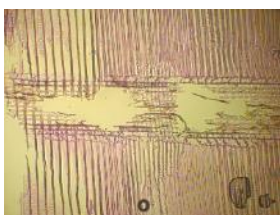
2D4a: stralen en tracheïden vol met blauw hyfen

Stam 2D B (geen waterstroming) niveau 1: --

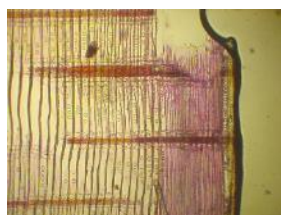
niveau 2: veel blauw en andere hyfen en slijm in stralen

niveau 3: veel blauw en andere hyfen in stralen, slijm alleen in buitenzijde van de paal

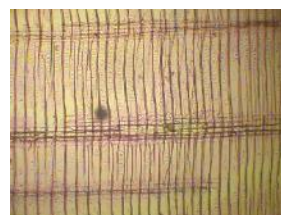
niveau 4: veel blauw en andere hyfen in stralen, slijm alleen in buitenzijde van de paal



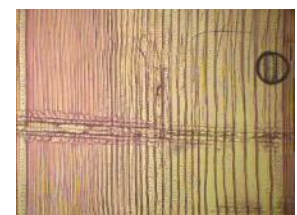
2D2b: veel blauw hyfen in stralen



2D3b: stralen geblokkeerd met slijm aan de buitenkant van de paal



2D3b stralen en tracheïden met blauw hyfen



2D4b: stralen en tracheïden met blauw hyfen

#### 4.4 Resultaten van de literatuurstudie naar het in situ modificeren van houten heipalen

Het basisidee van een effectieve behandeling is om de waterstroming te blokkeren waarmee de bacteriologische activiteit wordt gehinderd of zelfs geheel wordt voorkomen. Als dit doel bereikt moet worden door het inbrengen van een bepaalde stof dan wordt al gauw gedacht aan houtmodificatie. Dit is een ontwikkeling in de houtwereld waarin de afgelopen 20 jaar veel onderzoek is gedaan naar het

veranderen / verbeteren van de celwand, soms door het inbrengen van chemicaliën. Een effectieve methode om een houten heipaal in situ te behandelen met uit de houtmodificatie ontwikkelde producten zal gebruik moeten maken van een bepaalde vorm van impregneren met een reactief middel. De verspreiding van een reactief middel over een functioneel deel van de paal is afhankelijk van de bereikbaarheid en de impregneerbaarheid van het hout (of van de houtsoort). De impregneerbaarheid valt direct samen met dat deel van het hout dat behandeld moet worden want alleen goed impregneerbaar hout is gevoelig voor bacteriële aantasting. Een in situ behandeling zal zich moeten richten op de paalkop omdat alleen dit bovenste paaldeel bereikbaar zal zijn voor behandeling. Eerder onderzoek (Klaassen 2008) naar waterstromen om en in de houten heipalen heeft laten zien dat, indien de waterstroming in het bovenste deel van de heipaal geblokkeerd kan worden, daarmee ook de gehele waterstroming in de houten heipaal effectief gehinderd of geblokkeerd kan worden. Dit betekent dat een effectieve behandelmethode alleen gericht hoeft te zijn op het bovenste (en direct bereikbare) deel van de houten heipaal.

Watertransport in het hout vindt plaats via de het netwerk van cellen en een methode is effectief wanneer het de celholtes of de verbindingen (stippels) tussen de cellen blokkeert.

Het doel van houtmodificatie is om eigenschappen van hout te verbeteren (veranderen) en hiervoor wordt de chemische (molecul) structuur van het hout aangepast. Houtmodificatie werkt door middel van het inbrengen van chemische stoffen in het hout en die vervolgens te laten reageren met de houtstructuur (chemische modificatie) of door middel van het behandelen van hout bij hoge temperaturen (thermische modificatie). Wat betreft de weerstand tegen biologische aantasting wordt geen gebruik gemaakt van toxiciteit maar wordt een materiaal gecreëerd dat in hoge mate inert is voor biologische aantasting. Dit is principieel anders dan houtverduurzaming, waarbij weliswaar stoffen worden ingebracht en gefixeerd aan het hout, maar deze stoffen veranderen de houtstructuur niet en zijn slechts giftig voor houtaantastende organismen.

Voor de in situ behandeling van houten heipalen is thermische houtmodificatie geen geschikte methode en deze wordt hier dan ook niet verder beschouwd.

Bij chemische modificatie kunnen door het specifiek inzetten van chemicaliën en processen, houteigenschappen specifiek worden veranderd (verbeterd).

Bestaande principes en methoden van houtmodificatie zijn beoordeeld op hun vermogen om heipalen in situ te behandelen en om transportkanalen in hout effectief te blokkeren.

**1. Van de huidige operationele industriële methodes** van chemische modificatie is acetyleren wel de bekendste vorm (Accsys Technologies produceert dit onder productnaam Accoya®). Hierbij wordt hout behandeld met azijnzuuranhydride. Een andere methode is het furfuryleren van hout (Kebony ASA produceert dit onder productnaam Kebony, het Nederlandse Foreco onder de productnaam Nobelwood) waarbij furfurylalkohol (of een derivaat hiervan) in het hout wordt gebracht. Op basis van de stof DMDHEU wordt ook gemodificeerd (BASF produceert dit als Belmadur). Bij al deze processen reageren de stoffen met het hout en zorgen voor verbetering van eigenschappen zoals een laag evenwichtshoutvochtgehalte, hogere weerstand tegen biologische aantasting, hogere UV-resistentie, een betere dimensiestabiliteit en / of een toegenomen hardheid.

Al deze bestaande industriële houtmodificatieprocessen blijken ongeschikt voor de toepasbaarheid voor in situ behandeling van heipalen omdat ze of niet tot blokkade leiden of omdat de behandeling te

complex is. De kanttekening hierbij is dat furfuryleren wel aangepast zou kunnen worden zodat er ook een celholte vullend (bulking) effect ontstaat. Dit zou kunnen door de dosering of concentratie van het middel sterk te verhogen. De uithardingsmethode zou moeten worden aangepast zodat met veel lagere temperaturen dan 140 °C gewerkt kan worden. Uit milieu en economische redenen lijkt dit niet veel kans van slagen te hebben.

## 2. Modificatie van hout met **gemodificeerde plantaardige oliën**.

Houtmodificatie op basis van gemaliniseerde lijnzaadolie heeft een celholte vullend effect en reageert daarnaast ook met het celwandmateriaal. Bij voldoende opname van olie in het hout kan een groot deel van de celholtes direct gevuld worden en als onder invloed van temperatuur en/of zuurstof de olie polymeriseert (uithardt) dan zijn de celholtes definitief geblokkeerd.

De methode lijkt niet geschikt voor in situ behandelen van heipalen omdat het onmogelijk is om in waterige condities de olie naar de paalkoppen te transporteren. In het verleden zijn door diverse houtonderzoeksinstituten gemodificeerde plantaardige oliën ontwikkeld voor waterige omgevingen door hiervan emulsies te maken. Deze emulsies zijn echter niet robuust genoeg (zeer instabiel en zeer pH gevoelig). Verder zal uitharding van de olie moeilijk worden door de zuurstofloze of -arme condities of door de gecompliceerdheid om voldoende warmte toe te voegen.

De kans dat op basis van plantaardige oliën een effectieve methode ontwikkeld kan worden wordt als zeer klein beoordeeld.

3. In de literatuur staan een groot aantal methoden beschreven die binnen de categorie **impregnatie modificatie** vallen. Een uitgebreid overzicht van de meest beschreven methoden staat weergegeven in het handboek geschreven door Callum Hill (Hill, 2006). De meeste van deze methoden vullen de celholtes niet. Toch zijn er wel een aantal van deze methoden die ook voor een deel een celholte vullend effect hebben of kunnen dit hebben door een aanpassing van de methode. Het principe van impregnatie methoden is het inbrengen van monomeren (of oligomeren), deze laten verspreiden in het hout door diffusie en vervolgens laten fixeren door het te laten polymeriseren of onoplosbaar te maken (neerslag reactie).

De middelen die bij impregnatie modificatie methoden onderzocht zijn kunnen worden ingedeeld in een aantal hoofdgroepen en onderverdeling: Impregnatie met **harsen** (fenol harsen, PF, MF, MMF, UF, DMDHEU, furfuryl Alcohol, furaan derivaten, maleinezuur en glycerol, maleinezuuranhydride en polyglycerol), met **silicium houdende verbindingen** (anorganische silan verbindingen, alkoxy silanen, silicaten, siliconen, organo-silan verbindingen), met **monomeren en polymeren** (MMA, Dichlorostyreen, Vinylmonomeer).

Een groot aantal van deze methoden vallen af vanwege het niet-milieuvriendelijke karakter van de stoffen en doordat in veel gevallen voor uitharding droge omstandigheden en/of hoge temperaturen nodig zijn. Verder wordt alleen voldoende indringing bereikt door vacuüm-druk impregnatie en voor een in situ behandeling zal toch uitgegaan moeten worden van het injecteren van de vloeistof in de grond, waarna het middel door de palen wordt aangezogen en via diffusie zich verder in het hout verspreidt.

Deze bezwaren zorgen er voor dat er veel methoden afvallen en er maar twee zijn die enige aanknopingspunten bieden voor gebruik voor in situ behandeling van houten heipalen.

De eerste is op basis van **silicaten**. SHR heeft in het verleden ervaring opgedaan met diverse methoden om hout met waterglas te behandelen/modificeren. Waterglas wordt vaker gebruikt in bodemtoepassing, onder ander om grond/zand deeltjes te binden. Waterglas is een waterige oplossing van Natriumsilicaat. Het voordeel met betrekking tot deze toepassing is dat het al een waterige oplossing is, waardoor het in principe ingebracht kan worden in een vochtige heipaal. De uitdaging om deze methode geschikt te maken voor heipalen behandeling is het fixeren van het water glas in de heipaal. Waterglas kan o.a. chemisch gefixeerd worden door het te laten neerslaan met een juist gekozen zout. Het neergeslagen deel van het waterglas is dan onoplosbaar voor water geworden en is gefixeerd in het hout. De heipaal zou voor deze methode in twee stappen moeten worden behandeld, eerst met het zout en daarna met waterglas. De uitdaging voor de verdere ontwikkeling zit er dan in of het mogelijk zal zijn om het middel voldoende diep in het hout te krijgen zodat een goede afsluiting van de houtstructuur wordt bereikt.

Het tweede middel, dat potentieel zou kunnen werken, is op basis van **furaan derivaat – Biorez**. Dit is een natuurlijke hars op basis van furfuryl alcohol gemaakt uit plantaardig afval. Het afgeleide product van furfuryl alcohol wordt gebruikt in het gemodificeerde hout Nobelwood (van de fa. Foreco). Door dit product in een sterke overmaat in het hout te impregneren zou het voor dit doel ook kunnen leiden tot een celholte vullende behandeling. Industriële behandeling met biorez maakt gebruik van milde katalysatoren waarna het middel in het hout wordt uitgehard bij hoge temperaturen (ca. 140°C). Echter indien als katalysator een sterk zuur wordt gebruikt in plaats van de milde katalysatoren, dan kan het biorez ook bij lage temperaturen uitharden. Ook in dit geval zouden dan twee impregneerstappen voor de heipaal noodzakelijk zijn.

#### 4. Impregnatie met **stollende middelen**.

Het idee hier achter is om hout te impregneren met vloeistoffen die na injectie in het hout gaan stollen of neerslaan. Hierbij valt te denken aan het injecteren met voorverwarmde paraffine of paraffine-achtige middelen die na injectie en afkoeling stollen in het hout. Ook middelen als PEG (Poly Ethyleen Glycol) zouden mogelijk geschikt kunnen zijn voor een dergelijke methode. De uitdaging hier is ook weer om voldoende middel in het hout te krijgen en om het middel voldoende verdeeld in het hout te krijgen. Voordeel van deze methode is dat deze in één stap uitgevoerd kan worden en hierbij geen chemische uithardingsreactie van middelen nodig is. Een groot nadeel is wel dat het middel direct boven het kopse hout van de heipalen moet worden ingebracht en dit geeft behoorlijke praktische bezwaren.

**5. Stippel afdichtende methoden** werken op basis van de impregnatie en modificatie, alleen wordt hier niet gericht op het vullen van de celholtes maar op het afsluiten van de verbindingen (stippels) tussen de cellen. Hiermee zou het watertransport in het hout effectief geblokkeerd kunnen worden. Één van de ideeën is om gebruik te maken van emulsie met opgeloste macromoleculen (bijvoorbeeld eiwitten) die in oplossing naar het hout gebracht kunnen worden en zich laten verdelen via stroming en diffusie. Na het aanbrengen van een pH verandering kan de emulsie gebroken worden waardoor de vorm van de eiwitten veranderen, zodanig dat zij de membranen van de stippels kunnen verstoppen. Waterglas en furfurylalkohol zouden ook in dit kader kunnen worden ingezet.

Over het effectief afsluiten van de stippels is niet veel bekend en dit zou nog specifiek moeten worden onderzocht.

#### **4.5 Monitoring van watertransport in stamhout.**

Binnen de boomfysiologie worden (natuurlijke) sapstromen gemeten. Prof. dr. ir. Kathy Steppe van de universiteit van Gent heeft als onderzoekster een prominente rol op dit vakgebied. Zij installeert op dit moment een netwerk van bomen waar online het watertransport door de stam gemeten wordt. Het principe werkt met twee pennen die in een stam worden aangebracht: de onderste pen geeft een warmteschok af en de bovenste pen (sensor) registreert wanneer de warmte voorbij komt. De methode wordt ook wel Tittering trees genoemd en is op dit moment de meest geavanceerde. Als voorbeeld kan een berk worden genomen (in het voorjaar dus met weinig blad) met een stamdiameter van circa 30 cm. Midden op de dag werd hier een waterstroming gemeten van 200 ml/uur door de hele stam. De oppervlakte van de berkenstam was ongeveer 700 cm<sup>2</sup>. Hoewel berken geen kernhout vormt zijn we er hier van uit gegaan dat alleen het buitenste stamhout bijdraagt aan het watertransport en daarom hebben we een watertransporterend oppervlak genomen dat lager is dan het totale stamoppervlak, namelijk 500 cm<sup>2</sup>. Dat betekent dat de waterstroomsnelheid per cm<sup>2</sup>/uur 0,4 ml is. Omgerekend naar waterstroming per week, zoals we dat in dit onderzoek hanteren, komen we uit op een waarde van 67 ml/cm<sup>2</sup>/week. Deze waarde valt in de range zoals die in dit onderzoek wordt waargenomen voor palen met nauwelijks waterdruk.





## 5. Discussie

### 5.1 Initiëren van blauw

#### 5.1.1 Relevante informatie over blauw in hout

Verblauwing en het effect op hout is al in 1961 beschreven door Butin. Het zijn schimmels die geen grote vruchtlichamen vormen en behoren tot de Ascomyceten of Deuteromyceten. De belangrijkste geslachten zijn (met daarin de black yeast en dark molds): *Alternaria*; *Aureobasidium*, *Bispora*, *Ceratocystis*, *Discula*, *Graphium*, *Lasiodiplodia*, *Leptographium*, *Monilia*, *Ophiostoma*, *Phialophora*, *Phoma*, *Pullularia*, *Scopularia* en *Tuberculariella*.

Het aantal blauwschimmelsoorten varieert tussen de 100-250 (Käärik 1980, Schmidt 2006, Wingfield et 1999) en er komen overgangen voor tussen blauwschimmels en softrotschimmels. De soorten zijn alleen op basis van een vruchtlichaam of sporen te herkennen en deze zijn niet altijd voorhanden of kweekbaar.

Blauwschimmels groeien uitsluitend in het spint en voeden zich met de daar aanwezige suikers en andere gemakkelijk te verteren inhoudsstoffen. Winterhout (hout dat in de winter is gekapt) verblauwt

minder snel dan zomerhout (hout dat in de zomer is gekapt) omdat in winterhout alle suikers zijn opgeslagen in het moeilijker afbreekbare zetmeel terwijl in het zomerhout de makkelijkere afbreekbare suikers zitten (Schmidt 2006, Huckfeldt & Schmidt 2006).

De hyfen die blauwschimmels kunnen vormen zijn dik en bruin (gepigmenteerd met melanin) en het gele spint wordt door de invasie van deze bruine schimmeldraden blauw verkleurd (Zink and Fengel 1989). Het moment van pigmenteren van de celwand varieert per soort en bij sommige soorten gebeurt dit pas bij oudere hyfen. Vaak is in het hout een radiaal verspreidingspatroon te zien wat aangeeft dat ze vooral in het parenchymatische straalweefsel zitten. Ze verspreiden zich ook via de axiale cellen; meestal gaat dit via de stippels, waarbij ze de stippelmembranen oplossen maar ze zijn ook in staat om gaten in de celwand te maken. De veranderingen die blauwschimmels in het hout veroorzaken leiden tot hogere evenwichtshoutvochtgehaltes (Thunell 1952).

Fojutowski 2005 geeft aan dat verblauwd hout makkelijker te impregneren is. Dit wordt bevestigd door onze resultaten met de serie D (verblauwd hout). Blauwschimmels groeien alleen boven 22-26% houtvochtgehalte maar tussen de 22 en 30% is de groei volgens Bellman/Francke-Grosman (1953) en Butin (1965) nog geremd, terwijl Seifert (1999) aangeeft dat stamhout al tussen de 10-15% vochtgehalte kan worden gekoloniseerd of bij hoge RV's van 90%. Het maximale vochtgehalte is afhankelijk van de hoeveelheid zuurstof die er in het hout kan zitten, blauwschimmels hebben een grote behoefte aan zuurstof en wanneer het hout te nat is, dan is er nauwelijks lucht (met zuurstof) meer voorhanden en stopt de blauwschimmelgroei. De optimale temperatuur voor blauwschimmelgroei is 15 - 30°C. De amplitude is echter veel groter want ze kunnen groeien bij temperaturen van 2,5 – 35°C en sommige soorten zelfs bij 40°C. Een aantal voorbeelden van temperatuurrelaties staan weergegeven in onderstaande tabel. In deze tabel is ook gewichtsafname gegeven na blauwschimmel-infectie en zelfs het sterkte-verlies (in dit geval uitgedrukt in breukslagarbeid). Het is echter belangrijk te realiseren dat blauwschimmels zich vooral op suikers richten en dat het aandeel suikers in hout vrij hoog kan zijn tot wel 20% (Hillis 1987), waardoor er dus geen celwandverlies wordt gemeten maar verlies aan inhoudsstoffen. Ook het evenwichtshoutvochtgehalte verandert en bij hogere houtvochtgehaltes nemen de sterkte-eigenschappen van hout af, althans tot het vezelvezadigingspunt. De gegevens in de tabel wijzen dus niet direct op aantasting.

| Blauwschimmels                 | Na 3 maanden infectie, verlies in % |                 | Start groei in dagen bij verschillende temperatuur |     |       |
|--------------------------------|-------------------------------------|-----------------|--|-----|-------|
|                                | Massa                               | breukslagarbeid | -2,5°C   | 3°C | 10 °C |
| <i>Alternaria humicola</i>     | 1,3                                 | 12              | 35   | 5   | 2     |
| <i>Aureobasidium pullulans</i> | 0,6                                 | 5               | 24   | 8   | 1     |
| <i>Ceratocystis pilifera</i>   | 1,7                                 | 2               | 35   | 11  | 3     |
| <i>Ceratocystis picea</i>      | 2,5                                 | 4               | 57   | 8   | 3     |
| <i>Cladosporium herbarum</i>   |                                     |                 | 12   | 5   | 2     |
| <i>Phialophora fastigiata</i>  |                                     |                 | 30   | 9   | 2     |
| <i>Scopularia lunbergii</i>    | 1,1                                 | 3               | 73   | 10  | 3     |

Tabel naar Pechman et al. 1964

De meest agressieve blauwschimmels voor vers grenen (studie aan *Pinus contorta*) waren *Ceratocystis coerulea*, *Ceratocystis minor*, *Ophiostoma piliferum*, *Ophiostoma piceae*, *Ophiostoma setosum*, *Leptographium* spp., *Ceratocystis pluriannulata*, *Aureobasidium pullulans*

(Fleet et al. 2001). Voor gezaagd hout komen *Cladosporium* spp. (optimum vochtgehalte 50-100%) vaak voor en *Strasseria geniculara* in niet goed gedroogd hout (Schumacher et al. 2003).

### 5.1.2 Het initiëren van blauw in proefstukken

Er is in dit onderzoek veel aandacht besteed aan het verkrijgen van blauw in de proefstukken. Reden hiervoor was om de experimenten uit te voeren met zo sterk mogelijk verblauwde proefstukken maar ook om kennis op te doen over de groei van blauw in grenen onder gecontroleerde omstandigheden zodat deze kennis later gebruikt kon worden bij de invulling van praktijkproeven.

De voorproeven aan stammen, kwarten en schijven in warme ruimtes die wat betreft temperatuur optimaal waren voor blauwschimmelgroei lieten niet het gewenste resultaat zien. De oorzaak hiervan lag zeer waarschijnlijk niet in het houtvochtgehalte want dit was ruim hoog genoeg voor schimmelgroei en niet te hoog waardoor zuurstofgebrek zou ontstaan. De oorzaak ligt veel meer in de onderschatting door SHR van de al opgetreden infectie vóór het in zetten van de proeven. Bij visuele beoordeling leek steeds de blauwschimmelgroei zich voornamelijk te beperken tot de oppervlakte van het hout. Na schoonmaken van de monsters bleek het hier echter vooral om oppervlakteschimmel te gaan. Uit de microscopische beoordeling bleek dat het hout toch geïnfecteerd was met blauwschimmels maar de celwanden van de schimmels waren veelal niet gepigmenteerd. Dit betekende een niet zichtbare infectie die wel net als wel gepigmenteerd hyfen een effect in het hout kon hebben.

De oorzaak kan ook liggen in de overschatting van de groeisnelheid van blauwschimmels in hout, zoals geïnterpreteerd door SHR. De literatuur spreekt over snelle verblauwing (bv Grosser 1985), Lagerberg et al 1927 spreekt over één millimeter blauwschimmelgroei per dag. In ons onderzoek is de EN 152 als uitgangspunt genomen omdat binnen deze test snel tot resultaat gekomen moet worden. In deze test worden twee blauwschimmelsoorten gebruikt: *Aureobasium* een zeer veel voorkomende blauwschimmel in de praktijk; *Sydowia polyspora* (*Sclerophoma pithyophila* is een synoniem) is een minder vaak in de praktijk geziene blauwschimmel. De verblauwingsexperimenten in dit onderzoek zijn aan grotere monsters uitgevoerd waardoor het misschien lijkt dat de verblauwing minder snel ging. De monsters hebben in dit onderzoek 3 dagen tot 2 weken ingestaan en met een genoemde groeisnelheid van 1 /dag zou je bij de proefstukken die 2 weken in een warme klimaatkamer hebben gestaan, al tot een diepte van indringing van meer dan 14 mm hebben moeten komen. Dit was niet het geval en dit betekent dat SHR een realistischer beeld heeft gekregen van de snelheid van blauwschimmelgroei in grenen.

Aan de behandelde palenstukken (serie C) hebben we kunnen zien dat, daar waar blokkade optrad, de meeste blauwschimmelgroei (bruine hyfe of dikke hyfe) in het midden van de stam werd gezien. Dit is opvallend en kan iets te maken hebben met het zuurstof / houtvochtgehalte. De blauwschimmelinfectie in het midden van de stam was niet intensief maar wel over de hele spintrand. Dat betekent een lage concentratie aan blauwschimmelhyfen met een maximale groeisnelheid van 0.5 mm/dag (50 mm in ruim 3 maanden), welke ongeveer de helft is van die genoemd door Lagerberg et al (1927). Opvallend bij de C serie is wel dat de verschillende behandelingen niet tot uiting komen in

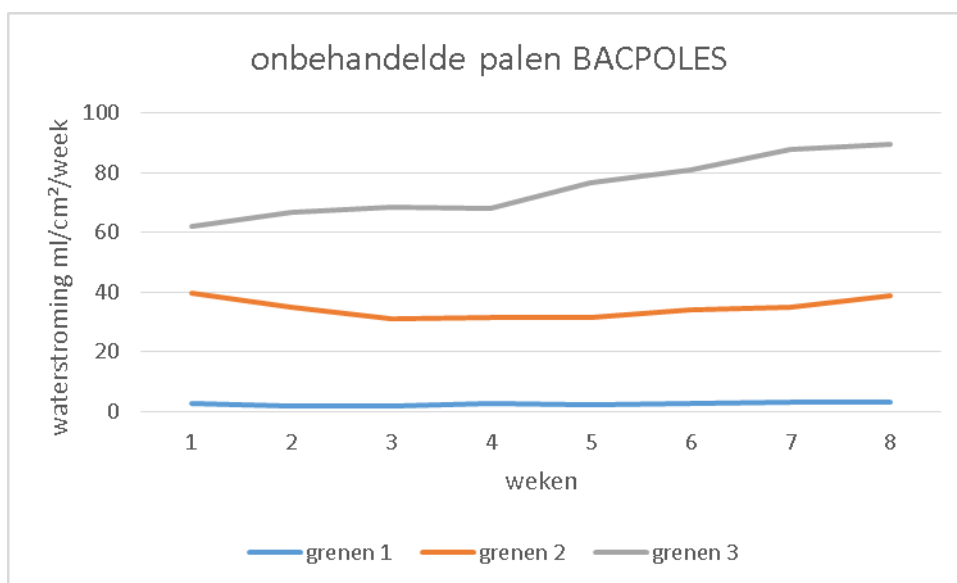
opvallende verschillen in blauwschimmelgroei. Onderstaande tabel geeft een samenvatting van het microscopisch onderzoek in geblokkeerde gebieden van de paal.

|    | <b>Samenvatting resultaten microscopisch onderzoek</b> |           |  |                     |
|----|--|-----------|--|---------------------|
|    | <b>Conditie van bewaren</b>                            |           | <b>Gemiddeld beeld in geblokkeerd hout</b> |                     |
|    | <b>temperatuur</b>                                     | <b>RV</b> | <b>Schimmelgroei</b>                       | <b>slijmvorming</b> |
| 1C | 26°C   | Laag      | Weinig                                     | ja                  |
| 2C | 27°C   | 90%       | Iets                                       | Nee                 |
| 3C | 0-10°C   | Hoog      | Iets                                       | Ja                  |
| 4C | 20°C   | 65%       | Weinig                                     | Nee                 |

## 5.2. Verstopping door verblauwing

In dit onderzoek zijn verschillende experimenten gedaan met waterstroming in het hout. De serie A en B zijn ingezet als referentie-serie om te kijken hoeveel water er door niet verblauwd hout loopt. Echter de resultaten van het waterstroomexperiment laten zien dat ook door deze palen geen water stroomt. Het microscopische onderzoek laat zien dat er geen tot nauwelijks hyfen in het hout zitten maar dat er wel slijmvorming in het hout heeft plaats gevonden. Omdat we geen onderzoek hebben gedaan naar de slijmvorming weten we ook niet wat de precieze herkomst ervan is. Wat we wel weten is dat de paalstukken gesteriliseerd zijn en dat daarna de infectie is opgetreden, dus tijdens het voorbereiden van het experiment en tijdens het waterstroomexperiment.

Het microscopische onderzoek wijst niet op schimmels en daarom wordt gedacht aan bacterie-activiteit, die tot slijmvorming in de houtstructuur heeft geleid. Ook tijdens het waterstroomexperiment trad deze slijmvorming op (zie Bijlage 1). De condities waaronder deze slijmvorming in hout optreedt zijn niet bekend. Dit geldt ook voor een mogelijk effect van licht wat in de gebruiksfase van heipalen in de grond geen rol speelt en bij het laboratoriumonderzoek niet uitgesloten kan worden. De FTIR analyses laten zien dat de substantie die uit het hout lekte zeer waterig was (zoals slijm) en geen affiniteit vertoonde met mogelijk eigen inhoudsstoffen van de stammen namelijk harsen. Omdat serie A en B niet als referent konden worden gebruikt, is teruggegrepen op eerder BACPOLES onderzoek (Klaassen 2005). De resultaten uit die studie zijn omgerekend naar de hier gebruikte eenheid (ml / cm<sup>2</sup> spint / week) en weergegeven in onderstaande grafiek.



Ook in dit onderzoek blijkt één paal te zijn verstopt en de twee andere hebben een behoorlijk verschillende waterstroming. Het experiment van BACPOLES is uitgevoerd in het donker en er wordt geen melding gemaakt van slijmvorming.

Naast de gegevens van BACPOLES hebben we een referentie-experiment opgezet met kleine staakjes waar onder zeer gecontroleerde omstandigheden water op het kopse vlak werd gezet. Dit experiment vond plaats in een zuurkast en daarmee voor een groot deel in het donker. Bij deze staakjes is geen slijmvorming waargenomen. De resultaten van dit experiment (4.3.1) bevestigen de resultaten uit BACPOLES met een variabel beeld. Eén staakje is bijna afgesloten, één staakje ligt net als bij BACPOLES rond de 40 m/cm²/week terwijl twee ander net als bij BACPOLES veel hoger liggen (60-90 ml/cm²/week). Bij het afgesloten staakje bleek later op het kopse vlak epoxy te zijn gemorst.

Net als de niet behandelde stammen (serie A en B) lieten de behandelde stammen (Serie C) ook nauwelijks water door. Het aankleuringsonderzoek en het microscopische onderzoek lieten zien dat in sommige stammen in kleine gebiedjes in het spint water kon stromen. Tussen het hout met en zonder waterstroming bleek geen relatie te leggen met de aanwezigheid van blauwschimmeldraden. Wel lijkt het erop dat slijmvorming in en op het hout een effect kan hebben. In een vervolgstudie zou hier specifiek naar gekeken moeten worden. Dat slijmvorming op het hout effect heeft wordt getoond door het schoonmaken van de stammen. De stammen in serie A en B zijn twee keer schoongemaakt en de stammen in serie C één keer. Steeds nam het watertransport na het schoonmaken in alle stammen iets toe (zie onderstaande tabel). Dit toont een afsluitend effect van het slijm op het kopse paaloppervlak.

| Week 6   | Week 11 | Week 14 | Week 6       | Week 11 | Week 14 |
|--|---------|---------|--------------|---------|---------|
| Waterstroming door paal vóór en na schoonmaken [ml / cm² spint / week] |         |         | slijmvorming |         |         |



|    |           |         |      |      |
|----|-----------|---------|------|------|
| 1A | 0,3-1,6   | 1,0-1,3 | Veel | Veel |
| 2A | 2,4-3,5   | 2,1-2,3 | Veel | Veel |
| 3A | 2,3-2,9   | 1,7-2,0 | Veel | Veel |
| 4A | 1,0-2,5   | 1,7-1,7 | Veel | Veel |
| 1B | 3,0-8,0   | 5,1-5,3 | Veel | Veel |
| 2B | 3,0-4,8   | 2,4-2,4 | Veel | Veel |
| 3B | 12-11     | 8,7-9,5 | Veel | Veel |
| 4B | 2,8-8,0   | 3,6-3,5 | veel | veel |
| 1C | 8-10      |         | iets |      |
| 2C | 10,4-18,7 |         | Veel |      |
| 3C | 4,6-3,8   |         | iets |      |
| 4C | 1,8-2,8   |         | veel |      |

De verblauwde stammen (serie D) laten een ander beeld zien. Deze stammen hadden een hoge waterstroming door het hout. Echter nadat één stam enige weken met suikerwater was behandeld was de houtstructuur geblokkeerd. De verblauwde stammen zijn niet verstopt en de houtstructuur is ondanks de aanwezigheid van blauwschimmelhyfen juist open. Wel moet opgemerkt worden dat de stammen gewaterd zijn en tijdens het proces van wateren (stammen af zinken in poelen) worden bacteriën in hout actief. Zij tasten membranen in het hout aan en het zijn juist deze membranen die in een gezonde stam voor een weerstand zorgen bij het impregneren (waterstroming). Gewaterd hout is dan ook makkelijker impregneerbaar (Jutte 1971). Deze bacteriën worden gezien als houtkoloniatoren die de celwand niet afbreken. Blauwschimmels zijn ook houtkoloniatoren en ook zij breken de celwand niet af. Bij deze verblauwde stammen kunnen we niet uitsluiten dat verblauwing een bijdrage heeft geleverd aan het openen van de houtstructuur maar wat we wel duidelijk kunnen zien is dat sterke verblauwing bij deze gewaterde stammen niet in staat was om het hout te verstoppen.

Het aanvullende experimentje met suikerwater geeft aan dat er andere biologische processen in het hout kunnen worden geïnitieerd die wel tot verstopping leiden en die in het donker zijn uitgevoerd. Het microscopische onderzoek aan de verblauwde en versuikerde stam laat veel slijmvorming in de houtstructuur zien.

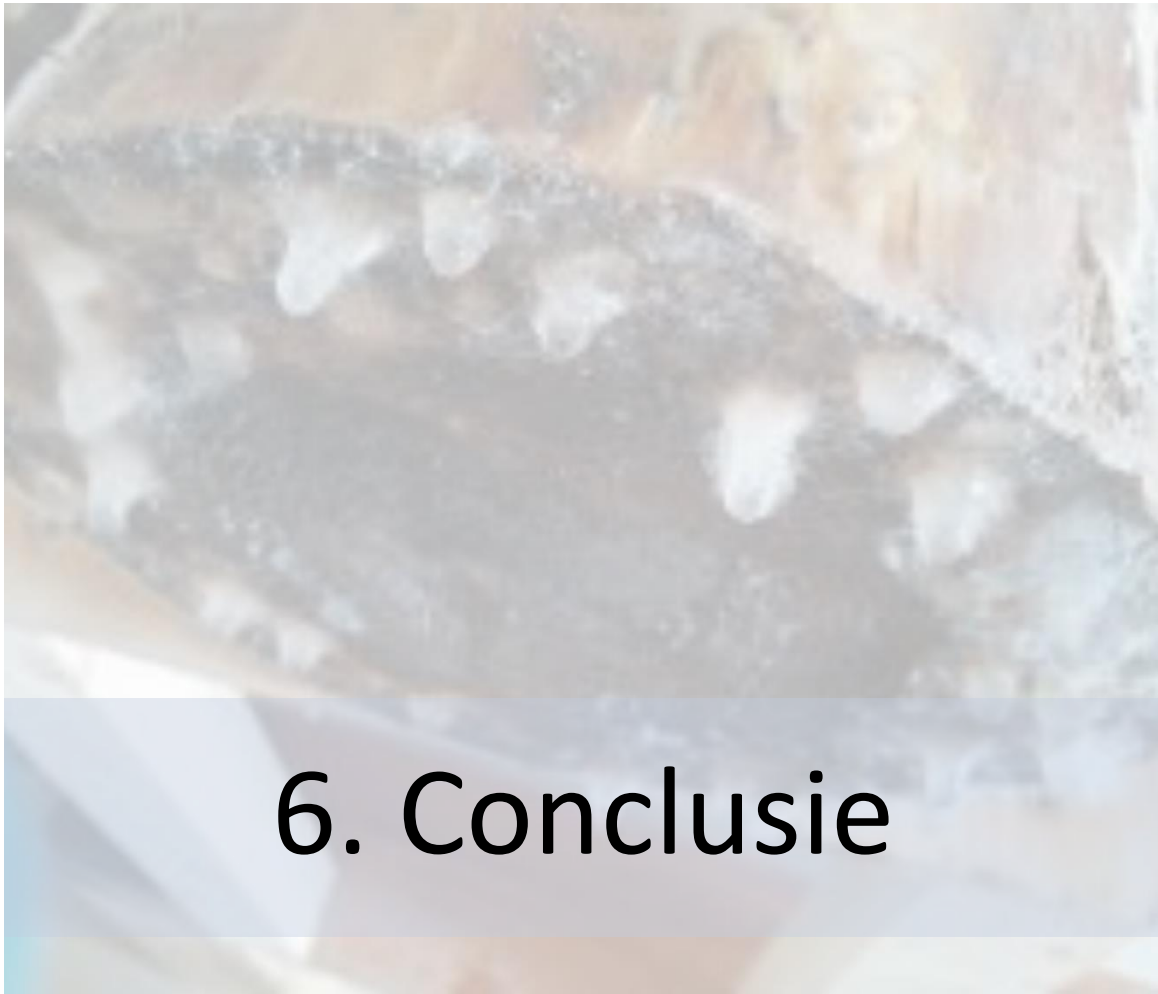
We moeten dus concluderen dat blauwschimmelgroei geen afdoende middel is om het spint in grenen stammen te verstoppen. Als we tijdens de analyses van houten heipalen niet-aangetast grenenspint in de buitenrand van een oude paal tegenkomen dan zit daar vaak blauw in. Dit blauw duidt op droogstand en deze droogstand moet aanzienlijk zijn geweest want anders (zo hebben we in dit onderzoek gezien) heeft blauw te weinig tijd gehad om zich te ontwikkelen. Dit onderzoek laat ook zien dat blauw zelf niet tot verstopping leidt en tijdens de perioden van droogstand moet dus een ander proces hebben plaats gevonden wat wel tot verstopping leidt. Mogelijk is dit slijmvorming door bacteriën en dit zou nader onderzocht moeten worden om te kijken of dit een potentiële basis voor een conserveringsmethode.

### 5.3 Alternatieve methodes

De vorige paragraaf is afgesloten met het poneren van een alternatieve methode die als basis kan dienen voor een conserveringsmethode voor houten heipalen. Dit alternatief is als mogelijkheid ontstaan op basis van de hier verkregen inzichten.

Op basis van de literatuurstudie naar mogelijke modificerende stoffen waarmee een conservering zou kunnen worden uitgevoerd is de conclusie, dat stoffen op basis van silicaten en furaan derivaat aanknopingspunten bieden om na specifieke aanpassing van de behandelingsmethode mogelijk potentie te hebben voor een in situ conserveringsbehandeling van houten heipalen.

Voor de volledigheid worden de opties afgesloten met de mogelijkheid om door droging de houtstructuur te verstoppen. De basis hiervoor is het fenomeen *pith closure* wat bij naaldhout en vooral bij vuren voorkomt. Hierbij wordt de verbinding tussen het (straal)parenchym en de axiale cellen afgesloten. Dit proces is irreversibel. Bij grenen treedt dit fenomeen eigenlijk niet op omdat de verbinding met de stralen bij deze houtsoort heel anders is dan bij andere naaldhoutsoorten en juist bij grenen tot hogere permeabiliteit leidt. Dit betekent dat het tijdelijk uitdrogen van de stammen tijdens het watertransportexperiment geen effect heeft gehad op de resultaten maar dat het ook niet als potentiële methode moet worden gezien voor heipaalconservering.



Binnen dit project is onderzoek gedaan naar een fenomeen dat voorheen nooit zo in de belangstelling heeft gestaan. Dit onderzoek richt zich op het verstopping van de grenenspint houtstructuur met als doel het stoppen van bacteriële aantasting in houten heipalen onder gebouwen. Uitgangspunt hierbij is dat immobiele houtaantastende bacteriën alleen kunnen groeien als ze gemengd worden want ze leven samen in consortia van soorten waarbij elke soort een schakel is in het aantastingsproces. Het is juist het openen van de houtstructuur dat al decennia lang de aandacht van vooral de houtverduurzamingsindustrie heeft. Met dit onderzoek begeven we ons dus op een vrij nieuw werkveld.

De methode om het grenenspint te verstopping moet kunnen functioneren als een conserveringsmethode in situ. Dit betekent dat deze praktisch uitvoerbaar moet zijn zonder al te veel ingrepen.

Deze studie heeft zich gericht op het conserveren door grenen heipalen te verblauwen. Dit zou een goede methode kunnen zijn omdat bij te lage grondwaterstanden blauwschimmels gaan groeien in grenen en omdat in eerder onderzochte heipaalmontsters een relatie tussen het ontbreken van bacteriële aantasting en de aanwezigheid van blauwschimmels is gebleken.

Tijdens deze studie zijn diverse onderzoeksmethoden uitprobeernd en is kennis verzameld omtrent het gedrag van blauw in grenenspint. Het blijkt dat verblauwing op zich niet tot verstopping van de houtstructuur leidt maar dat verblauwing een signaal is dat er iets met het hout is gebeurd waardoor het verstopt is. Het lijkt er sterk op dat andere micro-organismen onder drogere omstandigheden door slijmvorming een verstoppend effect kunnen hebben. Dit dient nader uitgezocht te worden want ook bij dit soort processen lijkt praktische applicatie relatief eenvoudig. Indien dat niet lukt, zou ook gekeken kunnen worden naar de inzet van houtmodificerende stoffen waarbij furanen en silicaten de meeste potentie lijken te hebben.

Tenslotte hebben we in dit onderzoek kennis opgedaan over de waterstroomsnelheid die we in heipalen kunnen verwachten en de aangetroffen snelheid kan gemonitord worden met bestaande sensortechnieken. Het enige dat aangepast moet worden is om de toepassing geschikt te maken voor gebruik onder water.



## 7. Aanbevelingen

De resultaten van deze studie geven aanleiding tot een vervolg. Wanneer gekozen wordt voor een praktijkvervolg, dan zouden de potentiële methodes, in twee pilots uitgetest kunnen worden onder praktijkomstandigheden.

Beide pilots zouden bij panden moeten plaatsvinden die op grenen palen staan. Daarbij dient er bij het ene pand een sterke inzijging te zijn en bij het andere pand niet. Per pand zouden twee palen onbehandeld kunnen blijven, twee palen met slijm worden behandeld, twee palen met een silicaatproduct en twee palen met een furaanproduct. Op alle palen zouden sensoren geplaatst kunnen worden. Hierbij kan dan uitgetest worden of de sensoren voldoende de waterstroming in de palen kunnen monitoren en indien dit het geval is dan kunnen ze gebruikt worden om het effect van de methodes te beoordelen. Na afloop van het experiment kan overwogen worden om de paalkoppen te oogsten en de afsluitende werking van de verschillende behandelingen in het laboratorium aanvullend te testen.





# Literatuur

- Butin H. 1961. Untersuchungen über die Entstehung von Bläue auf lasierten Holzoberflächen. Holz als Roh- und Werkstoff 19: 337-340.
- Butin H. 1965. Untersuchungen zur Ökologie einiger Bläuepilze an verarbeitetem Kiefernholz. Flora 155: 400-440.
- Bellman H. & Francke-Grosman H. 1953. Versuche zur Tränkfähigkeit verblauten Kiefernspiltholzes. Erste Mitteilung: Tränkung mit öligen Imprägniermitteln. Holz als Roh- und Werkstoff 10: 456-463.
- Fleet, C., Breuil C., Uzunovic A. 2001. Nutrient consumption and pigmentation of deep and surface colonizing sapstaining fungi in Pinus cortorta. Holzforsch. 55: 340-346.
- Fojutowski A. 2005. The influence of fungi causing blue-stain on absorptiveness of Scotch pine wood. Forest Prod. J. 52: 38-43.
- Grosser D. 1985. Pflanzliche und tierische Bau- und Werkholzschildlinge. DRW Weinbrenner, Leinfelden-Echterdingen.
- Hill, C.A.S. (2006). Wood Modification – Chemical, Thermal and Other Processes. John Wiley and Sons, Chichester, 2006.
- Hillis W.E. 1987. Heartwood and tree exudates. Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, New York, London, Paris, Tokyo.

- Huckfeldt, T. & Schmidt, O. 2006. Hausfäule- und Bauholzpilze –diagnose und Sanierung. Verlag Rudolf Müller Köln 377 pp.
- Jutte, S.M., 1971. Wood structure in relation to excessive absorption - a literature survey -. Houtinstituut TNO, Delft.
- Käärik A. 1980. Fungi causing sapstain in wood. Swed. Univ. Agric. Sci. Dept. Forest. Prod. 114.
- Klaassen, R.K.W.M. (Ed.) 2005. Preserving cultural heritage by preventing bacterial decay of wood in foundation piles and archaeological sites – final report FP5 EU project EVK-CT-2001-00043: 36-41.
- Klaassen R.K.W.M., 2008. Water flow through wooden foundation piles – a preliminary study. International Biodeterioration and Biodegradation 61 (1): 61 – 68.
- Langerberg, T. Lundberg G. Melin E. 1927. Biologica land practical researches into blueing in pine and spruce. Skogsvardsföreninges Tidskrift.
- NEN 2011. NEN-EN 152 Houtverduurzamingsmiddelen - Bepaling van de beschermende werking van een verduurzamingsbehandeling tegen blauwverkleuring in hout in functie – Laboratoriummethode.
- NEN 1997. NEN-EN-ISO 846:- Kunststoffen - Beoordeling van het gedrag van micro-organismen
- NEN 5491: Kwaliteitseisen voor hout (KVH 2000) - Heipalen - Europees naaldhout.
- Pechmann von H, Graessle E., Wutz A. 1964. Untersuchungen über Bläuepilze an Kiefernholz. Forstw. Centralb. 83: 290-314.
- Pechmann von H. 1972. Das mikroskopische Bild einiger Holzfehler. Holz als Roh- und Werkstoff 30: 62-66.
- SBRCURnet. 2016. F3O richtlijn Houten paalfunderingen onder gebouwen -Onderzoek en beoordeling-. 3<sup>e</sup> herziene editie, Delft.
- Schmidt O. 2006. Wood and tree fungi –Biology, damage, protection and use. Springer Berlin, Heidelberg, New York.
- Schumacher J. Solger A., Leonhard S., Roloff A. 2003. Zunehmendes Auftreten von Stamm- und Schnittholzbläue bei der Baumart Gemeine Fichte (*Picea abies* (L) KARST.) im Freistaat Sachsen. All. Forst-Jagd-Ztg 174: 148-156.
- Seifert K.A. 1999. Sapstain of commercial lumber by species of Ophiostoma and Ceratocystis. In Wingfield, M.J., Seifert K.A., Webber, J.F (eds). Ceratocystis and Ophiostoma; Taxonomy, Ecology and Pathogenicity. 2<sup>nd</sup> edn. Am. Phytopath. Soc. Press St. Paul, Minnesota pp 141-151
- Thunell B. 1952. Einwirkung der Bläue auf die Festigkeitseigenschaften der Kiefer. Holz als Roh- und Werkstoff 10: 362-365.
- Wingfield, M.J., Seifert K.A., Webber, J.F. 1999. *Ceratocystis* and *Ophiostoma*; Taxonomy, Ecology and Pathogenicity. APS Press St. Paul, USA 293 pp.
- Varossieau, W.W., 1949. Opgegraven aangetast hout uit biologisch oogpunt bezien. In: Boerhave Beekman, W. Hout in alle tijden deel 1 hoofdstuk 5. N.V. Uitgevers maatschappij A.E.E. Kluwer, Deventer, pp 329-387.
- VNG 1998. Protocol voor het uitvoeren van een funderingsinspectie. Delft.
- Wijnperse, van W.J.M., 1931. De inlandsche grove den ongeschikt voor heipaal. Bouw en waterbouwkunde 7 no 14.
- Zink P. & Fengel D. 1989. Studies on the coloring matter of blue-stain fungi. Holzforschung 43: 371-374.

**Bijlage 1: Stammenserie A en B voor en na schoonmaken**

Eerste schoonmaakactie op 17 mei 2016







4A



4B



### Tweede schoonmaakactie op 10 juni 2016

Onderkant vóór schoonmaken

Na schoonmaken

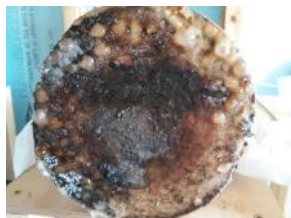
1A



1B



2A





4B bovenkant na het schoonmaken



**Bijlage 2: Stammenserie C voor en na schoonmaken**

1C, met twee radiale scheuren over de gehele lengte doorlopend. Bovenste foto's genomen vóór het experiment, de onderste foto's bij het schoonmaken op 4 oktober 2016



2C  
Bovenste foto's genomen vóór het experiment, de onderste foto's bij het schoonmaken op 4 oktober 2016



3C  
Bovenste foto's genomen vóór het experiment, de onderste foto's bij het schoonmaken op 4 oktober 2016





4C

Bovenste foto's genomen vóór het experiment, de onderste foto's bij het schoonmaken op 4 oktober 2016

