

Bacteriële aantasting van houten paalfunderingen

Literatuurstudie en inventarisatie van de Nederlandse situatie

Maart 2000 (2^e druk)

R.K.W.M. Klaassen¹, P.J.M. den Nijs², G.W. van Beusekom³



Nederlands Instituut
voor Toegepaste
Geowetenschappen TNO



In samenwerking met Universiteit Wageningen (UW), IFCO funderingsexpertise B.V., Fugro, TNO-Bouw



¹ SHR Hout Research (penvoerder, onderdeel houtaantasting)

² Wareco Amsterdam (onderdeel inventarisatie)

³ Nederlands Instituut voor toegepaste Geowetenschappen TNO, Delft (onderdeel bodem)

Samenvatting

Van het Ministerie van VROM is de opdracht ontvangen om een literatuurstudie uit te voeren naar de oorzaken van bacteriële aantasting in Nederlandse houten paalfunderingen en om het reeds uitgevoerde funderingsonderzoek aan Nederlandse houten paalfunderingen waarbij bacteriële aantasting is geconstateerd te inventariseren.

Door de alarmerende berichten over weggroeiende houten paalfunderingen onder invloed van bacteriën was er behoefte aan meer achtergrondkennis over het ontstaan en het proces van dit soort aantasting. Deze literatuurstudie is bedoeld om alle actuele kennis over dit onderwerp te achterhalen en om kennisleemten in kaart te brengen. De inventarisatie is een eerste aanzet om een goed beeld te krijgen van de aard en het voorkomen van de aantasting in Nederland. Over de omvang van het probleem in Nederland kan geen uitspraak gedaan worden omdat de inventarisatie gebaseerd is op projecten waarbij op zijn minst, een vermoeden bestond dat de houten paalfundering niet goed was. Informatie over niet aangetaste houten paalfunderingen is derhalve sterk ondervertegenwoordigd in de archieven van de funderingsbureaus.

Omdat hout onder water goed geconserveerd is kan het als funderingsmateriaal worden gebruikt. Deze vooronderstelling blijkt niet altijd waar te zijn omdat in bepaalde omstandigheden (in Nederland) ernstige houtaantasting onder water plaatsvindt veroorzaakt door bacteriën. Deze aantastingproblematiek is van andere aard dan de aantasting die plaats vindt als gevolg van droogstand. Een parallel project in opdracht van VROM beschrijft de problematiek rondom droogstand (VROM 1999).

De opdracht is gegeven aan een consortium van onderzoeksinstituten. Het hout onderzoeksinstituut SHR Hout Research is opgetreden als penvoerder en heeft de houtaantastingscomponent voor haar rekening genomen ondersteund door de LUW. Het Nederlands instituut voor toegepaste geowetenschappen TNO (NITG-TNO) heeft de ondergrondse en grondwatercomponent voor haar rekening genomen. Het funderingsonderzoeksbureau WARECO Amsterdam is trekker geweest van de inventarisatie van eerder uitgevoerd funderingsonderzoek en de overige bureaus (TNO-Bouw, Fugro en IFCO funderingsexpertise BV) hebben gegevens voor de inventarisatie ter beschikking gesteld. Binnen het consortium zijn de resultaten integraal besproken en zijn hypothesen met betrekking tot het ontstaan van de bacteriële aantasting opgesteld.

1. De literatuurstudie

1.1. Voorkomen en activiteit van bacteriën in de grondwaterhabitat

De grondwaterhabitat rond de heipalen wordt gekenmerkt door het voorkomen van klei- en/of veenlagen. Aan het oppervlak ligt vaak een opgebrachte zandlaag als basis voor de bouwwerken. In de meerderheid van de situaties is er sprake van een hydrologisch infiltrerende situatie (i.t.t. kwelsituatie), dat wil zeggen dat het grondwater vanaf het oppervlak de ondergrond instroomt.

De zand-, veen- en kleilagen die de heipalen doorkruisen, bevatten voldoende poriën van voldoende grootte om bacteriën te kunnen herbergen. Bacteriën komen overal in de sedimenten waarin de heipalen staan voor. Wel is er sprake van een zonering afhankelijk van de hydrogeologische gelaagdheid van de ondergrond. De klei- en veenlagen zijn relatief slecht doorlatend voor water en hierin zal de bacteriële activiteit lager zijn dan in de relatief goed doorlatende zandlagen.

In de richting van de grondwaterstroming neemt als gevolg van bacteriële activiteit het zuurstofgehalte af. Tevens zijn de bacteriën afhankelijk van het organisch materiaal dat met het grondwater wordt aangevoerd of in de sedimenten aanwezig is. De veenlagen bevatten veel organisch materiaal.

De bacteriën die verantwoordelijk zijn voor de aantasting van de heipalen kunnen dezelfde zijn als de bacteriën die van nature in de ondergrond en het grondwater voorkomen (autochtoon). Het is ook mogelijk dat de bacteriën afkomstig zijn van een externe bron en via transportprocessen de heipaal hebben bereikt.

Het transport van bacteriën wordt bepaald door sorptie- (hechting) en desorptiereacties (loskomen). Het transport in de zandlagen verloopt als gevolg van de grotere poriën gemakkelijker dan in de kleilagen. Voorts blijkt nutriëntengebrek te leiden tot meer hechting van bacteriën aan mineralen en andere deeltjes (adsorptie). Dit leidt dus tot verminderd transport van bacteriën.

1.2. Bacteriën en hydrogeochemische factoren

Bacteriën hebben energie nodig voor hun verbrandingsprocessen (bijvoorbeeld oxidatie door zuurstof). In de grondwaterhabitat onttelen ze deze aan zogenaamde redoxprocessen. Dit zijn processen waarbij elektronen van de ene reactant (elektrondonor) worden overgedragen aan de andere reactant (de elektronacceptor). Hierbij komt energie vrij. De elektrondonor is in de ondergrond meestal organisch materiaal en de favoriete elektronacceptor is indien beschikbaar zuurstof. Doch in de grondwaterhabitat is zuurstof lang niet altijd beschikbaar. Indien zuurstof niet voorhanden is kunnen andere stoffen zoals nitraat en Fe(III) de functie van zuurstof vervullen, waarbij echter minder energie vrijkomt. De redoxprocessen volgen dus een zogenaamde thermodynamische sequentie, waarbij de hoeveelheid vrijkomende energie afneemt.

Doordat op enkele uitzonderingen na micro-organismen bij de redoxreacties betrokken zijn, is er parallel aan de thermodynamische sequentie ook een ecologische successie van micro-organismen. Waar zuurstof aanwezig is, vinden we aerobe bacteriën, waar nitraat gebruikt wordt als elektronacceptor zien we denitrificerende bacteriën enz. De voorkomende micro-organismen soorten zijn dus afhankelijk van de optredende redoxreactie en dus van de beschikbaarheid van elektronacceptoren en elektrondonoren en omgevingsfactoren zoals de pH.

De heipalen staan meestal onder de grondwaterspiegel en doorsnijden één of meerdere klei- en/of veenlagen. In aan de oppervlakte gelegen (opgebrachte) zandlagen, waarin weinig organisch materiaal aanwezig is, kan het grondwater, indien er sprake is van een infiltrerende situatie, nog enige zuurstof bevatten (maximaal 10 mg/l).

Veenlagen bevatten veel gereduceerd organisch materiaal, zodat beschikbare zuurstof in deze laag snel zal worden opgebruikt voor de afbraak hiervan. Dit betekent dat in en beneden de veenlaag anaerobe (zuurstofloze) omstandigheden heersen en anaerobe processen optreden.

Afhankelijk van de beschikbaarheid van zuurstof en alternatieve elektronacceptoren, zoals nitraat, Fe(III), sulfaat, treedt in de richting van de grondwaterstroming een bepaalde redoxsequentie op waarbij verschillende typen bacteriën zijn betrokken. De beschikbare nutriënten en elektronacceptoren kunnen van nature aanwezig zijn, doch ook door menselijk handelen (vervuilingen, zure regen e.d.) in de ondergrond terechtkomen. Volgens McNabb en Dunlap (1975) bepalen de beschikbaarheid van nutriënten en energie de mate van bacteriële groei en activiteit in de grondwaterhabitat.

1.3. Eigenschappen houtaantastende bacteriën

Hout kan aangetast worden door verschillende micro-organismen. Afhankelijk van de groeiomstandigheden heeft de ene levensvorm een betere concurrentiepositie dan de andere.

Bacteriën blijken tolerant te zijn tegen zeer lage zuurstof concentraties (met name de erosie bacteriën EB), toxische stoffen (met name de tunnelvormende bacteriën TB), hoog lignine gehalte (TB) zuurgraad en temperatuur. De slijm laag van de bacteriën speelt een belangrijke rol bij de hoge tolerantie tegen toxische stoffen en bij de enzymatische afbraak van hout.

Onder minder extreme omstandigheden komt bacteriële aantasting nauwelijks voor omdat andere micro-organismen dan concurrentiekrachtiger zijn. Bacteriële aantasting gaat relatief langzaam.

De drie hoofdcomponenten van hout zijn cellulose, hemicellulose en lignine. Bacteriën breken met name cellulose en hemicellulose af en deze afbraak kan plaats vinden in afwezigheid van zuurstof. Lignine vormt met cellulose en hemicellulose een complex netwerk en het algemene idee is dat de lignine moet worden afgebroken of gemodificeerd om de cellulose en hemicellulose toegankelijk te maken voor enzymatische afbraak door bacteriën. Lignine afbraak kan niet in afwezigheid van zuurstof. De aanwezigheid van steenkool voorraden en duizend jaren oude bomen in venen bevestigen dat bacteriële houtaantasting niet mogelijk is in afwezigheid van zuurstof.

1.4. Patronen bij bacteriële aantasting

In hout kunnen primaire en secundaire houtaantastende en houtkoloniserende bacteriën voorkomen. Houtkoloniserende bacteriën veroorzaken geen aantasting maar leven alleen van inhoudstoffen in het hout. Secundaire aantasters leven van het residumateriaal dat ontstaat na primaire aantasting. Bij de primaire aantasting van hout door bacteriën kunnen drie hoofdpatronen worden onderscheiden, waarvan tunnelvormende bacteriële aantasting (TB) en erosie bacteriële aantasting (EB) de belangrijkste zijn. Beide patronen zijn duidelijk herkenbaar onder het microscoop. TB wordt als ideale houtaantaster beschouwd omdat de bacteriën die dit patroon veroorzaken alle verschillende houttypen kunnen afbreken (duurzaam en verduurzaamd hout). TB hebben echter een lagere tolerantie voor ongunstige omstandigheden dan EB die al voor kunnen komen bij zeer lage zuurstofconcentraties en hoge temperaturen. De snelheid van EB aantasting is echter erg laag.

1.5. Bacteriën isoleren uit aangetast hout

Omdat het moeilijk is om primaire houtaantastende bacteriën te scheiden van andere in het hout voorkomende bacteriën en omdat houtaantasting waarschijnlijk wordt veroorzaakt door een mengcultuur van bacteriën is het tot op heden nog nergens mogelijk geweest om de houtaantastende bacteriën te isoleren, te identificeren en met een reïncultuur nieuwe aantasting te initiëren. Van de tot nu toe geïsoleerde en geïdentificeerde bacteriesoorten uit aangetast hout blijken de meeste niet als primaire houtaantaster te kunnen worden aangemerkt omdat ze een afwijkende morfologie hebben. Op dit moment worden de "Gliding Bacteria" en het geslacht *Nevskia* als meest waarschijnlijke houtaantasters gezien. Gezien de milieuomstandigheden die heersen rond de heipaal is het waarschijnlijk dat (facultatief) anaërobe bacteriën de houtaantasting veroorzaken. Waardoor de zogenaamde gliding bacteriën als aantaster afvallen. Verder onderzoek naar de fysiologische eigenschappen van de houtaantastende bacteriën is geblokkeerd totdat de identiteit van deze bacteriën duidelijk wordt.

1.6. Riolerings

Riolen zijn onder de stad alom aanwezig en het vermoeden bestaat dat deze op grote schaal beschadigd zijn. Of ook rioolwater uittreedt is afhankelijk van de hydrologische situatie. Uittredend rioolwater heeft een negatief effect op de zuurstofconcentratie van de omringende grond en het grondwater, maar kan door de aanvoer van nutriënten (m.n. stikstof en fosfor) en elektronacceptoren (bijvoorbeeld sulfaat) een positief effect hebben op de bacteriële groei en activiteit. Voorts kunnen vanuit beschadigde riolen bacteriën in het grondwatermilieu terecht zijn gekomen die aantasting van heipalen mogelijk hebben geïnitieerd dan wel versneld.

1.7. Methoden voor paalonderzoek en internationale ervaring

Er zijn diverse methodieken beschikbaar om de reststerkte van een funderingspaal te bepalen. Vanwege praktische onderzoekstechnische redenen wordt er in Nederland voor het vaststellen van de niet dragende aangetaste schil met de inslaghamer gewerkt. De grenen paal wordt in Nederland als uiterst gevoelig beschouwd voor bacteriële aantasting. Uit de literatuur blijkt dat ook andere houtsoorten sterk aangetast kunnen worden

in relatief korte tijd. Uit de ervaring van sommige funderingsbureaus en uit de literatuur blijkt dat hout in zandachtige bodem gevoeliger is voor bacteriële aantasting dan in veenachtige bodems. Dit beeld wordt niet overal bevestigd.

1.8. Hypothesen over de oorzaak van aantasting

Er zijn een aantal hypothesen opgesteld die het proces van bacteriële aantasting van houten paalfunderingen verklaren.

De meest aannemelijke hypothese is dat bacteriële houtaantasting alleen kan plaats vinden in aanwezigheid van zuurstof en dat zeer geringe concentraties hiervoor voldoende zouden zijn. Veen en kleilagen waarin houten paalfunderingen normaliter staan zijn zuurstofloos en zonder extra toevoer van zuurstof is in principe aantasting onmogelijk. De extra zuurstof zou via de paalkoppen die vaak in een zuurstofhoudende laag (opgespoten zand, puin, geroerde grond) staan, aangevoerd kunnen worden. In alle palen zit van nature een bepaalde hoeveelheid zuurstof. Om die reden worden waarschijnlijk palen in alle houtsoorten aangetast (normaliter alleen de buitenste schil tot circa 15 mm). Een tweede en minder waarschijnlijke mogelijkheid is dat zuurstof via de diepere zandlaag (funderingslaag) wordt aangevoerd.

Het rioolsysteem zou de bacteriële activiteit en groei kunnen bevorderen door toevoer van, voor bacteriën, essentiële voedingsstoffen en elektronacceptoren uit lekkende riolen. Verder zou een lekkend riool als bacteriënbron kunnen fungeren waardoor aantasting versneld of geïnitieerd zou kunnen worden. Lekkende riolen hebben echter een negatieve invloed op de zuurstofconcentratie in de bodem en daarmee een negatief effect op de snelheid van bacteriële aantasting van hout.

Hoewel de aard van de houtaantastende bacteriën van groot belang is om het proces van deze aantastingsvorm verder in kaart te brengen is de verwachting dat hiervoor langjarig onderzoek nodig is en daardoor niet beschikbaar op de korte termijn voor de Nederlandse funderingsproblematiek. Echter de rol van zuurstof lijkt cruciaal en gedetailleerde zuurstofmeting zowel in de palen als in de bodem zouden van grote waarde kunnen zijn om het proces van bacteriële aantasting beter in kaart te brengen. Gedacht wordt om een aantal gebieden te vergelijken waar ernstige en minder ernstige aantasting voorkomt en een vergelijking van stedelijk en buitenstedelijk gebied.

2. Inventarisatie van de Nederlandse situatie

Paalfunderingen worden toegepast op de zogenaamde slappe bodems, de paallengte is afhankelijk van de bodemopbouw en varieert in Nederland van 2 tot 23 meter.

Tot in de jaren 1950 – 1960 is in Nederland nog op grote schaal gebruik gemaakt van houten heipalen. Het merendeel van deze palen werd ingevoerd. Deze importpalen bestaan voor het merendeel uit vuren, terwijl de inlandse palen voor circa 90% uit grenen bestaan. Daarnaast kan opgemerkt worden dat de kortere palen (< 8 m) voornamelijk inlandse palen zijn, terwijl het bij langere palen (> 13 m) meestal importpalen betreft.

Op grond van de uitgevoerde inventarisatie zijn de volgende conclusies getrokken:

- Grenen palen blijken veel gevoeliger voor bacteriële aantasting dan vuren palen. Hierbij moet nog worden opgemerkt dat het vermoeden bestaat dat met name die vuren palen gegevens zijn meegenomen die betrekkingen zouden kunnen hebben op droogstand. Informatie hierover was echter niet terug te vinden.
- Het gebruik van grenen palen blijkt niet beperkt te zijn tot gebieden met een ondiepere funderingszandlaag (Haarlem en Zaandam).
- Alle onderzochte palen, zowel vuren als grenen, zijn in meer of mindere mate bacterieel aangetast.
- Uit het overall beeld van de gegevens is geen relatie tussen de mate van aantasting en de leeftijd van het heiwerk te herleiden. De snelheid en de mate van aantasting worden door een complex van factoren beïnvloed.

Op basis van de op dit moment beschikbare gegevens is geen verantwoord onderscheid in mate van aantasting over verschillende regio's te herkennen. Binnen één regio blijken "ernstig en minder ernstig" aangetaste palen naast elkaar te liggen. Dit verdelingspatroon van aantasting lijkt erop te wijzen dat aantasting door verschillen op lokale schaal worden beïnvloed.

Op basis van de gegevens van projecten tot nu toe kan nog geen volledig en zeker beeld over de schaal van de houten palen problematiek worden afgeleid. Ook de spreiding is niet volledig in beeld gebracht. Sinds het manifest worden van de palen problematiek (met name grenen) is eenvoudigweg nog te weinig feitelijk en bruikbaar onderzoek verricht (onderzoek volgens het protocol). Sinds kort worden funderingsinspecties gestandaardiseerd uitgevoerd en derhalve is het zinnig om over enige jaren opnieuw een inventarisatie uit te voeren waardoor een vollediger en zekerder beeld van de omvang van de problematiek kan worden verkregen.

3. Toekomst perspectief, te verwachte schades en te nemen maatregelen

Op grond van de volgende zaken die uit deze studie naar komen is een toekomstbeeld opgesteld:

- Grenen palen zijn zeer gevoelig voor bacteriële aantasting;
- Vuren palen worden ook aangetast maar op grond van het uitgevoerde onderzoek wordt niet verwacht dat dit binnen afzienbare tijd tot een substantieel verlies aan draagvermogen van de paal leidt. Dit laat onverlet dat, door plaatselijk ongunstige omstandigheden, vuren palen ook in ernstige mate kunnen worden aangetast;
- Er zijn sterke aanwijzingen gevonden dat zuurstof de cruciale factor is bij het ontstaan en verloop van bacteriële aantasting in de paalfunderingen;
- Over de snelheid van de bacteriële aantasting in grenen palen kan slechts in zijn algemeenheid worden gesproken omdat die afhankelijk is van de omstandigheden waaronder het hout zich bevindt. Uit een vergelijking van de circa 90 jaar oude palen in de Amsterdamse buurt in Haarlem (gebouwd rond 1910) met de circa 70 jaar oude palen uit Zaanstad (gebouwd rond 1930) blijkt dat de 90 jaar oude palen veel ernstiger zijn aangetast dan de 70 jaar oude palen. Hoewel de omgevingsfactoren cruciaal zijn voor het verloop van de aantasting kan worden gesteld dat de palen in Zaanstad de maximale aantastingsgraad (van het spinthout) nog niet en in Haarlem vaak al wel hebben bereikt.

Er van uitgaande dat er tot in de jaren 60 grenen palen (jaarlijks circa 80.000, zie 10.1.1.) zijn toegepast in het hele gebied zoals aangegeven in figuur 10.2 en dat deze palen in 90 jaar zeer ernstig aangetast kunnen worden door bacteriën, kan de verwachting uitgesproken worden dat het heipalenproblematiek zich tot zeker in 2050 zal voordoen. Met betrekking tot de grootschalige stedelijke uitbreiding rond 1900 en 1930 wordt verwacht dat de grenen heipalenproblematiek van de uitbreidingen van rond 1900 op dit moment actueel is en dat voor de uitbreidingen van 1930 een piek rond 2020 verwacht mag worden.

Zuurstof lijkt een cruciale rol te spelen bij het ontstaan en verloop van bacteriële aantasting in houten paalfunderingen. Wanneer deze cruciale rol van zuurstof met zekerheid kan worden aangetoond dan zouden effectieve maatregelen genomen kunnen worden om de zuurstoftoevoer naar de paal te stoppen. Hiervoor zouden verschillende methodieken kunnen worden ontwikkeld waarbij enerzijds de paalkop zou kunnen worden behandeld of waarbij anderzijds geohydrologische maatregelen uitkomst zouden kunnen bieden. Wanneer de rol van zuurstof niet cruciaal is voor het proces van bacteriële aantasting van hout dan zouden specifieke bestrijdingsmiddelen ontwikkeld moeten worden. Hierbij wordt met name gedacht aan biologische bestrijding met behulp van fagen. Wanneer het lukt om de juiste biologische bestrijding te vinden zou het proces van aantasting met enkele tientallen jaren vertraagd kunnen worden.

Inhoud

Samenvatting	2
Inhoud	7
1 Inleiding.....	10
2. Basisinformatie hout.....	12
2.1. Opbouw hout.....	12
2.2. Houtaantasting door insecten en schimmels	16
3. Inleiding in Microbiologie	17
3.1. Typering naar interne structuur.....	17
3.1.1. Prokaryoten.....	17
3.1.2. Eukaryoten.....	17
3.1.3. Archaeobacteriën.....	18
3.1.4. Virussen en bacteriofagen.....	18
3.2. Indeling van bacteriën	19
3.2.1. Indeling naar gramkleuring.....	19
3.2.2. Indeling naar leefmilieu	19
3.3. Omgevingsfactoren en fysische karakteristieken	20
3.3.1. Temperatuur	20
3.3.2. Water	21
3.3.3. Zuurgraad	21
3.3.4. Osmotische druk	22
3.3.5. Hydrostatische druk	23
3.4. Diversiteit versus niches en interactie.....	23
3.5 Conclusies	25
4. Voorkomen en activiteit van bacteriën in de grondwaterhabitat	26
4.1 Ruimte en morfologie	26
4.2. Hydrogeologische gelaagdheid	26
4.3. Contact met het oppervlak.....	27
4.4. Herkomst en transport.....	28
4.4.1. Fysische factoren	29
4.4.2. Chemische factoren	29
4.4.3. Microbiologische factoren.....	30
4.4.4. Hydrodynamica	30
4.5. Samenvatting	30
4.6. Conclusies	31
5. Bacteriën en hydrogeochemische factoren.....	32
5.1. Redoxprocessen	32
5.2. Zuurstof.....	35
5.3. Nitraat	35
5.4. IJzer	36
5.5. Sulfaat.....	37
5.6. Methaan	37
5.7. Samenvatting	38
5.8. Conclusies	39
6. Eigenschappen van houtaantastende bacteriën	40
6.1 Slijmlaag	40
6.1.1. Enzymen.....	40
6.1.2. Weerstand tegen toxische stoffen	41

6.2. Ecologie van bacteriële aantasting	42
6.3. Snelheid van aantasting	43
6.3.1. Waargenomen snelle aantasting	43
6.3.2. Waargenomen langzame aantasting	44
6.4. Natuurlijke biologische vijanden van bacteriën	44
6.5. Aanpassing van bacteriën onder veranderende leefomstandigheden	44
6.6. Samenvatting	44
7. Patronen in bacteriële aantasting	45
7.1. TB (tunnelvormende bacteriën)	45
7.2. EB (Erosie bacteriën)	47
7.3. CB (cavitation, holtevormende bacteriën)	49
7.4. Actinomyceten (filament bacteriën)	50
7.5. Aantasting van weinig gelygnificeerde delen door bacteriën	50
7.6. Houtkoloniserende bacteriën	52
7.7. Samenvatting	52
8. Bacteriën isoleren uit hout	53
8.1. Isolatie technieken	53
8.1.1. Traditioneel	53
8.1.2. Isoleren met membraanfilters	53
8.1.3. Herbesmetting	53
8.2. Uit hout geïsoleerde bacteriën	54
8.2.1. Gram-positief, cocvormig	54
8.2.2. Gram-negatief, cocvormig	54
8.2.3. Gram-positief, staafvormig, Corynevormige en Actinomyceten	54
8.2.4. Gram-positief, endosporen vormend, pleomorf (staaf- / cocvormige) bacteriën	55
8.2.5. Gram-negatief, pleomorf (staaf- / cocvormige) bacteriën	55
8.2.6. Gram-negatieve. facultatief anaërobe staafvormige bacteriën	55
8.2.7. Gram-negatieve gebogen, gedraaide vormen	56
8.2.8. Gram-negatieve "gliding" bacteriën	56
8.2.9. Rest	56
8.3. Geïsoleerde bacteriën uit levende bomen	57
8.4. Invloed van nutriënten op de bacterië-samenstelling	57
8.5. Samenvatting	58
9. Inventarisatie funderingsinspectiegegevens	59
9.1. Methode	59
9.1.1. Inleiding	59
9.1.2. Gegevens	59
9.2. Resultaten	60
9.2.1. Spreiding grenen palen in Nederland	60
9.2.2. Aantasting vuren en grenenhout en regionale verschillen in aantasting	62
9.2.3. Relatie leeftijd en aantasting paal	65
9.3. Conclusies en discussie	65
10. Paalonderzoek	67
10.1. Algemeen	67
10.1.1. Kwantitatief gebruik van houten heipalen	69
10.1.2. Problemen met grenen	70
10.1.3. Ervaring funderingsbureaus	72
10.2. Veen in relatie tot bacteriële groei en activiteit	72
10.2.1. Conclusies	73
10.3. Invloed van riolen	73
10.3.1. Hydrologische eigenschappen van riolen	74
10.3.1.1. Conclusies	74
10.3.2. Samenstelling van rioolwater	74

10.3.2.1. Conclusies	75
10.3.3. Lekkende riolen en zuurstof	75
10.3.3.1. Conclusies	76
10.3.4. Riolen en temperatuur in de ondergrond	76
10.3.4.1. Conclusies	77
10.4. Bepaling van de reststerkte van het funderingshout	77
10.4.1. Methode inslaghamer (Frankhamer, Pylodin, Penetrometer).....	77
10.4.2. Boorkern methode voor het radiale druksterkte profiel	78
10.4.3. Microscopische kwantificering van de aantasting in relatie tot verlies aan druksterkte	78
10.4.4. Methode vochtgehalte	78
10.4.5. Methode resistograaf	78
10.5. Relatie aantasting -leeftijd –bodem -houtsoort.....	79
10.6 Samenvatting	80
11 Hypothesen over oorzaken van aantasting	81
11.1. Uitgangspunten	81
11.2. Hypothese 1: de heipaal is de zuurstof transporteur	81
11.2.1. Diffusie	82
11.2.2. Hogere waterdoorlatendheid van de heipaal	82
11.3. Hypothese 2: Zuurstoftoevoer in samenhang met de geohydrologische opbouw en hydrologische situatie.....	83
11.4. Hypothese 3: riool als stimulator voor bacteriële groei en activiteit	84
11.5 Samenvatting	84
12. Conclusies met betrekking tot de vraagstelling:	86
12.1. Welke bacteriën veroorzaken onder welke omstandigheden aantasting	86
12.2. Welke houtsoorten worden aangetast	86
12.3. Omstandigheden waaronder bacteriële aantasting ontstaat en die de aantasting bevorderen.....	86
12.4. Aantastingsnelheid	87
12.5. Inventarisatie	87
12.6. Relatie aantasting en sterkte	87
12.7. Welke aspecten zijn niet bekend	87
12.8. Toekomstperspectief, te verwachten schades en te nemen maatregelen	88
Literatuurlijst.....	90
Bijlage 1	98
Bijlage 2	102
Bijlage 3	104

1 Inleiding

Van het Ministerie van VROM is op 01-12-98 de opdracht ontvangen om een literatuurstudie uit te voeren naar de oorzaken van bacteriële aantasting in Nederlandse houten paalfunderingen en om het reeds uitgevoerde funderingsonderzoek aan Nederlandse houten paalfunderingen waarbij bacteriële aantasting is geconstateerd te inventariseren.

Door een toename van alarmerende berichten over weggroeiende houten paalfunderingen onder invloed van bacteriën in verschillende gebieden in Nederland was er behoefte aan meer achtergrondkennis over het ontstaan en het proces van dit soort aantasting. Deze literatuurstudie is bedoeld om alle actuele kennis over dit onderwerp te achterhalen en om kennisleemten in kaart te brengen. De inventarisatie is een eerste aanzet om een goed beeld te krijgen van de aard en het voorkomen van de aantasting in Nederland. Over de omvang van het probleem in Nederland kan geen uitspraak gedaan worden omdat de inventarisatie gebaseerd is op projecten waarbij op zijn minst een vermoeden bestond dat de houten paalfundering niet goed was. Informatie over niet aangetaste houten paalfunderingen is derhalve sterk ondervertegenwoordigd in de archieven van de funderingsbureaus. Bij de inventarisatie is ervan uitgegaan dat aantasting zonder droogstand is veroorzaakt door bacteriën. Aantasting als gevolg van droogstand wordt hier niet meegenomen omdat deze vorm van aantasting wordt veroorzaakt door schimmels.

De opdracht is gegeven aan een consortium van onderzoeksinstituten. Het hout onderzoeksinstituut SHR Hout Research is opgetreden als penvoerder en heeft de houtaantastingscomponent voor haar rekening genomen ondersteund door de LUW. Het Nederlands instituut voor toegepaste geowetenschappen TNO (NITG-TNO) heeft de ondergrondse en grondwatercomponent voor haar rekening genomen. Het funderingsonderzoeksbureau WARECO Amsterdam is trekker geweest van de inventarisatie van eerder uitgevoerd funderingsonderzoek en de overige bureaus (TNO-Bouw, Fugro en IFCO funderingsexpertise BV) hebben gegevens voor de inventarisatie ter beschikking gesteld.

Binnen het consortium zijn de resultaten van de verschillende deelstudies besproken, zijn conclusies getrokken en aanbevelingen gedefinieerd.

De hoofdstukken 2 (basisinformatie hout) en 3 (inleiding in de microbiologie) zijn opgenomen om de lezer enig kader te verschaffen waarbinnen de resultaten van dit onderzoek te plaatsen zijn. De hoofdstukken 4 (voorkomen van bacteriën in de grondwaterhabitat) en 5 (bacteriën en hydrochemische factoren) geven een overzicht van de condities waaronder bacteriën in de bodem kunnen voorkomen en waar bacteriële levensprocessen van afhankelijk zijn. Hoofdstukken 6 (eigenschappen van houtaantastende bacteriën), 7 (patronen van bacteriële aantasting) en 8 (bacteriën isoleren uit hout) geven een overzicht van het voorkomen en van de relevante processen van bacteriële aantasting in hout. In hoofdstuk 9 (houten heipalen in Nederland) zijn de resultaten van de inventarisatie van al eerder uitgevoerd funderingsonderzoek in kaartvorm weergegeven. In hoofdstuk 10 is alle relevante informatie met betrekking tot paalonderzoek opgesomd. In hoofdstuk 11 wordt een model gepresenteerd van bacteriële aantasting van hout en op grond van dit model zijn hypothesen geformuleerd omtrent het ontstaan en het proces van bacteriële aantasting in houten paalfunderingen. In hoofdstuk 12 worden de concrete onderzoeksvragen beantwoord zoals die vóór aanvang van het project waren geformuleerd:

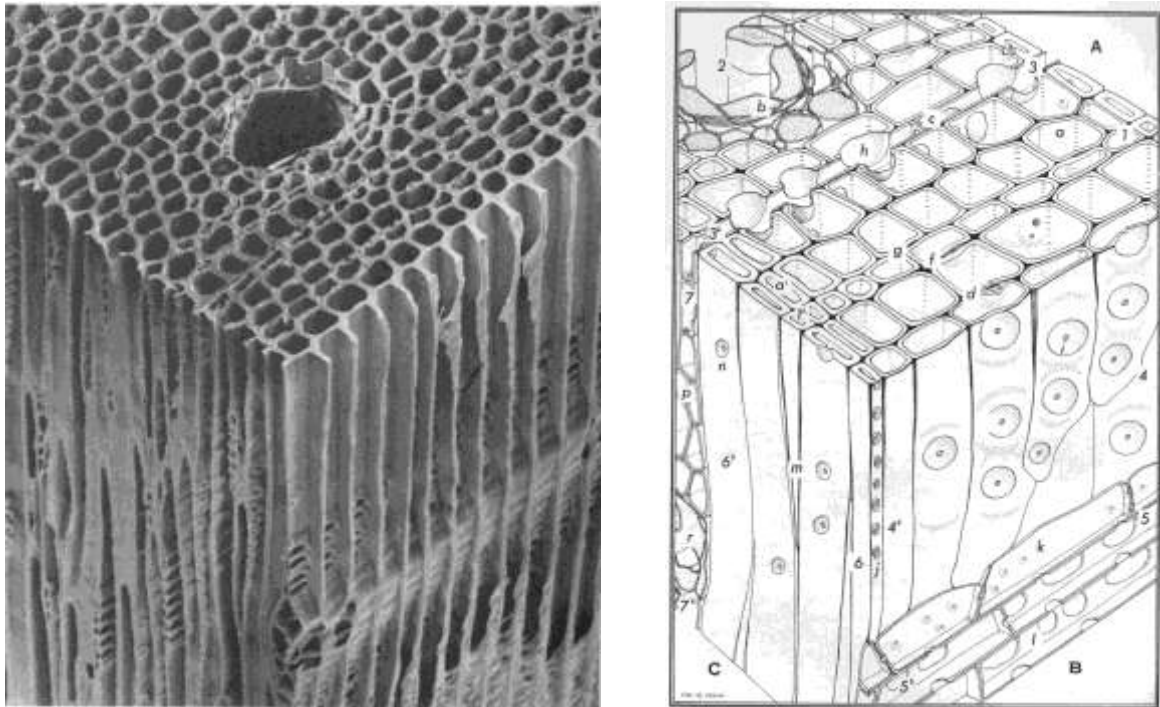
- Welke bacteriën veroorzaken onder welke omstandigheden aantasting in hout;
- Welke houtsoorten worden aangetast;
- Onder welke omstandigheden ontstaat bacteriële aantasting en welke omstandigheden bevorderen de aantasting;
- Wat is de aantastingsnelheid;
- Wat is de relatie tussen aantasting en sterkte-eigenschappen van het hout;
- Hoe kan de kennisoverdracht plaatsvinden.

Verder zijn in hoofdstuk 12 de kennisleemten weergegeven en worden aanbevelingen gedaan om deze verder in te vullen.
In een bijlage staan basisprincipes aangegeven om onder het microscoop bacteriële aantasting te herkennen.

2. Basisinformatie hout

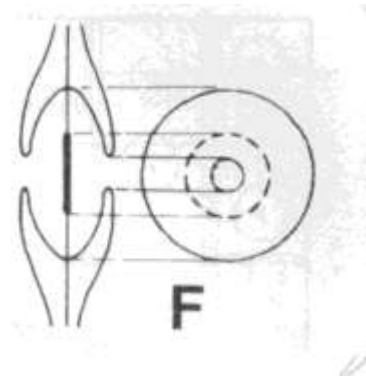
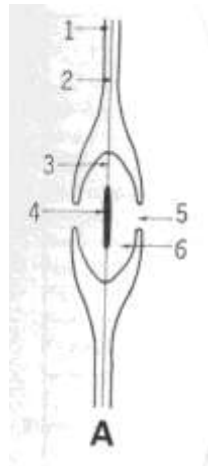
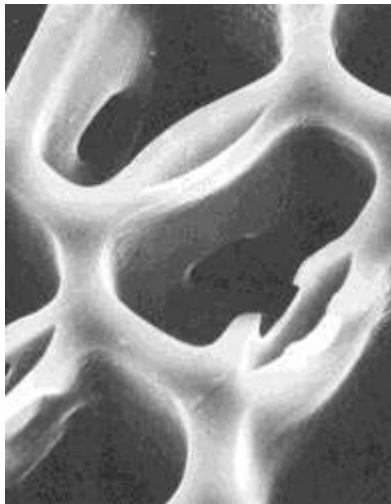
2.1.Opbouw hout

Er bestaat naald- en loofhout. Naaldhout (zie figuur 2.1) is relatief eenvoudig van opbouw met een hoofdcelstructuur die voor stevigheid, watertransport en opslag van voedingsstoffen zorgt in de levende boom. Deze cellen heten tracheïden, zijn spoelvormig en staan met elkaar in contact door middel van openingen (hofstippels, zie figuur 2.1. en 2.2). In deze hofstippels zit een membraan dat zeer smalle openingen heeft waardoor water van de ene naar de andere cel kan. Deze waterstroom is met name van beneden naar boven (axiale richting) maar kan ook parallel aan de jaarringen lopen (tangenciaal).

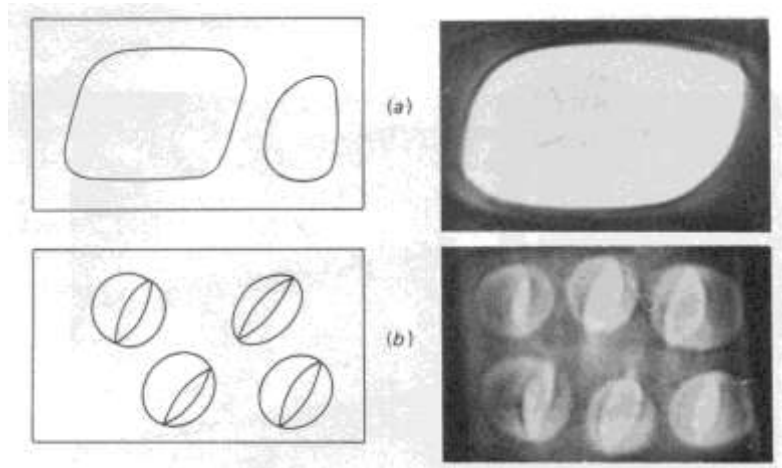


Figuur 2.1: Microstructuur naaldhout (grenen), rechts een microscopische foto en links een schematische weergave. Relevante codering: 2: harskanaal, 3 & 5 straal, 4: tracheïde, d & e hofstippels, i: grote kruisvlakstippels tussen de tracheïden en de stralen (naar Panshin & de Zeeuw 1990).

Het watertransport van binnen naar buiten en omgekeerd (radiaal) verloopt via de stralen. De stralen staan in verbinding met het axiale watertransport systeem (de tracheïden) door middel van openingen in de celwand (kruisvlakstippels) waar ook weer een stippelmembraan in zit. Deze kruisvlakstippels kunnen erg groot zijn, zoals bij grenen of klein zoals bij vuren. In de levende boom is de buitenste laag fysiologisch actief (zie figuur 2.1 en 2.3). Dat wil zeggen dat hier het watertransport plaats vindt en de opslag van de voedingsstoffen. Het kernhout doet aan deze processen niet mee. Het is dan ook droger, vol- en dichtgestopt met allerlei inhoudstoffen waaronder voor micro-organismen toxische stoffen. Kernhout kan hierdoor dan ook donkerder van kleur zijn en is niet meer toegankelijk voor de boom als fysiologisch actief weefsel. Alleen in het spinhout van een boom worden voedingsstoffen opgeslagen (zetmeel en suikers) en om deze reden is het spinhout ook gevoeliger voor aantasting. De afwezigheid en de open houtstructuur zorgen er verder voor dat het spinhout eerder aangetast wordt dan kernhout. De opgeslagen voedingsstoffen kunnen als voedingsbron dienen voor micro-organismen.

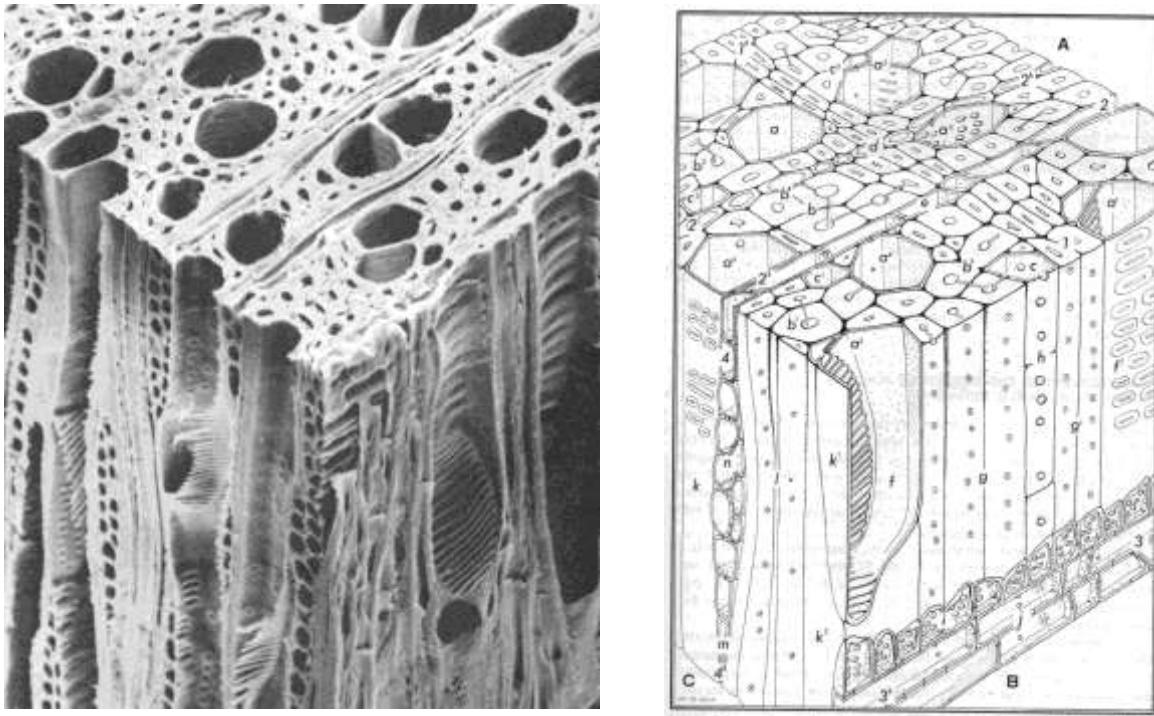


Figuur 2.2.: Links foto microstructuur van een hofstippel (naar Panshin & de Zeeuw 1990) en rechts een dwarse doorsnede door een hofstippel, 1: secundaire wand, 2: primaire wand, 3: stippelmembraan, 4: torus, 5: stippelopening, 6: stippelkamer (naar Tsoumis 1991).



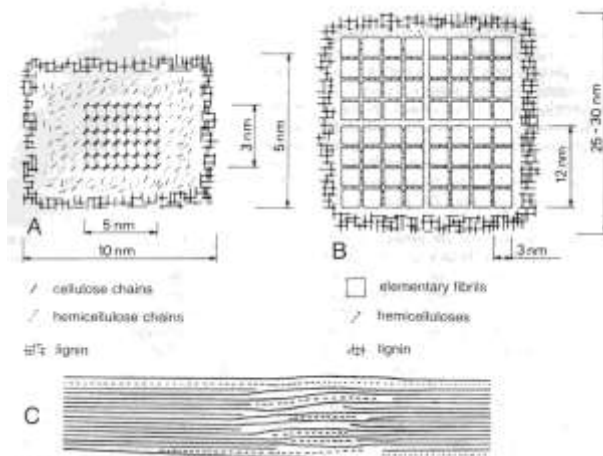
Figuur 2.3.: Verschil kruisvlakstippels tussen vuren en grenen. Schematische radiale tekeningen (links) en radiale microfoto (rechts) van de stralen van grenen (a) met grote kruisvlakstippels en vuren (b) met kleine kruisvlakstippels (naar Panshin & de Zeeuw 1990).

De opbouw van loofhout is in wezen hetzelfde maar complexer (zie figuur 2.4). Er zijn meerdere celtypen dominant aanwezig. Vezels voor stevigheid, vaten voor het watertransport en parenchym voor de opslag van voedingsstoffen.



Figuur 2.4.: Microstructuur loofhout (*Liquidambar*), rechts een microscopische foto en links een schematische weergave. Relevante codering: a: vat, b: vezel, 3 & 4 straal (naar Panshin & de Zeeuw 1990).

De celwand van loofhout / naaldhout is opgebouwd uit verschillende componenten: lignine (ook wel houtstof genoemd), cellulose en hemicellulose. Deze drie componenten vormen samen een soort betonachtige structuur. De lange cellulose ketens die in strengen liggen (microfibrillen) vormen de wapening van het geheel. De lignine (hemicellulose) geven stevigheid zoals de betonmortel (zie figuur 2.5.).



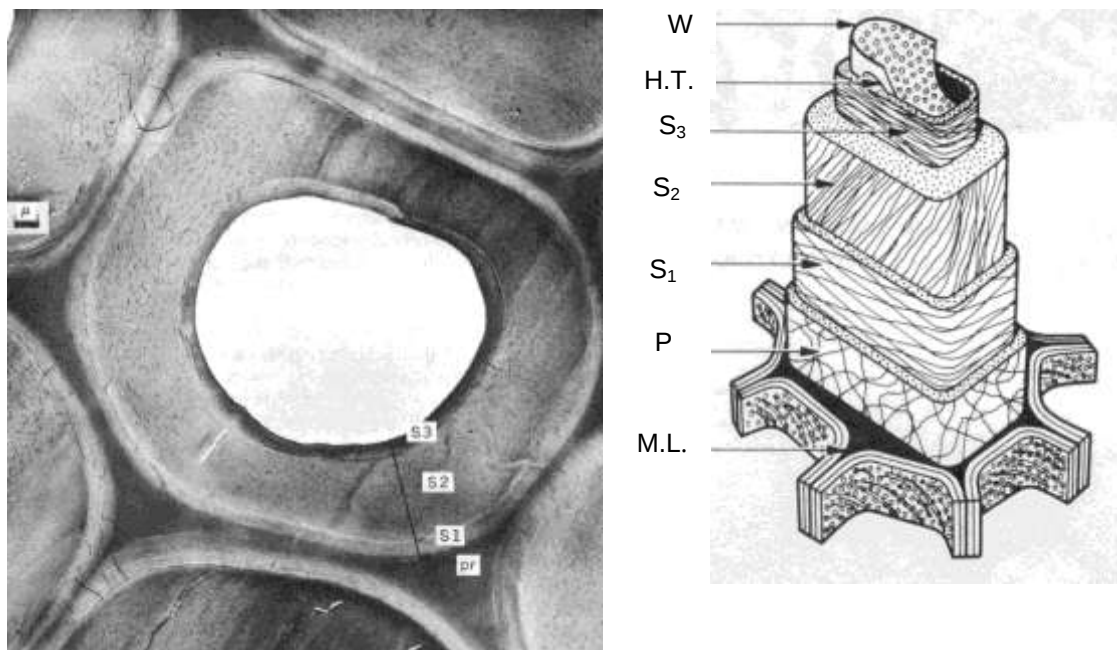
Figuur 2.5.: Model van de ultrastructurele organisatie van een microfibril. A en B dwarse doorsneden: A: een kristalliene streng is omgeven door een amorphe laag van lignine, B: een fibril is opgebouwd uit meerdere microfibrillen. C: overlangse doorsneden (naar Tsoumis 1991).

Tabel 2.1 geeft een overzicht van het percentage lignine in verschillende plantengroepen.

plant / type materiaal	lignine aandeel (%)
naaldhout normaal	25 – 32
naaldhout, drukhout	34 – 41
loofhout uit gematigde zone	18 – 25
loofhout uit de tropen	20 – 32
gras, graan	12 – 19
gras, bamboe	20 – 24

Tabel 2.1. Overzicht ligninepercentage in verschillende plantengroepen (naar DRW-Verlag 1988).

Er blijken maar weinig micro-organismen te zijn die lignine kunnen afbreken. Hemicellulose en cellulose blijken veel eenvoudiger afbreekbaar te zijn voor micro-organismen. De lignine vormt dus eigenlijk een beschermende laag om de meer gevoelige cellulose. De hoeveelheid lignine en het type lignine is houtsoortafhankelijk. Dit zorgt mede voor de hoge duurzaamheid van sommige houtsoorten. Verder is de hoeveelheid lignine niet overal hetzelfde in de celwand. De celwand bestaat in principe uit drie lagen (zie figuur 2.6). Vanuit de celholte gezien komt men eerst de S3 tegen en daarna de S2 en S1. Tussen de S1 van de verschillende cellen zit een gemeenschappelijke middenlamel. De S2 is meestal de dikste laag en bezit relatief weinig lignine. De hoogste concentraties aan lignine zijn te vinden in de hoeken van de middenlamel. Opgemerkt moet verder worden dat meerdere cellulose ketens tot bundels zijn samengevoegd, de zogenaamde microfibrillen. Deze microfibrillen kunnen per celwand laag een andere oriëntatie hebben. Zo is de fibrilaire richting in de S2 regelmatig en loopt spiraalvormig om de cel heel in axiale richting. De fibrilaire richting van de S3 laag staat hier min of meer loodrecht op en in de S1 is geen duidelijke fibrilaire richting aan te wijzen.



Figuur 2.6 Schematisch overzicht van de ultrastructurele opbouw van de houtige celwand. rechts overlangse doorsnede en links een dwarse doorsnede: w: wratachtige laag, H.T.: spiraalvormige wandverdikking, S3: binnenste laag van de secondaire celwand, S2: middelste laag van de secondaire celwand, S1: buitenste laag van de secondaire celwand, P: primaire celwand, M.L. middenlamel (rechts naar Butterfield & Meylan 1980 links naar Panshin & de Zeeuw 1990).

2.2. Houtaantasting door insecten en schimmels

Hout kan mechanisch aangetast worden door insecten, (in vochtige omstandigheden gribbel, *Limnoria tripunctata*, Bultman et al. 1980; (hei)paal kever, *Nacerdes melanudra* en door mosselachtigen (paalworm, *Teredo navalis*, Grosser 1985). De heipaalkever komt alleen op plaatsen met veel zuurstof en veel voedingsstoffen (plaspaaltjes voor honden).

Bij schimmelaantasting is het voorwaarde dat hout relatief nat is en dat er voldoende zuurstof aanwezig is. Bij hout dat op de overgang staat van lucht naar bodem – water zijn schimmels door de aanwezigheid van vocht en zuurstof dus de belangrijkste houtaantasters. Binnen het rijk der schimmels zijn erg veel soorten die in staat zijn om hout af te breken. In Noord Amerika zijn er zo'n 1600 – 1700 soorten geteld waarvan er 94% witrotters zijn.

Schimmels en bacteriën tasten hout niet op een mechanische wijze aan maar door middel van enzymen waarbij het opgeloste celwandmateriaal door de micro-organismen wordt opgenomen. De celwand componenten (lignine, cellulose en hemicellulose) kunnen alleen door specifieke enzymen worden afgebroken. Binnen de houtaantastende schimmels zijn drie belangrijke groepen te onderscheiden: bruinrotters, witrotters en softrotters.

Bruin- en softrotters tasten met name de cellulose en hemicellulose aan en nauwelijks het lignine. Omdat het lignine als het ware als een houtverduurzamingsmiddel functioneert (fysische bescherming tegen enzymatische afbraak) dat het onderliggende (hemi)cellulose beschermt, moet ook bij bruin- en softrot aantasting het lignineskelet worden opengebroken (gemodificeerd) om de cellulose en hemicellulose toegankelijk te maken. Verder worden de bindingen tussen (hemi)cellulose en lignine opengebroken door een voor schimmels karakteristiek enzym (onbekend). Verder breken zowel bruin- als softrot enige lignine af. Van softrot is bekend dat deze dat in sterkere mate doen dan bruinrot (Eriksson 1990). Echte afbraak van lignine kan door een beperkt aantal micro-organismen worden veroorzaakt maar er is tot nu toe geen enkel organisme bekend dat lignine volledig kan afbreken.

Witrotters kunnen zowel het (hemi)cellulose als het lignine afbreken of alleen het lignine en hemicellulose. Een voorbeeld van alleen lignine aantasting is "Palo podrido" hout dat gegeten kan worden en waarvan het lignine in hoge mate is afgebroken.

Er zijn drie eenheidstypen waaruit lignine is opgebouwd (fenol-propaan = benzeenring met een C3 keten en met respectievelijk 0, 1 of 2 ethergroepen): p-Coumaryl, G (Guaiacyl) en S (Syringyl). Naaldhoutsoorten bestaan voor het grootste deel uit G terwijl bij loofhout soorten veel meer variatie te zien is (zie tabel 2.2).

lignine type	p-Cumar (%)	G (%)	S (%)
naaldhoutlignine	14	80	6
loofhoutlignine	4	53	43
graslignine	30	50	20

Tabel 2.2. Overzicht ligninetypen (naar DRW-Verlag 1988).

Bij de afbraak van lignine wordt hemicellulose vaak als energiebron gebruikt (lignine alleen kan niet als voedingsbron dienen). Er zijn twee typen lignine enzymen: Lignine peroxydase LiP en Mn-peroxydase MnP. Deze moleculen zijn vaak te groot om in de celwand te komen en eerst moet de hemicellulose afgebroken worden waardoor er openingen ontstaan waardoor LiP en MnP naar binnen kunnen.

Enzymatische afbraak van lignine kan niet zonder zuurstof. Er is veel zuurstof nodig in verband met oxidatiereacties (Blanchette et al. 1991, Schmidt et al. 1995).

Dat verhoude weefsels niet worden afgebroken onder zuurstofloze omstandigheden (anaërobe aantasting) wordt bevestigd door de enorme voorraden steenkool (fossiel hout) in de wereld (Kirk & Shimada 1985) en door de talloze in veen geconserveerde duizenden jaren oude boomstammen (subfossiel hout) met name eiken maar ook grenen.

3. Inleiding in Microbiologie

Al het biologische leven is ingedeeld in groepen, gebaseerd op duidelijke verschillen in vorm:

- Plantenrijk
- Dierenrijk
- Rijk van de Protista

In het Rijk van de Protista worden alle micro-organismen (voornamelijk eencellige) ondergebracht. Tot deze groep behoren de bacteriën, de gisten, de algen, de schimmels en de Protozoën. Virussen en bacteriofagen vallen buiten de genoemde indeling omdat deze zich niet zelfstandig kunnen voortplanten.

3.1. Typering naar interne structuur

Er zijn drie groepen waarin de micro-organismen kunnen worden ondergebracht (Chapelle, 1993):

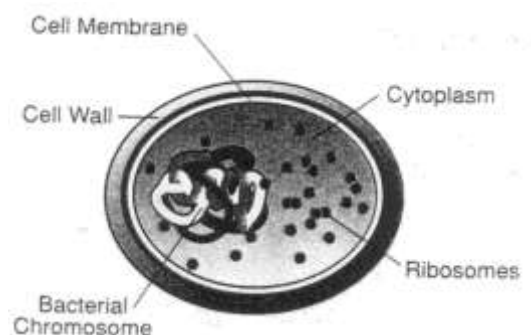
- Prokaryoten
- Eukaryoten
- Archaeobacteriën

3.1.1. Prokaryoten

De Prokaryoten (figuur 3.1) zijn ééncelligen zonder kern (Pro = vroeg of primitief, Karyo = kern). Onder de Prokaryoten vallen bacteriën en cyanobacteriën (blauw-groene algen). Actinomyceten zijn prokaryotische bacteriën die lange filamenten vormen (bij aantasting?) net zoals oppervlakteschimmels.

De Prokaryoten bestaan uit een bacteriële chromosoom, ribosomen, cytoplasma en een celmembraan. Ze hebben geen kern. Het bacteriële chromosoom bestaat uit een molecuul DNA en bevat het erfelijk materiaal.

Het celmembraan is semi-permeabel en heeft een belangrijke functie bij de regulering van het chemische milieu in de cel. Het celmembraan is omgeven door een celwand, waaraan de cel zijn stevigheid ontleent. De celwand van Prokaryoten is vaak bedekt met een coating. Deze glycocalyx kan hard (capsule) of zacht (slijmlaag) zijn en deze vormt een belangrijke functie bij de hechting van de bacterie aan het oppervlak van mineralen en bij de aantasting van hout.

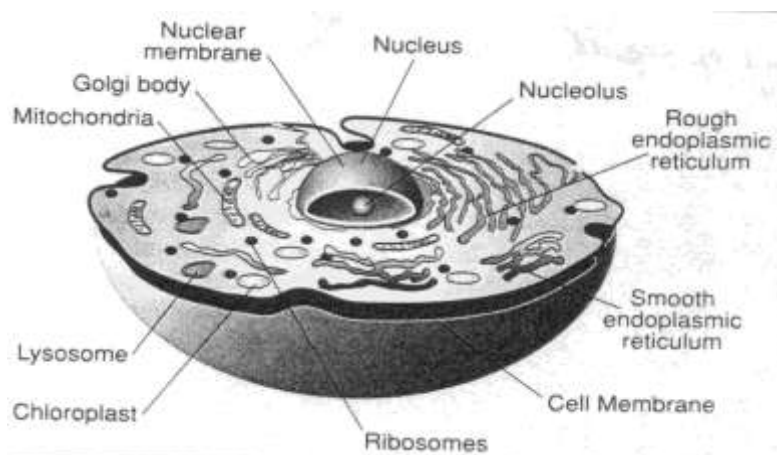


Figuur 3.1 Celstructuur van de Prokaryoten (Chapelle, 1993).

3.1.2. Eukaryoten

De Eukaryoten (Figuur 3.2) hebben een veel complexere structuur dan Prokaryoten en bezitten een kern (Eu = goed, waar, Karyo = kern). De Eukaryoten hebben een celmembraan en velen, maar niet allemaal, hebben een celwand. Verder vind je in de eukaryote cel het endoplasmatisch reticulum, Golgi-lichamen en organellen: o.m. mitochondria, lysosomen en chloroplasten. De organellen vervullen een aantal metabolische

functies. De mitochondria zorgen voor de energieproductie, de chloroplasten voor de fotosynthese en de lysosomen bevatten enzymen voor de vertering. De aanwezigheid van deze organellen is een belangrijk verschil tussen Prokaryoten en Eukaryoten. Bij de Prokaryoten worden de metabolische functies vervuld in het celmembraan. Tot de groep Eukaryoten behoren de algen, schimmels en Protozoën. Algen zijn fotosynthetiserende Eukaryoten. Ze produceren het merendeel van de zuurstof op aarde. Schimmels zijn afbrekers van organisch materiaal en gebruiken hiervoor nutriënten en energie van organische koolstofbronnen (heterotroof). De meeste hebben zuurstof nodig, maar er zijn ook schimmels, zoals de gisten, die zonder zuurstof kunnen. Schimmels kunnen in uiteenlopende milieus functioneren (bv. in hypersaline meren, op jam). De Protozoën zijn ééncellige eukaryoten met een zeer complexe celstructuur (radiolaria, foraminiferen, dinoflagellaten). Ze zijn een predator voor bacteriën en vervullen daarmee een belangrijke functie als regulator voor bacteriepopulaties. Tevens is het aantal Protozoën per volume-eenheid een indirecte maat voor de mate van bacteriële groei. In tijden van voedselschaarste of andere vormen van stress kunnen Protozoën overleven door het produceren van cysten.



Figuur 3.2. Celstructuur van de Eukaryoten (Chapelle, 1993).

3.1.3. Archaeobacteriën

De Archaeobacteriën verschillen in moleculair opzicht (o.a. in de opbouw van de lipiden) van de prokaryoten. Deze groep bestaat uit drie soorten: methanogene bacteriën (methaanproducerend), extreem halofielen (zoutlievend) en thermo-acidofielen (extreme temperatuur en pH). De Methanogenen zijn het meest algemeen en komen voor onder zuurstofloze omstandigheden. De Archaeobacteriën bestaan uit drie groepen: Crenarchaeota, Euryarchaeota en de Korarchaeota. Van de Korarchaeota zijn slechts de nucleïne zuren waargenomen. Er zijn geen micro-organismen van deze groep geïsoleerd of gecultiveerd. De Crenarchaeota bestaan hoofdzakelijk uit de hyperthermofiele Zwavelafhankelijke micro-organismen, de Euryarchaeota bestaan uit de methanogenen en extreem halofielen. Er wordt aangenomen dat de Archaeobacteriën al in een heel vroeg op aarde voorkwamen (archae = oud). Tegenwoordig komen ze alleen onder extreme en strikt zuurstofloze omstandigheden voor, zoals in zuurstofloze oppervlaktewatersedimenten, rioolwaterzuiveringen en de darm. De methanogenen komen veelal voor in de diepe ondergrond van de aarde.

3.1.4. Virussen en bacteriofagen

Virussen zijn "genomen", d.w.z. genetische informatie is opgeslagen in DNA of RNA, ingepakt in een buitenlaag van proteïnes. Virussen hebben geen metabolisme en kunnen zich niet onafhankelijk reproduceren. Ze hebben hiervoor een gastheer nodig, bijvoorbeeld een bacterie. Bacteriofagen zijn bacteriespecifieke virussen.

Aan virussen wordt in dit literatuuronderzoek verder geen aandacht besteed.

3.2. Indeling van bacteriën

Zoals uit het bovenstaande blijkt kunnen bacteriën behoren tot de groep van Prokaryoten of de groep van Archaeobacteriën. Maar er zijn meerdere criteria op basis waarvan bacteriën kunnen worden ingedeeld, onder andere:

- Microscopische karakteristieken, vorm (bol- of staafvorming, aanwezigheid en plaats van sporen, bezit van flagellen (zweefhaar)), samenstelling van de celwand, bepaald door de reactie op de Gramkleuring (zie paragraaf 2.3).
- Groeikarakteristieken; vorm van de kolonies, pigmentatie, verschijningsvorm in natte cultures.
- Voedingskarakteristieken, bijvoorbeeld koolstofbron, energiebron of metabolisme.
- Fysiologische karakteristieken; tolerantie ten opzichte van zuurstof, temperatuur, zuurgraad e.d.

3.2.1. Indeling naar gramkleuring

De indeling in grampositieve en gramnegatieve bacteriën berust op het verschil in samenstelling van de celwand. De belangrijkste component van de bacteriële celwand is het peptidoglycaan (mureïne). De celwand van gram-positieve bacteriën bevat veel grotere hoeveelheden peptidoglycaan dan de celwand van gramnegatieve bacteriën. Bij de gramkleuring kleuren de grampositieve bacteriën als gevolg van de grotere hoeveelheid peptidoglycaan donkerpaars en de gramnegatieve bacteriën roze.

Gramnegatieve bacteriën komen veel meer voor in grondwatersystemen dan de grampositieve bacteriën. Een veel in de ondergrond voorkomende gramnegatieve bacterie is *Pseudomonas*. De bacteriën van dit geslacht zijn buitengewoon divers in het aantal organische substraten waarop ze kunnen groeien. Sommige *Pseudomonas*-soorten zijn in staat om zonder zuurstof te groeien. Daarbij maken ze gebruik van alternatieve elektronacceptoren voor hun energievoorziening. De flexibiliteit van deze micro-organismen maakt ze tot een veel voorkomende bacterie in de ondergrond. Een voorbeeld van anaerobe gramnegatieve bacteriën die veel in de grondwaterhabitat voorkomen, zijn sulfaatreducerende bacteriën. Deze gebruiken waterstof of organische verbindingen voor hun energie en sulfaat als elektronacceptor.

3.2.2. Indeling naar leefmilieu

Op basis van leefmilieus waarin micro-organismen kunnen leven en groeien, kunnen vele typen worden onderscheiden. Deze typering (Umbreit, 1991; Chapelle, 1993) illustreert de mate van tolerantie die micro-organismen tentoonspreiden ten aanzien van omgevingsfactoren en de beschikbaarheid van voedings- en energiebronnen.

Zuurstof:

- Aerotolerant: een anaëroob micro-organisme dat niet in z'n groei wordt belemmerd door zuurstof en dus nog kan groeien in aanwezigheid van zuurstof.
- Obligaat aëroob: micro-organismen die strikt gebonden zijn aan zuurstof voor hun groei.
- Obligaat anaëroob: micro-organismen die alleen kunnen groeien bij afwezigheid van zuurstof.
- Facultatief aëroob: micro-organismen die zowel een aëroob als anaëroob metabolisme hebben.
- Facultatief anaëroob: micro-organismen die in principe aëroob zijn, maar ook kunnen groeien bij afwezigheid van zuurstof.

Hydrostatische druk:

- Barotolerant: micro-organismen die in staat zijn om een hoge hydrostatische druk te tolereren.

Zout:

- Halotolerant: micro-organismen in staat om te groeien in de aanwezigheid van NaCl, maar dit niet strikt nodig hebben voor hun groei.

Koolstofbron:

- Autotroof: een micro-organisme dat koolstofdioxide gebruikt als enige koolstofbron.
- Heterotroof: micro-organismen die gebruik maken van organische moleculen als principiële koolstof- en energiebron

Energiebron:

- Chemolithotroof: een micro-organisme dat zijn energie ontleent aan oxidatie van anorganische verbindingen.
- Chemoorganotroof: een micro-organisme dat zijn energie ontleent aan de oxidatie van organische verbindingen.
- Organotroof: micro-organismen die organische substraten gebruiken als elektron donor.
- Lithotroof: micro-organismen die anorganische substraten (bv. ammonia, waterstof) gebruiken als elektron donor voor hun energiemetabolisme.
- Photolithotroof: lithotrofe micro-organismen die in staat zijn energie te ontfangen van licht.
- Mixotroof: micro-organismen die in staat zijn om organische verbindingen te gebruiken als koolstofbron en/of daarbij ook anorganische verbindingen gebruiken als elektron donor.

Temperatuur:

- Psychrofiel: micro-organismen die in staat zijn te groeien bij lage temperaturen met een optimum dat lager ligt dan 10 °C.
- Mesofiel: micro-organismen met een optimale groeitemperatuur tussen de 10 en 40 °C
- Thermofiel: micro-organismen die effectieve groei doormaken boven een minimumtemperatuur van 45 °C
- Psychrotolerant: micro-organismen die in staat zijn te groeien bij lage temperaturen, maar een groeitemperatuur optimum hebben dat ligt boven de 20°C.

Zuurgraad:

- Acidofiel: micro-organismen die hun groeioptimum bij een zeer lage pH (1-5) hebben.
- Alkalifiel: micro-organismen die hun groeioptimum bij een zeer hoge pH (10-11) hebben.

Water (Kuznetsov et al., 1963):

- Xerofiel: micro-organismen die groeien vanaf een vochtgehalte van de (bodem)lucht van 85-90%
- Mesofiel: micro-organismen waarvan de groei begint vanaf een vochtgehalte van de (bodem)lucht van 90-95%
- Hygrofiel: micro-organismen waarvan de groei begint vanaf een vochtgehalte van de (bodem)lucht van meer dan 95%

3.3. Omgevingsfactoren en fysische karakteristieken

3.3.1. Temperatuur

Het leven van micro-organismen is, zoals in alle levende systemen, afhankelijk van een serie door enzymen gekatalyzeerde chemische reacties. De snelheid van de chemische reacties en daarmee van de groei van de micro-organismen is afhankelijk van de temperatuur (Chapelle, 1993). Onder natuurlijke omstandigheden wordt de temperatuur in de bovenste 10

meter (in de tropen) tot 20 meter (polaire gebieden) van de ondergrond beïnvloed door de seizoensfluctuaties in temperatuur. Beneden deze diepte is de temperatuur nagenoeg constant en komt ruwweg overeen met de gemiddelde jaartemperatuur ter plaatse. Beneden de 20 meter neemt de temperatuur met elke 100 meter toe met 3 °C (Ghiorse and Wilson, 1993).

De tolerantie die bacteriën tentoonspreiden ten aanzien van de temperatuur is hoog. Zo zijn er bacteriën gevonden in de hete geisers langs de mid-oceanische ruggen. Deze bacteriën konden 113 °C tolereren. Volgens M. Fisk kan de conclusie worden getrokken dat bacteriën overal voorkomen waar de temperatuur lager is dan 100 °C (The Intraterrestrials, New Scientist, 1998).

Het tolerantiegebied voor de temperatuur is karakteristiek voor een bepaald geslacht micro-organismen. Het tolerantiegebied voor de temperatuur is opgebouwd uit de volgende karakteristieken: de minimumtemperatuur is de temperatuur waar beneden geen groei mogelijk is. Wanneer de temperatuur stijgt neemt de groeisnelheid toe tot een bepaalde optimale temperatuur. Bij deze temperatuur wordt de grootste groeisnelheid bereikt. Bij hogere temperaturen neemt de groeisnelheid af tot aan de maximum temperatuur. De maximum temperatuur is de temperatuur waar beneden de micro-organismen nog effectieve groei doormaken. Deze drie temperaturen zijn karakteristiek voor het geslacht van micro-organismen. De minimale, optimale en maximale temperatuur zijn echter niet absoluut. Deze zijn ook afhankelijk van de zuurgraad, het zoutgehalte en andere omgevingsfactoren. Bevriezing heeft in het algemeen het effect dat de microbiële groei stopt, maar leidt vaak tot de dood (Chapelle, 1993).

3.3.2. Water

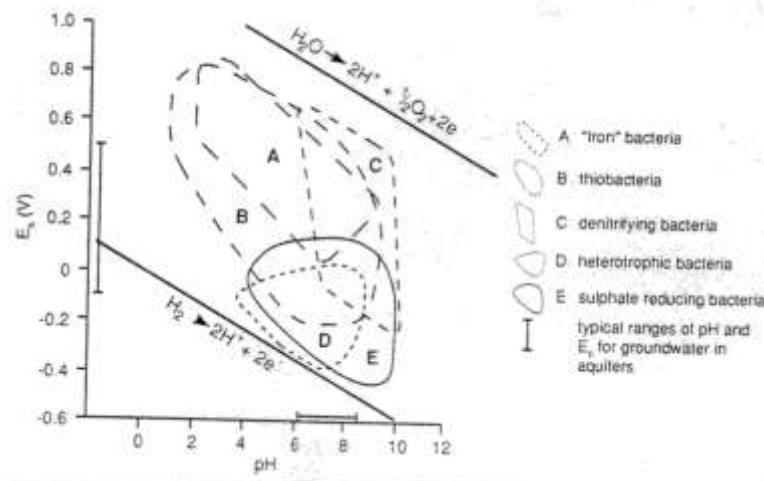
Alle micro-organismen hebben water nodig voor hun levensprocessen en voor de meeste in vloeibare vorm. Veel micro-organismen hebben aanpassingen om een tijdelijk lage beschikbaarheid van water te kunnen weerstaan. De beschikbaarheid van water in grondwatersystemen is onder andere afhankelijk van de samenstelling van het sediment. In kleilagen is de beschikbaarheid van water lager dan in zandlagen, vanwege de affiniteit van water voor het oppervlak van kleilagen. In kleilagen is dan ook in het algemeen een lagere microbiële activiteit dan in zandlagen (Chapelle, 1993).

Water is voor het micro-organisme in verschillende vormen beschikbaar al dan niet gebonden aan de bodemdeeltjes (Kuznetsov, 1963).

- in de vorm van waterdamp.
- als hygroscopisch water (onverzadigde zone): waterdamp die aan bodemdeeltjes is geadsorbeerd. De maximale hygroscopie bepaalt de mate waarin waterdamp moleculen aan het bodemdeeltje kunnen worden gebonden.
- als pellicular water (onverzadigde zone): watermoleculen die aan bodemdeeltjes zijn geadsorbeerd. De mate waarin dit kan plaatsvinden is afhankelijk van de max. moleculaire vochtcapaciteit van het bodemdeeltje. Deze is voor klei veel groter dan voor zand.
- als gravitatie water (verzadigde zone): watermoleculen die gedeeltelijk aan de bodemdeeltjes zijn gebonden, maar zich ook vrij kunnen bewegen onder invloed van de zwaartekracht. Co- en adhesiekrachten zorgen ervoor dat dit water capillair kan opstijgen (verzadigde zone).

3.3.3. Zuurgraad

Bacteriën kunnen voorkomen in een hoog bereik van de pH. Dit wordt geïllustreerd door figuur 3.3 (Becking, 1960). Hierin zijn de tolerantiegebieden voor vijf typen bacteriën ten aanzien van de zuurgraad en de oxidatie-reductie potentiaal (E_h) weergegeven.



Figuur 3.3. Grenzen voor Eh (redoxpotentiaal) en pH (zuurgraad) voor het voorkomen van bepaalde typen bacteriën (Becking et al., 1960).

In onbeïnvloede watersystemen komen extremen in de pH van het grondwater niet vaak voor. In het algemeen ligt de pH binnen een bereik van 4.0 tot 9.0. Deze pH wordt in stand gehouden door de bufferende werking van carbonaten en silicaten in de ondergrond (Chapelle, 1993). Op basis hiervan lijkt de invloed van de pH op de activiteit en groei van micro-organismen niet aanwezig in watervoerende lagen. Echter waar deze bufferende bestanddelen ontbreken, zoals in sommige kleisoorten en er is ook een hoog metaalgehalte, kan de pH wel van invloed zijn (McNapp en Dunlap, 1975). Tevens kan de pH van micromilieus, in de directe omgeving van mineralen waarop micro-organismen kunnen zijn vastgehecht, zeer afwijken van de pH van het grondwater (Filip and Hattori, 1984). In deze micromilieus zouden extremen in pH dus wel degelijk invloed kunnen hebben op de activiteit van micro-organismen (Ghiorse en Wilson, 1988).

Ook kunnen als gevolg van verontreinigingen met toxische afvalproducten extremen in de pH ontstaan. In watervoerende pakketten (aquifers) die zijn verontreinigd met lekwater dat afkomstig is van afvalstorten kunnen pH's van 3.0 voorkomen (Baedecker en Back, 1979). In dergelijke gevallen kan de pH dus stress veroorzaken voor autochtone bacteriën (Chapelle, 1993).

Daarbij komt ook dat extremen in de pH de tolerantie van micro-organismen voor andere omgevingsfactoren zoals de temperatuur en zware metalen kunnen beïnvloeden (Ghiorse en Wilson, 1988).

3.3.4. Osmotische druk

Het zoutgehalte van het grondwater varieert van plaats tot plaats aanzienlijk afhankelijk van de geologische opbouw. Tevens neemt het zoutgehalte toe met een toenemende diepte en ouderdom van het grondwater. Ouder water in de diepere aquifers kan dus een hoog zoutgehalte hebben en eventueel hoge toxische metaalconcentraties, die een beperking opleggen aan de typen micro-organismen die kunnen voorkomen (Ghiorse en Wilson, 1988). De celwand speelt bij de tolerantie van micro-organismen ten opzichte van het zoutgehalte in de omgeving een belangrijke rol. De celwand van micro-organismen die leven in een extreem zoute omgeving (halofielen) heeft een andere structuur dan die van micro-organismen die onder zoete omstandigheden leven. Een plotselinge verandering in osmotische druk, bv. bij het opwellen van zout water als gevolg van een onttrekking, zal de dood betekenen van de autochtone micro-organismen (Chapelle, 1993).

3.3.5. Hydrostatische druk

Evenals bij de temperatuur neemt de hydrostatische druk toe met de diepte. Op enkele uitzonderingen na kan de hydrostatische druk van de ondergrond worden benaderd door de hydrostatische druk die wordt veroorzaakt door een kolom water die verplaatst wordt van het oppervlak tot aan de diepte waarop gemeten wordt (McNabb and Dunlap, 1975). Op basis hiervan kan een toename van 1 atmosfeer per 10 meter worden aangenomen. Aangezien micro-organismen honderden atmosferen kunnen tolereren voordat hun activiteit en groei stopt, wordt er aangenomen dat de hydrostatische druk geen noemenswaardige invloed heeft op de activiteit van de micro-organismen in de ondergrond (Ghiorse en Wilson, 1988).

3.4. Diversiteit versus niches en interactie

Het voorkomen en de diversiteit van de micro-organismen in de ondergrond wordt bepaald door het aantal en de mate van overlap van de in te nemen niches en de interactie tussen de verschillende populaties micro-organismen. Een “niche” is een ecologische term en wordt gedefinieerd als de fysieke ruimte en de omgevingsfactoren in de directe nabijheid hiervan, waarin het (micro)organisme leeft en zich reproduceert. Daarbij wordt onderscheid gemaakt tussen de fundamentele niche en de reële niche. De fundamentele niche wordt bepaald door het genotype van het (micro)organisme; alle omstandigheden waaronder het (micro)organisme kan overleven. De reële niche is de actuele niche die wordt bezet door het (micro)organisme. Deze wordt begrensd door competitie met andere (micro)organismen. Is er aanzienlijke overlap tussen verschillende niches en is er tevens sprake van sterke competitie tussen de verschillende (micro)organismen die deze in kunnen nemen, dan zullen uiteindelijk een beperkt aantal soorten (micro)organismen dominant zijn (lage diversiteit). Bij een zwakke competitie zullen veel meer soorten micro-organismen de niches opvullen, waardoor dus een hogere diversiteit wordt bereikt (Chapelle, 1993). Tevens lijkt stress een bepalende factor te zijn voor de diversiteit van micro-organismen. Daarbij zou stress een lagere diversiteit tot gevolg hebben. Echter is hiernaar nog geen systematisch onderzoek verricht (Chapelle, 1993).

Interacties tussen populatie van micro-organismen hebben invloed op de overlevingskansen van micro-organismen. Bij een positieve interactie wordt de overlevingskans van een micro-organisme binnen de gemeenschap vergroot. Een negatieve interactie beperkt de overlevingskans. In tabel 3.1 (Atlas, 1984) staan de typen interacties die kunnen voorkomen tussen twee populaties micro-organismen en het effect hiervan op de beide populaties.

Tabel 3.1 Typen interactie tussen twee populaties A en B en het effect op elk van beide populaties. 0 = geen effect, + = positief effect, - = negatief effect (Atlas, 1984).

Type interactie	Effect op populatie A	Effect op populatie B
Neutralisme	0	0
Commensalisme	0	+
Synergisme	+	+
Symbiose (mutualisme)	+	+
Competitie	-	-
Antagonisme	- of +	-
Predatie	+	-
Parasitisme	+	-

- Neutralisme:** Er is geen interactie. Dit komt veel voor in ondergrondse milieus met lage populatiedichtheden en met veel in te nemen niches.
- Commensalisme:** Een van de populaties profiteert van de interactie en de andere populatie ondervindt geen effect. Een voorbeeld is de consumptie van zuurstof door aerobe en facultatief anaerobe micro-organismen. Deze creëren de juiste omstandigheden (zuurstofloosheid) voor anaerobe bacteriën.
- Synergisme:** Beide populaties profiteren van de aanwezigheid van de andere populatie en zijn tevens in staat zonder de aanwezigheid van de andere populatie in leven te blijven. Een voorbeeld zijn de gisten en respiratieve bacteriën in anaerobe grondwatersystemen. De gisten zijn in staat om complexe organische verbindingen, waterstofcarbonaat en ligninen af te breken. De respiratieve bacteriën, die niet in staat zijn deze stoffen af te breken, gebruiken de afvalstoffen van het gistingproces, waterstof en acetaat, als energiebron. Deze verwijderen daarmee ook de afvalstoffen voor de gisten, die bij ophoping de groei zouden belemmeren.
- Symbiose:** Beide populaties profiteren van de aanwezigheid van de andere populatie en zijn tevens niet in staat zonder de aanwezigheid van de andere populatie in leven te blijven.
- Competitie:** Concurrerende interactie die leidt tot scheiding van populaties. Methanogene en sulfaatreducerende bacteriën zijn beide aangewezen op de afvalprodukten van de gisten, acetaat en waterstof. In de competitie voor dit substraat blijken de sulfaatbacteriën uiteindelijk de dominante populatie en dringen de methanogene bacteriën uit hun omgeving. Dit wordt competitieve uitsluiting genoemd en leidt in ondergrondse milieus tot een zonering in optredende hydrogeochemische processen.
- Antagonisme:** Één van de populaties produceert een substantie die de andere populatie bestrijdt. De productie van antibiotica door bepaalde geslachten bacteriën en schimmels is hier een voorbeeld van. Er is geen onderzoek gedaan naar de aan- of afwezigheid van deze vorm van interactie in ondergrondse milieus. Gezien de lage populatiedichtheden in de ondergrond wordt het competitief voordeel als gevolg van het produceren van antibiotica betwijfeld.
- Parasitisme:** Één van de populaties verlaat zich voor zijn voedselvoorziening op een gastheer of andere populatie. Virussen en het bacteriëngeslacht *Bdellovibrio* zijn obligate parasieten en kunnen op bacteriën parasiteren. Er is nog niet bekend in hoeverre deze vorm van interactie in de ondergrond voorkomt.
- Predatie:** Een populatie consumeert een andere populatie. Het is bekend dat Protozoën op bacteriën grazen. De aanwezigheid van Protozoën in aerobe grondwatersystemen is door Ghiorse en Sinclair (1989) en Sinclair et al. (1990) aangetoond.

3.5 Conclusies

De heipalen staan onder de grondwaterspiegel tot op een diepte van maximaal 23 meter en doorsnijden zand, klei- en/of veenlagen. Grondwater is dus alom aanwezig, maar is in klei- en veenlagen in mindere mate beschikbaar dan in zandlagen. Deze variërende beschikbaarheid van grondwater resulteert eveneens in een differentiatie in bacteriële groei en activiteit in de ondergrond.

Zuurstof vormt een beperkende factor voor de groei en activiteit van aerobe bacteriën. De ondiepe ondergrond wordt dus bezet door (facultatief) anaerobe bacteriën. Doordat er voldoende organische stof in de ondiepe ondergrond aanwezig is (veen) of met het grondwater wordt aangevoerd zullen de bacteriën heterotroof zijn.

De pH zal over het algemeen liggen tussen 4.0 en 9.0, waarbij in West-Nederland de pH in de veenlagen lager zal zijn dan in de zandlagen, die vaak door de zee zijn afgezet en kalk bevatten.

De osmotische druk zal variëren afhankelijk van het verloop van het zoet/brak- en het brak/zout-grensvlak (bij resp. concentraties van 500 mg/l en van 1000 mg/l) in de ondergrond. In de laaggelegen gebieden in West-Nederland kunnen deze grensvlakken plaatselijk binnen het bereik van de heipalen liggen. Dit heeft invloed op het voorkomen van bepaalde populaties bacteriën.

De hydrostatische druk neemt met elke 10 meter diepte met 1 atmosfeer toe en zal in het milieu rondom de heipalen de bacteriële groei en activiteit niet of nauwelijks beïnvloeden.

4. Voorkomen en activiteit van bacteriën in de grondwaterhabitat

De grondwaterhabitat heeft een aantal kenmerken, die deze alleen geschikt maakt voor micro-organismen en die het voorkomen en de activiteit van micro-organismen bepalen. Ten eerste sluit de beschikbare ruimte grotere organismen dan micro-organismen vaak al uit. Ten tweede biedt het sediment een groot oppervlak waaraan microbiële cellen zich kunnen hechten en waaraan chemische reacties plaatsvinden en kationen worden uitgewisseld, die de concentraties van opgeloste stoffen in het grondwater beïnvloeden (Ghiorse en Wilson, 1988; Van Loosdrecht et al., 1990). Vervolgens is er sprake van een hydrogeologische en een chemische gelaagdheid. Ten vierde dringt er geen zonlicht door en is er dus geen sprake van een primaire productie van organische koolstof door fotosynthese. Hierdoor is het leven in de grondwaterhabitat afhankelijk van de anorganische (o.a. koolstofdioxide) of organische koolstof (plantenmateriaal, omzettings- en afbraakproducten e.d.) die reeds aanwezig is in de ondergrond en/of van de aanvoer van opgeloste koolstof met het grondwater. Ten vijfde is er sprake van een grote variatie aan voor micro-organismen beschikbare nutriënten (=voedingsstoffen) (Madson en Ghiorse, 1993).

4.1 Ruimte en morfologie

De grootte van de interstitiële ruimte tussen de korrels van sedimenten en poreuze gesteenten in de ondergrond vertoont een grote variatie. Deze ruimte kan beschouwd worden als een kritische factor voor de typen en grootte van de micro-organismen die er kunnen voorkomen. De interstitiële ruimte varieert van minieme poriën tot breuken, scheuren en oplossingsholten. Volgens McNabb en Dunlap (1975) zijn er, met uitzondering van massieve kristallijne gesteenten en klei- en gesteentelagen met een lage permeabiliteit, in de ongeconsolideerde en poreuze lagen, interstitiële ruimten van voldoende grootte beschikbaar om micro-organismen te kunnen herbergen. Volgens een ruwe schatting zijn voor het herbergen van bacteriën (< 1.0 micrometer) interstitiële ruimten tussen 0.1 en 1.0 micrometer voldoende en voor eukaryote organismen ($1-10$ micrometer) tussen de 1 en 10 micrometer (Ghiorse en Wilson, 1988). Tevens zijn er kleinere vormen van bacteriën waargenomen. Deze zogenaamde nanobacteriën variëren in grootte van 0.02 tot 0.2 micrometer en kunnen dus in nog kleinere poriën voorkomen (Robert, 1992).

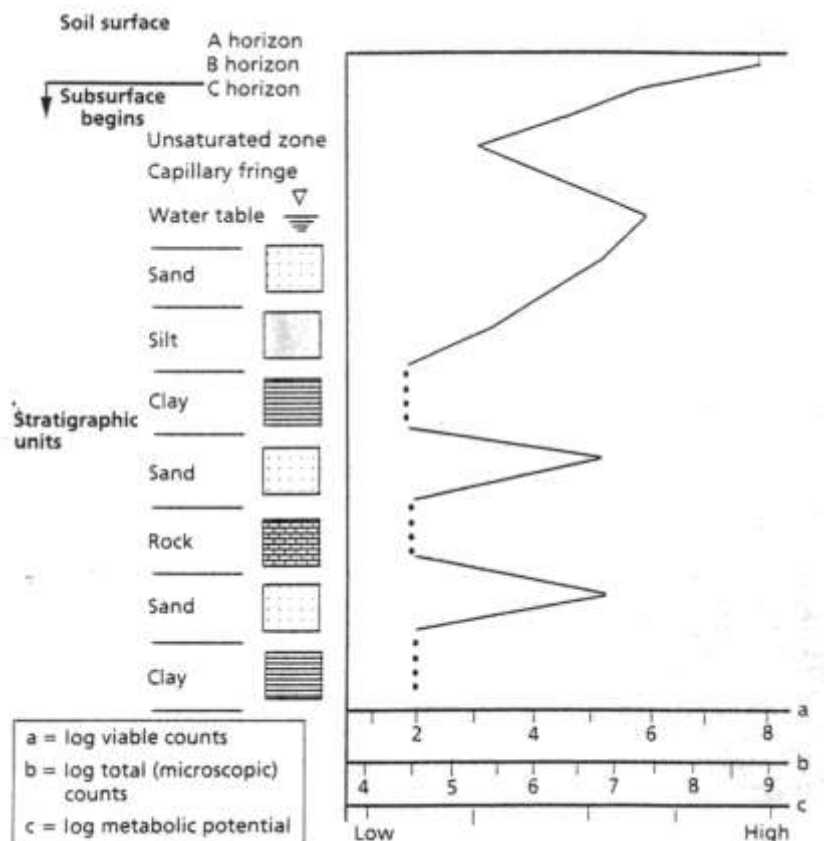
De vorm (morfologie) en grootte van veel micro-organismen is variabel gedurende de levenscyclus en onder andere afhankelijk van de nutriëntenconcentraties. Bij een tekort aan voedingsstoffen zijn de (niet groeiende) bacteriën kleiner dan dezelfde bacteriën onder voedselrijke omstandigheden (Madson en Ghiorse, 1988).

Tevens kan een bacteriële cel ongunstige omstandigheden overleven in een slapende fase (sporen, cysten e.d.) (Henis 1987). Uit het bovenstaande volgt dat bacteriën met een kleinere vorm of in de slapende fase gemakkelijker met het grondwater meegevoerd kunnen worden, om vervolgens onder gunstiger omstandigheden weer een groeifase door te maken. De morfologie van het micro-organisme is dus van belang voor de verdeling in de ondergrond.

Op basis van het bovenstaande en porositeitsmetingen en permeabiliteitsmetingen mag verwacht worden dat in vele sedimenten en zelfs in behoorlijk dichte poreuze gesteenten bacteriën aanwezig zijn (McNabb en Dunlap, 1975).

4.2. Hydrogeologische gelaagdheid

In figuur 4.1 is een gegeneraliseerd model weergegeven met het verband tussen hydrogeologische gelaagdheid in de ondergrond en het voorkomen (log viable counts) en de metabolische (log metabolic potential) activiteit van ééncellige bacteriën. Hieruit blijkt dat de aard van een geologische eenheid, het mineraal type, korrelgrootte verdeling, textuur, doorlaatvermogen e.d. het voorkomen en de verdeling van bacteriën in de ondergrond kunnen bepalen.



Figuur 4.1. Gegeneraliseerd model met het verband tussen de hydrogeologische gelaagdheid en de metabolische activiteit. (Madson & Ghiorse, 1988).

Afdalend van horizon A en B naar horizon C, gaat een afname van nutriënten gepaard met een aanzienlijke afname van de aanwezigheid van bacteriën. Het aantal bacteriën neemt toe bij de grondwaterspiegel en net hierboven in de capillaire zone. Deze zone vormt de grens tussen de met water onverzadigde en de verzadigde zone, waarin een relatief intensieve menging van zuurstof en recent geïnfiltreerde nutriënten optreedt.

Dieper in de ondergrond, in de met grondwater verzadigde zone is de aanwezigheid en activiteit van bacteriën relatief hoger dan in de onverzadigde zone. Hierbij lijkt in de sterk doorlatende zones – deze bevatten in het algemeen relatief recent geïnfiltreerd water- 2 tot 4 keer meer bacteriële activiteit en bacteriën aanwezig te zijn dan in meer weerstandbiedende zones – met relatief ouder water. Volgens Madson en Ghiorse (1993) mag hieruit de conclusie worden getrokken dat de diepte alleen niet de aanwezigheid en activiteit van bacteriën in de verzadigde zone bepaalt, maar dat de hydrologische, fysische en geochemische eigenschappen gezamenlijk het voorkomen en de activiteit bepalen.

4.3. Contact met het oppervlak

Chapelle (1993) onderscheidt 4 zones die gebaseerd zijn op de hydrologische systeembenadering, de onverzadigde zone, het lokale systeem, het intermediaire systeem en het regionale systeem. Per zone beschrijft hij het effect van het variërende contact met het oppervlak (fotosynthese, zuurstofproductie) op het voorkomen van typen bacteriële processen (zie tabel 4.1).

Tabel 4.1. Classificatie en hydrologische eigenschappen van ondergrondse milieus (Chapelle, 1993).

Zone	Contact met het oppervlak	Stroomsnelheid	Zuurstof	Potentie voor microbiel transport vanaf het oppervlak
Onverzadigd	extensief	snel, 15-150 cm/d.	aëroob	hoog
Lokaal syst. verzadigd	extensief	snel, 15-150 cm/d	overwegend aëroob	hoog
Interm. syst. verzadigd (< 300 m)	weinig	langzaam, 0.1-1.0 m/jr	in het algemeen anaëroob	matig
Region. syst. verzadigd (> 300 m)	niet/nauwelijks	bijna stagnant	anaëroob	niet/nauwelijks

De onverzadigde zone (eerste meters tot aan de vol capillaire zone) wordt gekenmerkt door een vrije gasuitwisseling met de atmosfeer. Het zuurstofgehalte is dus relatief hoog en heeft tot gevolg dat aerobe processen de overhand hebben.

De lokale, intermediaire en regionale zone maken deel uit van de verzadigde zone. Dus de zone waarbij de poriën in de ondergrond geheel gevuld zijn met grondwater.

De lokaal verzadigde zone wordt gekenmerkt door een hydrologisch systeem waarbij het infiltratiegebied en het kwelgebied aan elkaar grenzen. De dynamiek van dit systeem heeft belangrijke consequenties voor de microbiële processen die erin optreden. De zone is relatief toegankelijk voor aanvoer van stoffen vanaf het oppervlak: opgeloste organische koolstof (DOC), opgeloste zuurstof, opgeloste stikstof (nitraat, ammonium) en verontreinigingen (bv. koolstof in rioolwater, stikstof in meststoffen). De processen zijn overwegend aëroob, waarbij er ook zones aanwezig zijn waar anaerobe processen optreden.

De intermediair verzadigde zone is gekoppeld aan het hydrologisch systeem waarbij het infiltratiegebied en het kwelgebied niet aan elkaar grenzen, maar gescheiden worden door een of meerdere lokale systemen. Er is sprake van lage stroomsnelheden van het grondwater. Dit zorgt ervoor dat de levering van opgeloste koolstof vanuit de bodem praktisch verwaarloosbaar klein is. De micro-organismen in deze zone zijn dus afhankelijk van het organisch materiaal dat aanwezig is in het sediment (oligotroof milieu). Daarbij is dit materiaal sterk versnipperd aanwezig en dit beperkt het groeipotentieel van de micro-organismen. Tevens bevat de zone weinig organische stikstof. De bacteriële processen die in deze zone een hoofdrol spelen zijn anaerobe processen. Nadat de weinige opgeloste zuurstof is opgebruikt, maken de micro-organismen voor hun energievoorziening gebruik van alternatieve elektronenacceptoren, zoals nitraat, sulfaat, Fe[III] (zie hoofdstuk 5).

De regionaal verzadigde zone is gekoppeld aan het grootste hydrologisch systeem. Het infiltratiegebied ligt bij de waterscheiding en het uittredende grondwater komt van zeer grote diepte, de hydrologische basis. De verblijftijden van het grondwater zijn zeer lang afhankelijk van het doorstroomde materiaal en het grondwater is vaak rijk aan mineralen. De bacteriële processen zijn anaëroob. Hierbij wordt voor de energievoorziening naast sulfaat en Fe[III] ook koolstofdioxide gebruikt.

4.4. Herkomst en transport

Er kunnen drie bronnen worden onderscheiden van waaruit micro-organismen in de ondergrond zijn gekomen:

- bij afzetting van het sediment
- via het transport van grondwater
- kunstmatig; door menselijk handelen.

Het is mogelijk dat micro-organismen de sedimenten hebben gekoloniseerd toen deze nog aan het oppervlak lagen. In de loop der tijd zijn andere sedimenten hier bovenop afgezet en werden de micro-organismen geleidelijk onttrokken aan de invloeden van het aardoppervlak. In de tienduizenden jaren die hierop volgden zouden de micro-organismen zich aan hun unieke omgeving hebben kunnen aanpassen (Madsen en Ghiorse, 1993).

Tevens is het mogelijk dat de micro-organismen via verticaal en horizontaal grondwatertransport de diepere ondergrond hebben bereikt. De micro-organismen komen tijdens het transport in verschillende milieus terecht en via natuurlijke selectie op specifieke eigenschappen kunnen verschillende gemeenschappen zich ontwikkelen.

Vervolgens kunnen bij boringen, bouwactiviteiten en via injectie van oppervlaktewater micro-organismen van het oppervlak in de ondiepe en diepere ondergrond worden gebracht.

Het transport van bacteriën kan beschouwd worden als een proces dat wordt bepaald door sorptie en desorptie-reacties (Harvey en Garabedian, 1991; Gerba et al., 1991; Tan et al., 1994; Lindqvist et al., 1994). De sorptie van bacteriën aan geologische media worden bepaald door:

- Fysische factoren: de aard van het substraat, zoals bodemtype, ruwheid, korrelgrootte, poriëngrootte, klei- en organisch materiaalgehalte, ijzerhuidjes en mineralogie (Scholl et al., 1994; Sharma en McInerney, 1994)
- Chemische factoren: de chemische samenstelling van de oplossing, de pH, ionsterkte, de aanwezigheid van oppervlakte actieve stoffen (Gannon et al. 1991b; Fontes et al., 1991; Mills et al., 1994; Gross en Logan, 1995)
- Microbiologische factoren: vitaliteit van de cel, nutriëntenstatus, elektrostatische lading op het cel oppervlak, hydrofobe of hydrofiele karakter, celgrootte, predatie, parasitisme, beweeglijkheid en voortbeweging en celcyclus (Peterson en Ward, 1989; Gannon et al., 1991a; Camper et al., 1993; Weiss et al., 1995).
- Hydrodynamica: de natuur van het hydrodynamisch systeem en de verschillende grensvlakken – vloeibaar-vast, vloeibaar-gas en gas-vast (Lawrence en Henry, 1996).

4.4.1. Fysische factoren

Volgens Jang et al. (1993) worden in het algemeen bacteriële cellen geremd in de voortbeweging, wanneer de gemiddelde grootte van de bacteriële cel 5% bedraagt van de korrelgroottes in het geologisch medium. De poriëngroottes in fijne zanden, silten en kleien liggen dichtbij de afmetingen van bacteriën en verhinderen daarmee de kolonisatie van en het transport door deze afzettingen. De ruwheid van het oppervlak van de deeltjes speelt waarschijnlijk ook een belangrijke rol in de beschikbaarheid van sorptieplaatsen voor bacteriën.

Scholl et al. (1990) toonde aan dat de mate van hechting van bacteriële cellen aan minerale oppervlakken verband houdt met de lading van het mineraal oppervlak. De sorptie was groter aan oppervlakken met een positieve lading dan aan negatief geladen oppervlakken. IJzerhuidjes (Fe[III]) beïnvloeden de mate van sorptie aan het mineraaloppervlak in positieve zin. Tevens kunnen laagjes organisch materiaal het sorptieproces bevorderen door oppervlakvergroting en toename van het aantal plaatsen voor sorptie. Daarbij veranderen de sorptie karakteristieken van het basismineraal (Harvey, 1991) door effecten op de lading en het hydrofobische karakter.

4.4.2. Chemische factoren

De sorptie van bacteriën aan mineraaloppervlakken neem toe naarmate de ionsterkte van de oplossing toeneemt. De pH beïnvloedt volgens Scholl et al. (1990) het aantal positief geladen sorptieplaatsen aan het mineraaloppervlak. Hoe lager de pH des te meer positief geladen sorptieplaatsen en des te meer bacteriën zich kunnen hechten. Nutrientgradiënten kunnen bacterieel transport beïnvloeden in de zin dat deze een stimulans zijn voor gerichte migratie van zichzelfvoortbewegende (chemotactische) bacteriën. Daarbij wees Meyer-Reil (1994) erop dat de mate van kolonisatie en de dichtheid van bacteriële cellen afneemt met de afname van nutriënten in de interstitiële ruimten.

4.4.3. Microbiologische factoren

In afwezigheid van filtratie-effecten (zie fysische factoren) zou het transport van kleine bacteriën door de poreuze afzettingen makkelijker plaatsvinden doordat er minder interactie tussen het substraat en de bacteriële cel plaatsvindt. Van grotere cellen wordt verondersteld dat deze worden verwijderd door filtratie (Corapcioglu en Haridas, 1984).

De celvorm kan het gemak waarmee de cel kan worden getransporteerd eveneens beïnvloeden.

Van het gebruik van een flagel (chemotactisch gedrag) kan niet met zekerheid gezegd worden dat deze de snelheid van transport door geologische media versnelt. Resultaten van Reynolds et al. (1989) impliceren dat een flagel niet vereist is voor transport door ongeconsolideerde poreuze media.

Het blijkt dat de productie van polymeren door bacteriën de initiële sorptie van de bacteriën aan het substraat beïnvloedt. Deze polymeren zijn specifiek voor een bepaalde stam, de nutriëntenstatus en het substraat.

Het hydrofiele en hydrofobe karakter van de cel zou een rol kunnen spelen bij transport.

De invloed van de groeicyclus op transport is gebaseerd op de waarneming dat de bacteriën een gevarieerde levenscyclus vertonen aan het mineraaloppervlak. De aard van het celoppervlak verandert afhankelijk van of de cel actief groeit of een nutriënten gebrek in de omgeving ervaart. (Fletcher, 1977). In de situatie van een nutriëntengebrek, veranderen de bacteriën in kleine slapende cellen (0.3 micrometer) waardoor het potentieel voor transport toeneemt. Een nutriëntengebrek heeft ook invloed op de mogelijkheid om te sorberen aan oppervlakken, waarbij de adhesiecapaciteit meestal toeneemt bij nutriëntengebrek. Met andere woorden selecteert nutriëntengebrek adsorberende populaties micro-organismen.

4.4.4. Hydrodynamica

In het algemeen reduceren hoge stroomsnelheden de contacttijd tussen de bacteriële cel en het mineraaloppervlak en daarmee waarschijnlijk ook de bacteriële adsorptie. (Yates en Yates, 1988). Wan et al. (1994) vonden dat de bacteriën voor sorptie de voorkeur geven aan het gas-water grensvlak. De aanwezigheid van een onverzadigde fase zou hierdoor de snelheid van transport van bacteriën dus aanzienlijk vertragen.

Bij de voorspelling van het transport van bacteriën in grondwater wordt vaak gebruikt gemaakt van modellen. Hierbij wordt verondersteld dat het micro-organisme zich gedraagt als een opgeloste stof. De modellen zijn gebaseerd op twee transportmechanismen: advectie en dispersie. Advectie is de beweging van het getransporteerde in de richting van de grondwaterstroming. Dispersie is de beweging van het getransporteerde in een andere richting dan de stroomrichting als gevolg van moleculaire diffusie en mechanische menging. De poriëngrootte, af te leggen afstand en de frictie binnen de poriën, bepalen de mate van dispersie.

4.5. Samenvatting

Het natuurlijke voorkomen van micro-organismen in de grondwaterhabitat wordt beïnvloed door de beschikbare ruimte in de ondergrond en de morfologie (vorm) van de bacteriële cel. Op basis van porositeitmetingen en permeabiliteitsmetingen mag verwacht worden dat in vele sedimenten en behoorlijk dichte gesteenten bacteriën aanwezig zijn (McNapp en Dunlap, 1975).

Daarbij blijkt er sprake te zijn van een verband tussen de hydrogeologische gelaagdheid van de ondergrond en het voorkomen en de activiteit van ééncellige bacteriën, namelijk een hogere bacteriële activiteit in de sterk doorlatende zones zoals zandlagen dan in de weerstandbiedende zones zoals kleien.

Op basis van de hydrologische systeembenadering kan de grondwaterhabitat worden onderverdeeld in een aantal zones, die gekenmerkt worden door bepaalde bacteriële

processen. De onverzadigde zone (aëroob), de lokaal verzadigde zone (overwegend aëroob, maar ook anaerobe processen), de intermediair verzadigde zone (in het algemeen anaëroob) en de regionaal verzadigde zone (anaëroob).

Er kunnen drie bronnen worden onderscheiden van waaruit micro-organismen in de ondergrond zijn gekomen: bij initiële afzetting van het sediment, via transport van grondwater en door menselijk handelen. Het transport van bacteriën is een proces van sorptie- en desorptieprocessen, die worden bepaald door fysische, chemische, microbiologische factoren en de hydrodynamica.

4.6. Conclusies

De grondwaterhabitat met de heipalen wordt gekenmerkt door het voorkomen van zand, klei- en/of veenlagen. Bovendien ligt aan het oppervlak vaak een opgebrachte zandlaag als basis voor de bouwwerken. In de meerderheid van de situaties is er sprake van een hydrologisch infiltrerende situatie (i.t.t. kwelsituatie), dat wil zeggen dat het grondwater vanaf het oppervlak de ondergrond instroomt.

De zand-, veen- en kleilagen die de heipalen doorkruisen, bevatten voldoende poriën van voldoende grootte om bacteriën te kunnen herbergen. Bacteriën komen dus overal in de sedimenten waarin de heipalen staan voor. Wel is er sprake van een zonering afhankelijk van de hydrogeologische gelaagdheid van de ondergrond. De klei- en veenlagen zijn relatief slecht doorlatend voor water en hierin zal de bacteriële activiteit lager zijn dan in de relatief goed doorlatende zandlagen.

In de richting van de grondwaterstroming neemt als gevolg van bacteriële activiteit het zuurstofgehalte af. Tevens zijn de bacteriën afhankelijk van het organisch materiaal dat met het grondwater wordt aangevoerd of in de sedimenten aanwezig is. De veenlagen bevatten veel organisch materiaal.

De bacteriën die verantwoordelijk zijn voor de aantasting van de heipalen kunnen dezelfde zijn als de bacteriën die van nature in de ondergrond en het grondwater voorkomen (autochtoon). Het is ook mogelijk dat de bacteriën afkomstig zijn van een externe bron en via transportprocessen de heipaal hebben bereikt.

Het transport van bacteriën wordt bepaald door adsorptie- (hechting) en desorptiereacties (loskomen). Het transport in de zandlagen verloopt als gevolg van de grotere poriën gemakkelijker dan in de kleilagen. Voorts blijkt nutriëntengebrek te leiden tot meer hechting van bacteriën aan mineralen en andere deeltjes (adsorptie). Dit leidt dus tot verminderd transport van bacteriën.

5. Bacteriën en hydrogeochemische factoren

Voor het voortbestaan van populaties van micro-organismen in de grondwaterhabitat dient aan een aantal voorwaarden te worden voldaan:

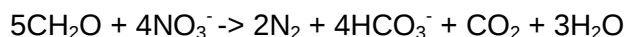
- beschikbare voedingsstoffen (bouw – en brandstoffen) om het celmateriaal mee op te bouwen en verbrandingsprocessen te laten verlopen; oftewel nutriënten, zoals stikstof, fosfor, sulfur, sporenelementen en koolstof in de vorm van opgeloste organische koolstof (DOC) of anorganisch koolstof zoals carbonaat of koolstofdioxide in opgeloste vorm.
- energie om het metabolisme op gang te houden. Hiervoor zijn, in afwezigheid van licht als energiebron (fotosynthese), een elektrondonor (brandstof) en een elektronacceptor (bv. zuurstof) nodig. Wanneer een elektron wordt afgestaan door een elektrondonor en opgenomen door een elektronacceptor komt er energie vrij, die gebruikt kan worden. De chemische reactie die hieraan ten grondslag ligt, wordt een redoxreactie genoemd. Elektrondonoren kunnen zijn: oxideerbare organische verbindingen of oxideerbare anorganische verbindingen, zoals waterstof, ammonia, sulfide of Fe[II] . Elektronacceptoren kunnen zijn: zuurstof, sulfaat, nitraat, Fe[III] , koolstofdioxide of simpele organische verbindingen. Tot slot is voor de chemische processen water nodig.
- Water ten behoeve van chemische reacties en om de celspanning op peil te houden.

Volgens McNabb en Dunlap (1975) bepalen de beschikbaarheid van nutriënten en energie de mate van bacteriële groei en activiteit in de grondwaterhabitat. Voor de bacteriën in de grondwaterhabitat in het bijzonder is de beschikbaarheid van nutriënten en energie afhankelijk van de chemie van de ondergrond en het grondwater (hydrogeochemie). Hydrogeochemische factoren, zoals samenstelling van infiltrerende regenwater, oplossing van mineralen, kationuitwisseling tussen grondwater en sediment, in combinatie met de fysische- en de omgevingsfactoren bepalen welke soorten bacteriën kunnen voorkomen.

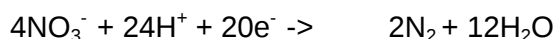
5.1. Redoxprocessen

Het micro-organisme ontleent de energie noodzakelijk voor de levensprocessen aan de transfer van elektronen van een elektrondonor naar een elektronacceptor. De chemische reactie die aan dit proces ten grondslag ligt, wordt een redoxreactie genoemd. Tevens vervullen de bacteriën de functie van katalysator voor vele redoxreacties die in het grondwater optreden.

Een voorbeeld van een redoxreactie is de reductie van nitraat (NO_3^-) door organisch materiaal (CH_2O) met tussenkomst van denitrificerende bacteriën:



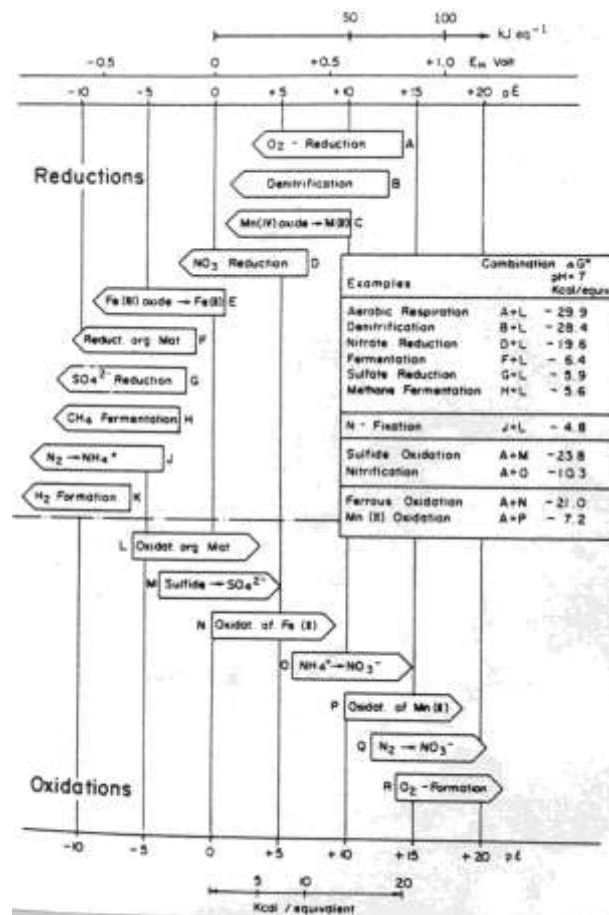
In deze reactie is het organisch materiaal de elektrondonor en nitraat de elektronacceptor. Daarbij worden er 20 elektronen overgedragen van het organisch materiaal naar nitraat. De elektronen overdracht kan inzichtelijker worden gemaakt door de reactie te splitsen in de volgende twee halfreacties:



In natuurlijke grondwaterhabitats zijn er verschillende stoffen die als elektronacceptor dan wel als elektrondonor kunnen optreden. Zuurstof, nitraat, Fe[III] , sulfaat zijn bekende elektronacceptoren. Organisch materiaal, sulfiden, Fe[II] en waterstof zijn veel voorkomende elektrondonoren.

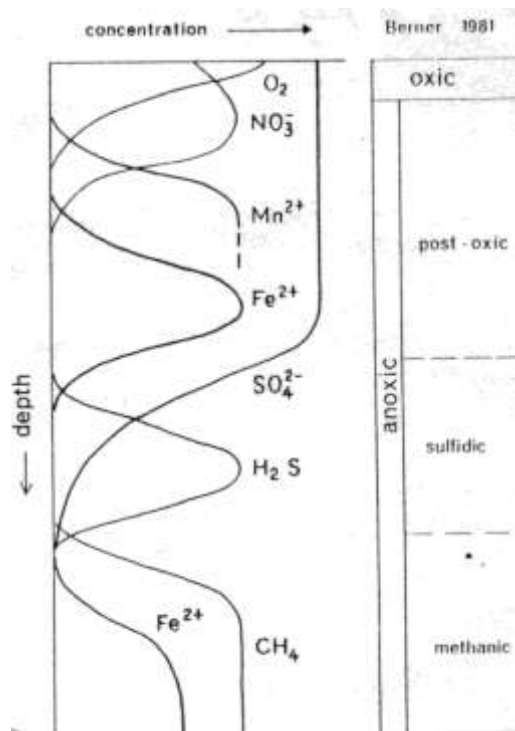
Redoxprocessen volgen een thermodynamische sequentie (Stumm & Morgan, 1996), waarbij de hoeveelheid vrijkomende energie afneemt (zie figuur 5.1). Hoe verder de

standaardpotentialen (Eh in Volt) van de beide halfreacties uit elkaar liggen, des te groter de energieopbrengst.



Figuur 5.1 Thermodynamische sequentie van redoxprocessen waarbij micro-organismen betrokken zijn. De letters verwijzen naar de reacties die staan in de in de figuur opgenomen tabel (Appelo en Postma, 1996).

In natuurlijke systemen volgen de redoxprocessen in het algemeen de sequentie van hoge naar lage energieopbrengst. In de situatie dat zuurstofrijk water in een bodem infiltreert die rijk is aan organisch materiaal, wordt allereerst de zuurstof gebruikt. Vervolgens worden nitraat en sulfaat gebruikt als elektronacceptoren en uiteindelijk verschijnt koolstofdioxide in het water. De grondwatersamenstelling op verschillende dieptes reflecteert de optredende redoxreacties (zie figuur 5.2).



Figuur 5.2. De grondwatersamenstelling op verschillende dieptes. Deze illustreert de optredende redoxprocessen (Appelo en Postma, 1996).

In sommige gevallen wordt het verdwijnen van een reactant gesignaleerd (O_2 , NO_3^- , SO_4^{2-}), in andere gevallen wordt de verschijning van een reactieproduct (Mn^{2+} , Fe^{2+} , H_2S) geregistreerd. Op basis van de sequentie heeft Berner (1981) redoxmilieus geclassificeerd. Allereerst onderscheidt hij een zuurstofrijk ($O_2 \geq 10^{-6}$ mol/l) en een zuurstofloos milieu. Vervolgens deelt hij de zuurstofloze zone in een post-oxische zone, waar nitraatreductie en reductie van Mn- en Fe-oxiden de boventoon voeren, een sulfidische zone, waar sulfaatreductie optreedt en een methanische zone. In voorkomende gevallen wordt de post-oxische zone nog verder ingedeeld in een nitrische ($NO_3^- \geq 10^{-6}$ mol/l en $Fe^{2+} \leq 10^{-6}$ mol/l) en ferrische zone ($Fe^{2+} \geq 10^{-6}$ mol/l en $NO_3^- \leq 10^{-6}$ mol/l). Niet alle zones zijn altijd te onderscheiden en in veel gevallen passeert het grondwater de post-oxische niet eens. Bovendien manifesteert de sequentie zich zowel op de macroschaal als op de microschaal.

Bij de redoxreacties van de sequentie zijn, met de mogelijke uitzondering van de reducties van $MnO_2(s)$ en $FeOOH(s)$, micro-organismen betrokken. Parallel aan de sequentie is er dus een ecologische successie van micro-organismen, nl. de aerobe heterotrofen, denitrificeerders, gistingsbacteriën, sulfaat reducerende bacteriën en methaanbacteriën (Stumm en Morgan, 1996) (zie tabel 5.1).

Tabel 5.1. Een voorbeeld van een thermodynamische sequentie van redoxprocessen en de daarbij betrokken bacteriën.

Redoxreactie	Betrokken bacteriën	Redoxmilieu's volgens Berner (1981)
Zuurstof-reductie	Diverse aerobe bacteriën	Oxische zone
Denitrificatie	Denitrificerende bacteriën	Post-oxische zone
Nitraat-reductie	Nitraat-reducerende bacteriën	Post-oxische zone
Fe[III]-reductie	IJzer-bacteriën	Post-oxische zone
Sulfaat-reductie	Sulfaat-reducerende bacteriën	Sulfidische zone
Methaan gisting	Methaanbacteriën	Methanische zone

5.2. Zuurstof

Het zuurstofgehalte van de ondergrond is een belangrijk bepalende factor voor het voorkomen van bepaalde groepen micro-organismen.

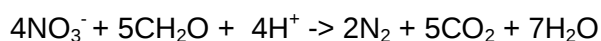
Boven de grondwaterspiegel (bodemvochtzone) is er in het algemeen sprake van zuurstofrijke omstandigheden. Op microschaal is daarentegen het zuurstofgehalte niet evenredig verdeeld en zijn er micromilieus aanwezig waar zuurstof afwezig is. Bovendien beïnvloedt een variërende grondwaterstand de voor micro-organismen beschikbare hoeveelheid zuurstof in de tijd.

In grondwatersystemen beneden de grondwaterspiegel dringt geen zonlicht door en vindt geen fotosynthese plaats. Door het afwezig zijn van deze zuurstofproducerende component zijn grondwatersystemen dus gesloten ten aanzien van zuurstof. De hoeveelheid zuurstof die er in voorkomt is afhankelijk van de zuurstofconsumptie en daarmee van de hoeveelheid gereduceerde organische stof en het transport van zuurstof. Indien de transportsnelheid van de zuurstof groter is dan de zuurstofconsumptie, is er sprake van aerobe omstandigheden. Indien de transportsnelheid lager is dan de zuurstofconsumptie dan is er sprake van anaerobe omstandigheden. Aangezien de transportsnelheden van grondwater in het algemeen zeer laag zijn, komt de laatste situatie het meest voor (Chapelle, 1993). De verdeling van opgeloste zuurstof verloopt volgens een voorspelbaar patroon. De lokale ondiepe systemen bevatten relatief veel zuurstof, doordat de transportsnelheid hoger is dan de zuurstofconsumptie. Naarmate het grondwater dieper in de ondergrond komt, neemt het zuurstofgehalte af tot niet meetbare concentraties, doordat zuurstofconsumptie de overhand krijgt. Afhankelijk van de aanwezigheid van oxideerbaar materiaal langs de stroombaan wordt de zuurstof snel of langzaam opgebruikt (Chapelle, 1993). Is er weinig oxideerbaar materiaal aanwezig dan kan het grondwater nog aanzienlijke hoeveelheden zuurstof bevatten (2-5 mg/l) (West, J.M. en Chilton, P.J.). In afwezigheid van oxideerbaar materiaal kan met zuurstof verzadigd grondwater (10 mg/l) lange tijd door de ondergrond reizen.

De tolerantie van micro-organismen ten aanzien van zuurstof varieert sterk. Zo zijn er micro-organismen die strikt gebonden zijn aan zuurstof (obligaat aëroob), maar er zijn ook micro-organismen die vragen om strikt zuurstofloze condities (obligaat anaëroob). Facultatief anaerobe micro-organismen geven de voorkeur aan zuurstof, maar wanneer dit niet aanwezig is, kunnen ze alternatieve elektronacceptoren gebruiken voor hun metabolisme.

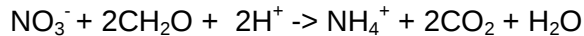
5.3. Nitraat

Nadat zuurstof in het grondwater is opgebruikt, gaat de oxidatie van organisch materiaal onder anaerobe omstandigheden verder met behulp van andere elektronacceptoren. Indien beschikbaar, is nitraat (NO_3^-) de volgende elektronacceptor. Er treedt denitrificatie op, het proces waarbij nitraat stapsgewijs wordt omgezet via nitriet (NO_2) en stikstofoxiden (N_2O) naar stikstofgas (N_2):



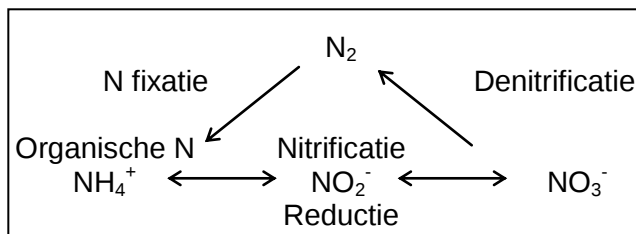
Bij dit proces zijn de facultatief anaerobe bacteriën (o.a. *Pseudomonas* en *Bacillus*) betrokken. Omdat de denitrificerende bacteriën organische koolstof als energiebron (organotroof) nodig hebben, kan denitrificatie alleen plaatsvinden wanneer dit organisch materiaal in de ondergrond aanwezig is.

Naast denitrificatie kan reductie van nitraat optreden, waarbij nitraat wordt omgezet in ammonium (NH_4^+). Hierbij zijn ook micro-organismen betrokken.



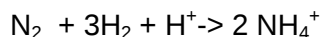
Het voorkomen van nitraat in de ondergrond wordt sterk beïnvloed door het menselijk handelen. Als bronnen voor stikstof kunnen in dit verband worden genoemd: dierlijke uitwerpselen en mest, rioolafvalwater, stikstofbemesting, gemeentelijk afval, neerslag, atmosferische depositie.

In figuur 5.3 staan de belangrijkste stikstofreacties waarbij bacteriën betrokken zijn afgebeeld. In het grondwater heersen voornamelijk anaerobe omstandigheden. Hierdoor treedt de nitrificatie niet op. Het cyclische karakter gaat onder de grondwaterspiegel dus verloren.



Figuur 5.3 De belangrijkste stikstofreacties waarbij micro-organismen betrokken zijn (Stumm en Morgan, 1996).

Later in de sequentie kan een proces optreden waarbij stikstof wordt vastgelegd als ammonium (NH_4^+) waarbij eveneens micro-organismen betrokken zijn.

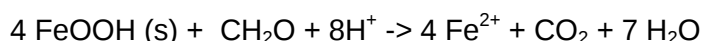


Dit proces kan onder aerobe en onder anaerobe omstandigheden plaatsvinden. Onder anaerobe omstandigheden, zijn leden van het geslacht *Clostridium* erbij betrokken, die organische koolstof als energiebron gebruiken (Chapelle, 1993).

De geproduceerde ammonia wordt geassimileerd in de eiwitten van de micro-organismen. Na het afsterven van micro-organismen keert de stikstof weer als ammonium terug in het systeem via deaminatieprocessen.

5.4. IJzer

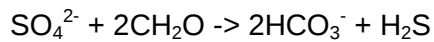
Wanneer er geen nitraat meer beschikbaar is, gaat het Fe[III]-ion vastgelegd in onoplosbare ijzeroxiden fungeren als elektronacceptor, waarbij zowel chemo-organotrofe als chemolithotrofe micro-organismen zijn betrokken. Een voorbeeld van een reactie, waarbij organisch materiaal als elektrondonor optreedt is:



De ijzeroxiden zijn vaak gebonden aan het sediment in de vorm van ijzerhuidjes of als ijzerconcreties. Onder anaerobe omstandigheden worden deze gereduceerd waarbij Fe[II] wordt gemobiliseerd en onder anaerobe condities opgelost blijft in het grondwater. Doordat er in het grondwater niet of nauwelijks zuurstof aanwezig is, kunnen de ijzerconcentraties in het grondwater hoog oplopen.

5.5. Sulfaat

De reductie van sulfaat (SO_4^{2-}) door organisch materiaal wordt gekatalyseerd door de bacteriën van de Desulfobrio-groep. De reactie zou anders bij normale temperaturen niet verlopen.

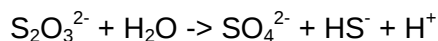


Het grootste gedeelte van de geproduceerde H_2S (rotte eieren lucht) reageert in grondwatersystemen met ijzeroxides tot ijzersulfide mineralen (o.a. pyriet). De mate van sulfaatreductie hangt in hoge mate af van de beschikbaarheid van organisch materiaal en de aanwezigheid van sulfaat. Zoet water bevat over het algemeen weinig sulfaat. Belangrijke bronnen voor sulfaat zijn onder andere: oxidatie van pyriet, menging van zoet water en zeewater, meststoffen, neerslag, atmosferische depositie.

Naast bovenstaand reductieproces van sulfaat, wordt sulfaat vastgelegd in de proteïnen van micro-organismen. Bij het afbraakproces van het organisch materiaal komt via putrifaction sulfur in de vorm van H_2S weer beschikbaar.

Jorgensen (1990) heeft aangetoond dat veel H_2S , dat onder anaerobe omstandigheden wordt geproduceerd ook wordt geoxideerd onder anaerobe omstandigheden. Deze anaerobe oxidatie lijkt te zijn gekoppeld aan de reductie van $\text{Fe}[\text{III}]$ -verbindingen in de sedimenten.

Hierbij wordt H_2S gedeeltelijk geoxideerd tot het tussenproduct thiosulfaat ($\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$). Vervolgens wordt afhankelijk van de stoichiometrie sulfaat dan wel sulfide gevormd.

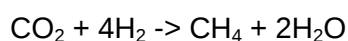


Daarnaast zijn een aantal fotosynthetische bacteriën (cyanobacteriën, groene en paarse zwavelbacteriën) in staat om onder anaerobe omstandigheden sulfides te oxideren. Deze bacteriën hebben zonlicht nodig voor dit proces en komen dus niet voor in de grondwaterhabitat.

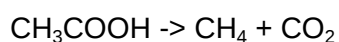
5.6. Methaan

Methanogenese is het proces waarbij bijvoorbeeld koolstofdioxide (CO_2) wordt gereduceerd en methaangas (CH_4) wordt gevormd. Dit proces wordt beschouwd als een van de eerste autotrofe processen op aarde (Ehrlich, 1996). De methaanvormende bacteriën behoren tot de archaebacteriën.

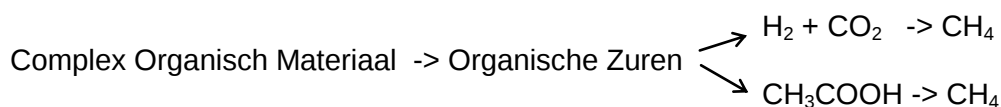
Methaangas is een algemeen voorkomend bestanddeel van anoxische grondwatersystemen. Het kan langs twee wegen worden gevormd: de thermokatalytische en de biogene weg. Het thermokatalytische proces vindt meestal op enkele kilometers diepte in de aardkorst plaats en wordt vaak geassocieerd met olie- en gasvoorraden. De methaanproductie als gevolg van microbiologische activiteit verloopt langs een serie complexe biogene reacties (Vogels et al., 1989). In het algemeen is het voornaamste proces de reductie van koolstofdioxide (Appelo, 1996):



en de gisting van bijvoorbeeld acetaat:



In fysiologisch opzicht van elkaar verschillende micro-organismen zijn bij de methanogenese betrokken. Bepaalde micro-organismen breken het complexe materiaal af tot organische zuren en alcoholen en produceren uiteindelijk acetaat, waterstof en koolstofdioxide (Ehrlich, 1996):



Vervolgens gebruiken de meeste methanogene bacteriën waterstof of een equivalent hiervan (formiaat of koolstofmonoxide) als energiebron (obligaat of facultatief autotroof) en koolstofdioxide als koolstofbron (lithotroof). De acetotrofe methanogene bacteriën gebruiken acetaat als energie- en als koolstofbron. Dit vindt plaats onder obligaat anaerobe omstandigheden.

Om de grote beschikbaarheid van oxideerbare koolstofverbindingen in hun milieu te kunnen gebruiken, sluiten de methanogene bacteriën vaak een verbond met de heterotrofe gistingbacteriën en/of anaerobe respiratieve bacteriën, die de organische energiebronnen niet volledig mineraliseren (bv. Jain and Zeikus, 1989; Sharak Genthner et al., 1989; Grbi-Gali, 1990). Dit vindt bijvoorbeeld plaats in zoetwater-sedimenten waar geen sulfaat aanwezig is. Hier wordt organische koolstof door sulfaatreducerende bacteriën via gisting afgebroken tot onder andere waterstof. Deze waterstof gebruiken de methanogene bacteriën vervolgens weer als energiebron (bv. Bryant et al., 1977).

In marine milieus waar de methanogene bacteriën waterstof en acetaat met de sulfaatreducerende bacteriën moeten delen, worden de methanogene bacteriën weggeconcentreerd. In deze milieus bevinden de sulfaatreducerende bacteriën en de methanogene bacteriën zich dus in van elkaar gescheiden zones (e.g., Martens en Berner, 1974; Sansone en Martens, 1981). Wanneer daarentegen de energiebron (waterstof of acetaat) overvloedig aanwezig is (Oremland en Taylor, 1978) of beide populaties verschillende energiebronnen gebruiken (Oremland et al., 1982), kunnen beide populaties naast elkaar leven. In anaerobe zoetwatermilieus, waar sulfaat-, nitraat-, ijzeroxide- en mangaanoxideconcentraties laag zijn, is de methanogenese het overheersende proces van koolstofmineralisatie (Ehrlich, 1996).

Een aantal bacteriën kunnen methaangas gebruiken als energiebron. Sommigen van deze bacteriën zijn obligaat methanotroof, anderen zijn facultatief methanotroof (Higgins et al., 1981).

Alle bekende methanotrofe bacteriën zijn aeroob, echter indirect bewijs lijkt aan te tonen dat er ook anaerobe methanotrofe bacteriën bestaan (bv., Ward et al., 1987, Henrichs en Reeburgh, 1987). De methanotrofe bacteriën zijn belangrijk voor het retourneren van onder anaerobe omstandigheden geproduceerd methaangas naar de koolstofdioxide voorraad (bv., Vogels, 1979).

5.7. Samenvatting

Bacteriën hebben energie nodig voor hun verbrandingsprocessen (bv. oxidatie door zuurstof). In de grondwaterhabitat onttelen ze deze aan zogenaamde redoxprocessen. Dit zijn processen waarbij elektronen van de ene reactant (elektrondonor) worden overgedragen aan de andere reactant (de elektronacceptor). Hierbij komt energie vrij. De elektrondonor is in de ondergrond meestal organisch materiaal en de favoriete elektronacceptor is indien beschikbaar zuurstof. Doch in de grondwaterhabitat is zuurstof lang niet altijd beschikbaar.

Indien zuurstof niet voorhanden is kunnen andere stoffen zoals nitraat en Fe(III) de functie van zuurstof vervullen, waarbij echter minder energie vrijkomt. De redoxprocessen volgen dus een zogenaamde thermodynamische sequentie, waarbij de hoeveelheid vrijkomende energie afneemt.

Doordat op enkele uitzonderingen na micro-organismen bij de redoxreacties betrokken zijn, is er parallel aan de thermodynamische sequentie ook een ecologische successie van micro-organismen. Waar zuurstof aanwezig is, vinden we aerobe bacteriën, waar nitraat gebruikt wordt als elektronacceptor zien we denitrificerende bacteriën enz. De soorten voorkomende micro-organismen zijn dus afhankelijk van de optredende redoxreactie en dus van de

beschikbaarheid van elektronacceptoren en elektrondonoren en omgevingsfactoren zoals de pH.

5.8. Conclusies

De heipalen staan zoals gezegd onder de grondwaterspiegel en doorsnijden een of meerdere zand, klei- en/of veenlagen. In aan de oppervlakte gelegen (opgespoten) zandlagen waarin weinig organisch materiaal aanwezig is, kan het grondwater, indien er sprake is van een infiltrerende situatie, nog enige zuurstof bevatten (max. 10 mg/l). Veenlagen bevatten veel gereduceerd organisch materiaal, zodat beschikbare zuurstof in deze laag snel zal worden opgebruikt voor de afbraak hiervan. Dit betekent dat in en beneden de veenlaag anaerobe (zuurstofloze) omstandigheden heersen en anaerobe processen optreden.

Afhankelijk van de beschikbaarheid van zuurstof en alternatieve elektronacceptoren, zoals nitraat, Fe[III], sulfaat, treedt in de richting van de grondwaterstroming een bepaalde redoxsequentie op waarbij verschillende typen bacteriën zijn betrokken. De beschikbare nutriënten en elektronacceptoren kunnen van nature aanwezig zijn, doch ook door menselijk handelen (vervuilingen, zure regen e.d.) in de ondergrond terechtkomen. Volgens McNabb en Dunlap (1975) bepalen de beschikbaarheid van nutriënten en energie de mate van bacteriële groei en activiteit in de grondwaterhabitat.

6. Eigenschappen van houtaantastende bacteriën

6.1 Slijmlaag

De houtaantastende bacterie produceert aan de oppervlakte slijm waardoor hij volledig omgeven wordt door een extracellulaire slijmlaag van glycoproteïne (Daniel 1994). Deze slijmlaag kan de volgende functies hebben:

- 1) Hechting aan het hout;
- 2) Bescherming tegen uitdroging;
- 3) Bescherming tegen milieu stress;
- 4) Zorgt voor geconcentreerde substraten;
- 5) Maakt misschien beweging mogelijk (Daniel 1994): hoe de beweging gaat is onduidelijk omdat er geen specifieke organellen zijn waargenomen (Daniel & Nilsson 1985);
- 6) Oplosbaar maken van zware metalen.

6.1.1. Enzymen

Basiskennis

Onderzoek aan enzymatische activiteit van bacteriën wordt bemoeilijkt door het feit dat nooit met zekerheid houtaantastende bacteriën zijn geïdentificeerd en doordat naaldhout altijd door een mix aan bacteriën mogelijk in combinatie met softrotters wordt aangetast. De aantasting wordt dus veroorzaakt door meerdere bacteriën (Blanchette et al 1990). Hoewel de echte bacteriele aantaster niet bekend is, is er onderzoek gedaan naar het houtaantastende vermogen van ooit uit hout geïsoleerde bacteriën.

Voor een aantal bacteriën is aangetoond dat ze onder laboratoriumomstandigheden cellulose en hemicellulose kunnen afbreken. Deze bacteriën worden dan cellulolytisch of hemicellulolytisch genoemd. Al deze experimenten zijn uitgevoerd aan kleine onbehandelde monsters en aan monsters die op een dusdanige manier zijn behandeld dat het lignine voor een deel is afgebroken. Het is gebleken dat cellulose makkelijk kan worden afgebroken door bacteriën maar niet als de cellulose geassocieerd is met lignine. Vandaar dat dit soort experimenten moeilijk naar de praktijk te vertalen zijn.

De volgende cellulolytische en hemicellulolytische bacteriën worden genoemd: Afbraak van Cellulose, Chitin en Lignine door *Micromonospora* spp. (Harmsen & Nissen 1965); Afbraak cellulose door: *Cellvibrio gilvus*, *Cellvibrio fulvus*; *Thermomonospora* spp., *Acetivibrio cellulyticus*, *Bacteroides succinogenes*, *Sporocytophaga myxococcoides* (Erikson & Wood 1985); Mogelijk cellulolytisch: *Bacillus polymyxa* (aangetoond in met chloor behandeld hout, Schmidt & Bauch 1980); *Clostridium* spp. (obligaat anaëroob) uit grenen blijkt enige cellulolytische activiteit te hebben, maar de belangrijkste afbraak is 1,4,β-xylanase activiteit (Rogers et al. 1992); Afbraak cellulose door *Chlostridium omelianskii* (Liese & Greaves 1975);

Lignine is ten opzichte van chemisch cellulose een component die veel moeilijker afbreekbaar is. De volgende lignolytische bacteriën worden genoemd: Actinomyceten kunnen middels lignine peroxydase lignine afbreken (nooit aangetoond in de celwand met polymerisch lignine) mogelijk is ook peroxidase betrokken bij de cytochemische reacties (Daniel 1994); *Bacillus polymyxa* veroorzaakt in met chloor behandeld hout een lignine verlies van 43% (Schmidt & Bauch 1980); *Clostridium* spp. (obligaat anaëroob) uit grenen blijkt enige lignolytische activiteit te hebben (Rogers et al. 1992); Afbraak lignine (black liquor lignine, afvalproduct bij pulp) door *Acinetobacter* spp. (meest agressief), *Alcaligenes* spp., *Bacillus subtilis* (i, ii), *Canadida albicans* (Vasudevan & Mahadevan 1990).

Van de drie hoofdcomponenten van hout (cellulose, hemicellulose en lignine) worden met name cellulose en hemicellulose door bacteriën afgebroken. Lignine vormt met cellulose en hemicellulose een complex netwerk en op grond van kennis over de enzymatische afbraak

van hout door schimmels wordt vermoed dat bij organismen die met name het (hemi)cellulose afbreken (bruin-, softrotters) ook enige lignine afbraak / modificatie moet plaats vinden. Voor de enzymsystemen die lignine kunnen aantasten is echter zuurstof nodig.

Omdat het enzymstelsel bij bacteriële aantasting vrijwel onbekend zijn, is het vermoeden dat hier dezelfde mechanismen werkzaam zijn als bij schimmels. Eriksson et al. 1990 gaan ervan uit dat bacteriële aantasting een aerobisch proces is. Volgens Pellinen 1986 en Kern & Kirk 1987 is het niet duidelijk of het lignine gemineraliseerd of gemodificeerd wordt.

Peroxydase activiteit (lignine afbraak) is voor een aantal bacteriën aangetoond en mogelijke verwantschappen met lignolytische systemen van witrotters wordt vermoed (Ramachandra et al. 1988 en Wang et al. 1990).

Er zijn twee hypothesen die houtafbraak door bacteriën zouden kunnen verklaren:

1. Zuurstof is nodig om op zijn minst om het lignolytische enzym aan te maken;
2. Zuurstof is niet nodig want alleen (hemi)cellulose wordt afgebroken. De vraag hierbij is echter hoe de cellulolytische enzymen door de lignineschede komen en dit laatste maakt deze hypothese zeer onwaarschijnlijk.

Relatie enzymen en slijm laag

Volgens Erikson & Wood (1985) is de hoeveelheid extracellulair cellulase die door bacteriën wordt gebruikt veel lager dan bij schimmels. Dit is een verklaring voor trager verlopende aantasting bij bacteriën. Er zijn aanwijzingen dat in de slijm laag van de bacteriën hoge concentraties enzymen (hemicellolytic, cellolytic) kunnen worden opgeslagen (middels vesicles) die ineens op het substraat vrijkomen waardoor voorkomen wordt dat in een omgeving met veel water door diffusie de enzym-concentratie snel terugloopt en daarmee aan kracht verliest.

Van een aantal enzymen is aangetoond dat ze uiterst effectief zijn wanneer ze aan de celwand gebonden zijn en dus in lokale hoge concentraties voorkomen (cellulasen, endo-1,4- β glucanase (veel voorkomend bij bacteriën) en exo-1,4- β glucanases (minder voorkomend bij bacteriën). Lokale hoge concentraties worden bereikt doordat bacteriën hun celvorm aanpassen om zodoende zo dicht mogelijk tegen het substraat (celwand) aan te kunnen liggen.

6.1.2. Weerstand tegen toxische stoffen

Aantasting van geïmpregneerd hout door bacteriën (TB, EB, CB) wordt steeds bekender. De bacteriën blijken onder andere door verlaging van de pH de metalen in oplossing te brengen. In het verdere verloop van het aantastingproces speelt de slijm laag een belangrijke rol. De in oplossing gebrachte zware metalen blijken gebonden te kunnen worden aan de slijm laag van de bacterie en zelfs in de bacterie opgenomen te kunnen worden (koper). Bij TB vindt er opslag plaats in de tunnelwandjes en in de tunneldwarswandjes (Daniel & Nilsson 1985, Mouzovuras et al. 1986).

De volgende studies hebben aantasting van geïmpregneerd hout gemeld:

- CCA geïmpregneerde paaltjes aangetast door EB en CB (Butcher et al. 1984);
- CCA geïmpregneerd palen aangetast in Nieuw Zeeland (Anomynous 1984);
- CCA geïmpregneerde *Pinus radiata* palen (retenties van 11.84 – 14 kg/m³) in wijngaarden en huizen na 9 – 13 jaar, aangetast tot circa 75 cm boven de grond door EB en softrot. EB was meest aanwezig in de diepere lagen (Singh & Wakeling 1993);
- Bacteriën aantasting ook in geïmpregneerde paaltjes (Blanchette et al 1990, Clausen 1995);
- Eerste melding van CCA geïmpregneerde palen die aangetast waren door bacteriën was door Greaves (1968);
- CCA geïmpregneerde *Pinus radiata* paaltjes (retentie 10.1 kg/m³) waren na 7 jaar in grondcontact aangetast door EB (Singh & Butcher 1985);

- CCA geïmpregneerde *Pinus radiata* uit koeltorens (bouw 1982, (retentie 13.5 kg/m³) aangetast door TB, EB, softrot, de planken waren omgeven door een slijmlaag (Singh et al. 1992);
- Grenen dat op verschillende manieren was behandeld is 2 jaar lang toegepast in watertorens. Onbehandeld hout aantasting (gewichtsverlies 50%) door softrotters en bacteriën; CCA geïmpregneerde hout (lage retenties) aangetast alleen softrot (gewichtverlies 22%); ACQ13 geïmpregneerde hout aangetast door alleen TB (gewichtverlies 35%).

De werkzaamheid tegen bacteriële aantasting van een aantal houtverduurzamingmiddelen (boor, chroom, koper, fluor, pentachloorphenol, CF zout) is eens getest op zes bacteriesoorten. Boor en fluor blijken hierbij weinig werkzaam te zijn en de andere producten bleken een sterkere werking te hebben (Schmidt et al. 1975).

6.2. Ecologie van bacteriële aantasting

Houtaantastende bacteriën zijn kosmopolitisch, komen voor in zoet- en zout water (zowel ondiep als diep op de zeebodems tot 5 km TB), in zandige bodems met bruinrot, in bosgrond met witrot, in natte klei en vruchtbare bodems met softrot. De competitiekracht is lager dan die van houtaantastende schimmels maar stijgt wanneer de zuurstofconcentratie daalt, wanneer er CCA, creosoot of gemodificeerd hout wordt toegepast of bij zeer duurzame houtsoorten (Daniel & Nilsson 1997). Bij duurzame houtsoorten spelen inhoudstoffen maar met name het ligninegehalte een belangrijke rol ten voordele van bacteriën:

- Door softrot worden de S3 en middenlamel (in verband met hoog lignine gehalte) niet aangetast, bacteriën kunnen dit wel;
- Houtsoorten met een relatief laag ligninegehalte zoals berk en beuk worden in niet gesteriliseerde bodems snel aangetast door softrot. Bij houtsoorten met een hoger ligninegehalte neemt de bacteriële aantasting ten koste van de softrotaantasting toe.
- Hoog gelignificeerd hout (middenlamelhoek met een ligninegraad van 80%) is resistent voor EB (en softrot) maar kan wel aangetast worden door TB (Singh et al. 1994, Singh & Butcher 1991);
- De belangrijkste reden dat de initiale stippelhoven alleen door TB worden aangetast (en niet door EB of softrot) is het hoge ligninegehalte. *Pinus radiata* heeft een gemiddeld ligninepercentage van circa 27%; de S3 van 52%, maar in de hoek met middenlamel is dit 80% (Singh 1997b).

Bij aantasting vindt waarschijnlijk een microbiologische successie plaats waarbij bacteriën de eerste kolonisatoren (synergie en antagonisme) zijn. Schimmelgroei kan gestimuleerd worden door bacteriën die bepaalde (toxische) componenten kunnen afbreken (Daniel & Nilsson 1985) of door stikstofbinding door groundbacteriën (Levy 1975) of toename van het vitamine b1 gehalte (Henningsson 1967). Thorn & Tsuneda (1992 en 1993) laten zien dat schimmels onder gunstige omstandigheden bacteriën niet toelaten in hout, de bacteriën worden gelyseerd.

Tijdens de bacteriële kolonisatie van hout treden verschillende fasen op (alleen in de middelste fase zijn de echte houtaantasters actief):

- Initiële fase door verschillende micro-organismen (rods, cocci, spirochaetes, Actinomycetes) deze fase gaat vaak samen met slijmvorming;
- Fase van primaire aantasting waarbij alleen de houtaantastende bacteriën actief zijn;
- Fase van secundaire aantasting waarbij het restmateriaal (residu) wordt afgebroken door andere dan houtaantastende bacteriën.

Factoren die bacteriële aantasting van hout kunnen beïnvloeden:

- De zuurstofconcentratie is bepalend voor de mate en de snelheid van aantasting (Holt et al. 1979), echter onder zuurstofloze omstandigheden is nog nooit aantasting aangetoond (Singh & Butcher 1991, Blanchette et al. 1990; Singh 1997b; Singh et al. 1994). In ondiep oppervlaktewater (< 20 cm) blijkt zoveel zuurstof aanwezig te zijn dat TB, EB en softrotters naast elkaar voorkomen. In dieper water (> 80 cm) is de zuurstofconcentratie zodanig dat alleen EB voorkomt (Nagashima et al. 1990b).
- Houtvochtgehalte is niet bepalend voor aantasting met EB en TB, maar in droger hout hebben bacteriën echter een lagere concurrentiekracht dan schimmels in omstandigheden waaronder schimmels ook kunnen groeien in verband met een grote toevoer van zuurstof.
- De pH kan de mate en snelheid van aantasting beïnvloeden (Holt et al. 1979);
- De aard en de hoeveelheden oplosbare nutriënten kunnen de mate en snelheid van aantasting beïnvloeden (Holt et al. 1979).

De ecologische amplitudo EB, TB en softrot

- Zuurstof behoefte: EB erg laag, TB iets hoger, softrot groot, bruin- en witrot zeer groot, bij afname zuurstof neemt ook de aantastingsnelheid af;
- Toxische stoffen /inhoudstoffen: TB resistent, EB minder resistent, schimmels weinig resistent;
- Hoog lignine gehalte: alleen afbreekbaar door TB;
- Enzymsysteem: zeer snel schimmels, langzamer TB en erg langzaam EB;
- Temperatuur: EB maximaal 70°C, TB maximaal 40°C, schimmels maximaal circa 50°C;
- Zuurgraad: TB / EB tolerantie groot (pH 3 – 10.4).

6.3. Snelheid van aantasting

In deze paragraaf wordt een opsomming gegeven van de waargenomen snelheid van bacteriële aantasting onder laboratoriumomstandigheden en in archeologisch hout. In beide gevallen gaat het om bezaagd hout. In hoofdstuk 10 zal de snelheid van rondhout (heipalen) worden besproken en daar zal ook aangegeven worden dat bezaagd hout met een andere snelheid wordt aangetast. Dit heeft enerzijds te maken dat er veel, minder duurzaam, spinthout is weggezaagd en anderzijds dat het mogelijk makkelijker is voor bacteriën om het hout binnen te dringen.

6.3.1. Waargenomen snelle aantasting

- Eén maand nadat beuken en grenen monsters gedompeld waren in zoet water zitten er meerdere soorten koloniserende bacteriën in het hout (bewegende en niet bewegende rod-vormige, cocci, stick-like en spiraal vormige micro-organismen). Alleen rod-vormige bacteriën en de cocci veroorzaakten EB in beuken en grenen, na tien maanden ook EB en TB aantasting in grenen (Nagashima et al. 1989); Grenen blijkt gevoeliger voor EB aantasting dan beuken (Holt, 1993);
- Na 16 maanden gedompeld in water is grenen tot 20 cm onder de waterspiegel aangetast door softrot, daaronder tot 80 cm door EB en TB (Gram-negatief) en dieper alleen door EB (Nagashima et al 1990a+b);
- Na 7 weken initiële EB aantasting in beuken en grenen (30 x 10 x 10 mm) dat gedompeld is in zoet- en zoutwater; na 9 weken aantasting van de S2, na 16 weken in zoutwater aanzienlijke EB aantasting, in zoetwater zorgen softrotters voor de belangrijkste aantasting.
- In water (pH 7.41) waarin grenen, vuren, dennen, en douglas monsters liggen is na 18 maanden de hoeveelheid aërobe bacteriën 54 maal toegenomen en voor de anaërobe 65 maal. Om de monsters zit een slijmlaag en de buitenste 1-2 cellagen zijn aangetast (Courtois 1966);
- Bacteriële aantasting start bij vuren en douglas bij de middenlamel, bij grenen gaat de aantasting vanuit het celholten. Dit verschil heeft waarschijnlijk te maken met de grote

venstervormige stippels waardoor bacteriën makkelijk van de stralen naar de tracheïden kunnen komen (Courtois 1966);

- Hars heeft geen remmend effect op bacteriële aantasting (Courtois 1966).

6.3.2. Waargenomen langzame aantasting

- In een 1300 jaar oud scheepswrak (viking schip 600 AD, gemaakt van eiken en grenen) dat in zout water ligt werd met name EB aantasting waargenomen maar ook TB en softrot (Kim et al. 1996);
- In een 700 jaar oud grenen scheepswrak dat in zout water ligt werd aantasting door softrotters en EB waargenomen. Het meeste lignine was nog aanwezig (Kim 1989);
- In een 200 jaar oud scheepswrak werd aantasting waargenomen door bacteriën (Reiss & Daniel 1997);
- In een 400 jaar scheepswrak werd TB, EB, softrot aantasting waargenomen (Mouzouras et al. 1986);
- In een 900 oud scheepswrak werd EB en TB aantasting (TB in de middenlamel) en scavenging bacteriën waargenomen (Kim & Singh 1994);
- Volgens het ROB (Rijksdienst voor Oudheidkundig Bodemonderzoek afdeling scheepsarcheologie) worden de meeste scheepsrestanten op de bodem van de zee gevonden in een venige / kleiige bodem. Ligt het wrak op de zeebodem of ligt het in een zandige bodem dan is het slecht geconserveerd en dus relatief snel aangetast.

6.4. Natuurlijke biologische vijanden van bacteriën

Microfagen, bacterie specifieke virussen, zouden mogelijk ingezet kunnen worden ter bestrijding van bacteriën in hout (Ackerman & Du Bow 1987, Thompson). Van belang is echter om te weten welke bacteriesoort verantwoordelijk is voor de aantasting. Omdat fagen bacteriespecifiek zijn, vormen ze zeer waarschijnlijk geen bedreiging voor het leefmilieu van de mens. Onderzoek is echter alleen uitgevoerd op farmaceutisch niveau om een vervanging te vinden voor antibiotica.

Van Protozoën is ook bekend dat ze van bacteriën kunnen leven. Informatie om deze micro-organismen in te zetten voor de bestrijding van bacteriën is niet bekend.

6.5. Aanpassing van bacteriën onder veranderende leefomstandigheden

Onderzoek naar bacteriën wordt bemoeilijkt door het feit dat zij reageren op veranderingen in hun leefomstandigheden door verandering van hun levenscyclus: na isoleren kunnen ze bijvoorbeeld in een rustfase terecht komen waardoor ze niet uitgroeien onder laboratoriumomstandigheden; aanpassen qua vorm zodat ze op een andere groep bacteriën gaan lijken; aanpassen in fysiologie (Comethabolische processen).

6.6. Samenvatting

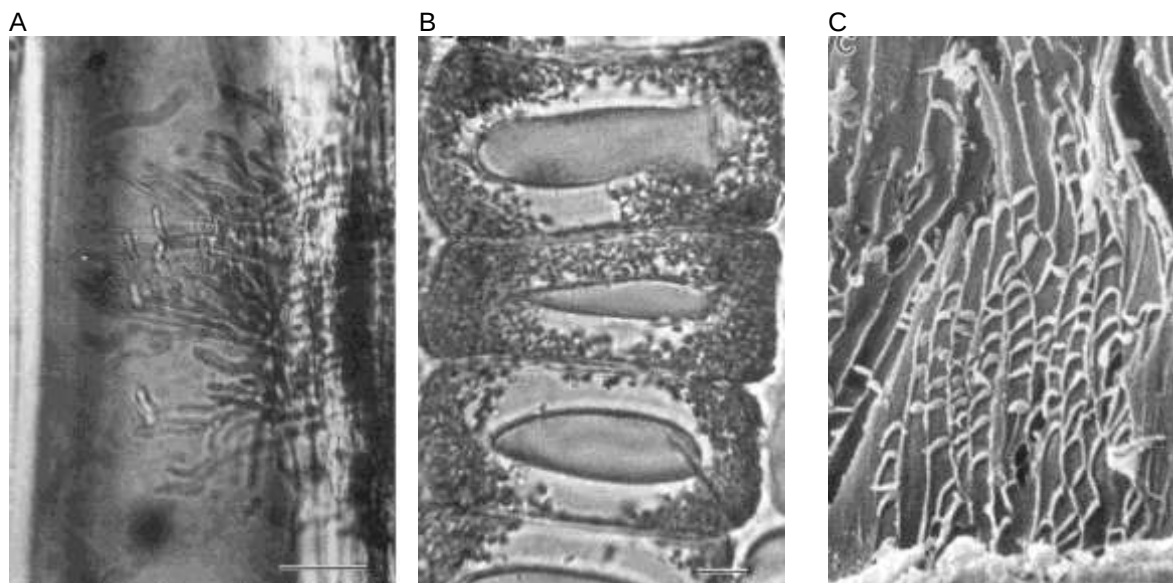
Hout kan aangetast worden door verschillende micro-organismen. Afhankelijk van de groeiomstandigheden heeft de ene levensvorm betere concurrentiekracht dan de andere. Bacteriën blijken tolerant te zijn tegen zeer lage zuurstof concentraties (met name de erosie bacteriën EB), toxische stoffen (met name de tunnelvormende bacteriën TB), hoog lignine gehalte (TB) zuurgraad en temperatuur. De slijmlaag van de bacteriën speelt een belangrijke rol bij de hoge tolerantie tegen toxische stoffen en bij de enzymatische afbraak van hout. Onder minder extreme omstandigheden komt bacteriële aantasting nauwelijks voor omdat de andere micro-organismen concurrentiekrachtiger zijn. Dit komt met name doordat het enzymstelsel van bacteriën minder agressief is dan dat van de andere micro-organismen. Bacteriële aantasting gaat dus relatief langzaam.

7. Patronen in bacteriële aantasting

Op grond van het aantastingbeeld zijn drie soorten bacteriële aantasting gedefinieerd die dus niet gekoppeld zijn aan bacteriesoorten (Venkatasamy et al. 1990, Clausen 1995, Singh 1997b, Singh & Butcher 1991; Nilssen & Daniel 1992, 1983, Nilsson et al. 1990 1992, Nilsson & Singh 1984, Blanchette et al. 1990, 1991a). Naast deze drie typen is sporadisch melding gemaakt van een typisch ander aantastingpatroon dat veroorzaakt wordt door een bacteriegroep die nauw verwant is aan de schimmels (Actinomyceten).

7.1. TB (tunnelvormende bacteriën)

Nilsson & Holt beschrijven in 1983 als eerste TB aantasting in hout in grond- en watercontact.



Figuur 7.1: Tunnelvormende bacteriën: A + B *Pinus ponderosa*
C *Picea abies*

- A: Opname met de lichtmicroscop: tunnels verspreiden zich via een plaats over de tracheïden, overlangse doorsnede;
B: Als A, maar dan een dwarse doorsnede;
C: Opname met een SCAN-microscop: tunnels die met enige regelmaat zijn afgesloten (Naar Eiksson et al. 1990).

Omschrijving van de aantasting

TB lijkt een perfecte houtaantaster te zijn omdat naast cellulose en hemicellulose ook lignine kan worden afgebroken. TB kan alle tot nu toe geteste houtsoorten afbreken ook soorten met een zeer hoge resistentie tegen schimmelaantasting. *Homalium foetidum* en *Alstonia scholaris* (houtsoorten met hoog ligninegehalte), *Eusideroxylon zwageri* (zeer rijk aan inhoudstoffen) worden aangetast. Opvallend is dat de bekleding van de stippels (ook in *Terminalia*) niet wordt aangetast. Bij naaldhout vormt CCA (koper, chroom, arseen) verduurzaming geen belemmering tegen TB aantasting.

TB aantasting is zichtbaar onder het lichtmicroscop (LM) maar niet de fijne structuur van de tunnels. Vaak verward met de aantasting door Actinomycetes.

Verloop aantasting

De bacterie hecht zich via zijn slijm laag aan het hout. Voordat de TB de celwand binnendringt wordt hij peer-vormig. De punt van de bacterie maakt een klein gaatje in de wand middels enzymen. Wanneer de bacterie halverwege de celwand is dan wordt hij rond van vorm en het gat in de celwand wordt daarmee ook groter. Wanneer de bacterie voldoende diep in de wand zit buigt hij haaks af en sluit met zijn slijm laag het gat in de S3 af.

In sommige gevallen gaat de aantasting niet vanuit de celholte maar vanuit de hofstippel en dan via de S1. Bij *Eusideroxylon zwageri* wordt dit veroorzaakt doordat de holten in de vezels gevuld zijn met inhoudstoffen die moeilijk afbreekbaar blijken voor TB. Wanneer de bacterie eenmaal in de celwand (S2) zit dan deelt deze zich snel en de nakomelingen van de eerste bacterie bewegen zich in allerlei richtingen, waardoor er een vertakte tunnelstructuur ontstaat. De tunnelstructuur is variabel en hangt mogelijk samen met de bacteriesoort. De tunnels (met name in de S2) volgen niet altijd de microfibrilaire richting van het hout. In de S1 wordt wel altijd de microfibrilaire richting gevolgd. TB kan naast de S2 ook de S1, S3 en de middenlamel binnendringen en via de celholten uit de celwand komen. De aantasting kan zo ernstig zijn dat alleen de hoek van de middenlamel (met hoogste concentratie lignine) over blijft. In het hout kruisen de verschillende tunnels elkaar nooit.

Tijdens het maken van de tunnels vindt de celwandaafbraak plaats door één bacterie vóór in de tunnel. De tunnel heeft namelijk dezelfde diameter als de bacterie; celwand in de directe omgeving van de tunnel blijft intact; en er is een duidelijke richting geïndiceerd door de concaviteit of concentrische banden die de bacterie achter zich laat. Deze banden veroorzaken een typisch patroon en bestaan voor een groot deel uit het slijmmateriaal. De tunnels zijn verder gevuld met een granulaire materiaal dat sterk variabel is. De variatie van dit materiaal wordt veroorzaakt door de verschillende typen lignine die afgebroken worden en de concentratie aan lignine in dit materiaal. Bij sterke aantasting waarbij de houtstructuur geheel samenvalt lost het granulaire materiaal op.

De slijm laag om de bacteriën heen die mogelijk over de gehele oppervlakte van de bacterie wordt geproduceerd wordt omgezet in de tunnelbandjes, het is onduidelijk hoe dit proces verloopt. Het slijm van de zijkant vormt waarschijnlijk de tunnelwand en het slijm van de voorkant vormt waarschijnlijk de tunnelbandjes. De productie van slijm heeft waarschijnlijk verschillende functies:

- 1) Voortbeweging (geen flagel);
- 2) Transport van enzymen (verpakt in vesicles)
- 3) Opslag toxische stoffen (CCA).

Het voorkomen van de tunnelbandjes hangt mogelijk samen met periodes van activiteit – inactiviteit wat een ritmisch proces is en dat het meest opvallend is bij aantasting van wandmateriaal met veel lignine. Bij afbraak van cellulose blijken de inactieve perioden veel kleiner. Volgens Nagashima et al. (1990) speelt de voor Gram-negatieve bacteriën typische dubbele membraan celwand een belangrijke rol bij het aanpassingsproces. Tijdens dit proces wordt de buitenste membraan groter en broos totdat het de voorkant van het hout aanraakt. Dan verdwijnt de fibrilaire structuur in het membraan en het membraan valt in stukjes uiteen waarmee de vesicles vrijkomen van het cytoplasma. Vesicles komen met name voor bij cellulose afbraak en veel minder bij lignine afbraak. Op dit moment ontbreekt dus het dubbele membraan systeem. Houtaantastende enzymen uit de ruimte tussen de membranen of uit de vesicles breken het hout af. Een nieuw membraan wordt in de cel gevormd en een band achter de bacterie wordt gevormd. Het nieuw ontstane tunnelstuk wordt afgedekt met het membraanmateriaal en het lijkt erop dat de band achter de bacterie moet voorkomen dat de enzymen weg diffunderen.

In celwandmateriaal, dat al is aangetast door TB, komen mixgroepen van bacteriën in het granulaire materiaal voor: secundaire aantasters. Mogelijk veroorzaken zij het oplossen van dit materiaal. Deze bacteriën zijn afwezig in gebieden met actieve aantasting. Dit zijn geen primaire aantasters (kunnen geen lignine afbreken) en zijn waarschijnlijk volledig afhankelijk van suikers.

Sommige plaatsen in de celwand hebben hogere weerstand tegen TB aantasting:

- 1) hoek van de middenlamel (zeer hoog lignine gehalte);
- 2) plaatsen met hoge concentratie inhoudstoffen: in vezels en kanalen.

Voorkomen

In archeologisch hout uit opgravingen 5500 tot 12000 jaar oud bij *Fraxinus*, *Castanea*, *Torreya*, volledige afbraak secundaire wand, met name polysachariden. S3 bij *Castanea* en *Fraxinus* minder aangetast in het kernhout.

Ecologie

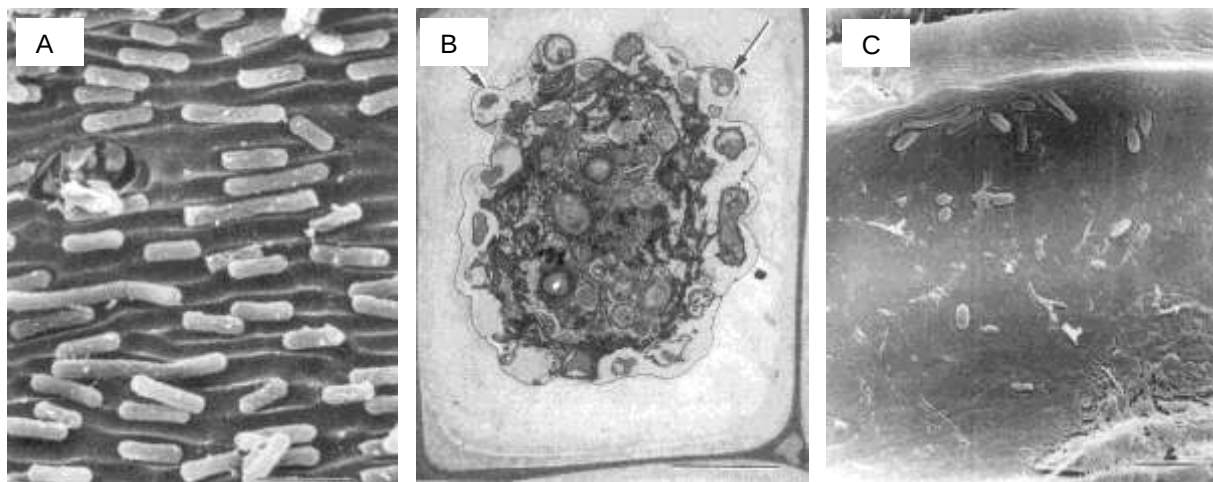
TB komt vaker voor in vruchtbare bodems. Maximum temperatuur is 40°C. Na 1-2 weken eerste aantasting in grondcontact en na 3-5 weken in watercontact. De zuurstofbehoefte is groter dan EB maar lager dan softrot. TB komt op het land en in zee voor. TB heeft een grote pH tolerantie, tast een groot aantal houtsoorten aan en verduurzaamde houtsoorten en houtsoorten met een hoge natuurlijke duurzaamheid (alle houtsoorten kunnen worden aangetast). Bacteriële aantasting in een marine omgeving komt veel voor in wrakhout (Zweden, Nieuw Zeeland, Ierland, Panama) maar is ook gezien in hout dat 5000 m onder water lag. Op deze diepte is nauwelijks zuurstof aanwezig. TB komt voor in vuren en grenen en is waarschijnlijk in het verleden vaak over het hoofd gezien.

Literatuur: Blanchette et al. (1991b); Nilsson & Holt (1983), Nagashima et al. (1990); Singh & Butcher (1991); Blanchette et al. (1990); Nilsson & Daniel (1983).

7.2. EB (Erosie bacteriën)

Voorkomen

EB komt veel voor in Nederlandse heipalen. EB kan zeer ernstige aantasting veroorzaken waardoor er een groot verlies aan sterkte van het hout ontstaat.



Figuur 7.2: Erosie bacteriën: A en B: *Betula verrucosa*, C: *Pinus monticola*.

- A: (overlangse doorsnede, lichtmicroscopische opname): staafvormige bacteriën veroorzaken door erosie van de celwand een groefvormig patroon;
- B: (kops vlak, SCAN-opname): geërodeerde celwand met duidelijke groeven (zie pijlen)
- C: (langs vlak, SCAN-opname): beginnende erosie aantasting, de bacteriën zakken als het ware in de celwand (naar Eriksson et al. 1990).

Omschrijving van de aantasting

De EB zijn korte rods en zijn vergelijkbaar met TB, maar TB heeft een rond eind terwijl EB een vlak eind heeft. EB zijn beperkt door een dubbel membraam hetgeen karakteristiek is

voor Gramnegatieve bacteriën. Het DNA is in het midden van de cel gelegen en heeft bijna dezelfde lengte als de bacterie, verder bevatten de EB granulair cytoplasma.

EB tasten zowel naald- als in loofhout aan. EB tasten met name de S2 aan, de middenlamel en de S3 blijven vaak onaangepast. Er wordt vaak delaminatie van de S1, S2 en S3 waargenomen. De aantasting loopt min of meer parallel aan de fibrillen waardoor er groeven ontstaan. Door de gezamenlijke activiteit van zeer veel bacteriën ontstaat er een min of meer egale aantasting van de celwand. De aangetaste celwand wordt omgezet tot een amorfe substantie, het zogenaamde residu materiaal, met daarin bacteriën (secondaire aantasters): prosthecaten (bacteriën met een dichte inhoud), lange filamentous en spiraalvormige bacteriën. Secondaire aantasters veroorzaken geen directe aantasting maar kunnen de aantasting bespoedigen doordat ze het residu materiaal opruimen.

Erosie bacteriën tasten in eerste instantie het laathout aan. Dit heeft als gevolg dat het hout op de jaarringrens breekt en afschaalt. Het typische verschijnsel is goed te zien bij aangetaste Nederlandse heipalen. Het vroeghout wordt in een later stadium van de aantasting ook aangetast (Grinda 1997, Boutelje & Bravery 1968). Een eerdere studie van Courtois (1966) stelde ten onrechte dat het vroeghout als eerste werd aangetast.

EB tast met name het cellulose aan en nauwelijks het lignine. Aangetoond is dat cellulose in gedelignificeerd weefsel wordt afgebroken maar ook in gelignificeerd (gezond) hout.

Enzymen zijn extracellulair of wandgebonden. Er zijn membraangebonden vesicles aanwezig wat mogelijk samenhangt met extracellulaire enzymen voor de primaire degradatie. Deze vesicles zijn ook waargenomen bij TB en andere EB studies. In de vesicles zit zowel cellulase als hemicellulase. Volgens Nagashima et al. 1990c speelt ook hier de voor Gram-negatieve typische dubbele membraan celwand een belangrijke rol. Het buitenste membraan wordt groter en broos totdat het met de voorkant het hout aanraakt. De fibrilaire structuur in het membraan verdwijnt en het membraan valt in stukjes uiteen en in ronde substanties welke zich aan het hout hechten. De enzymen die hier tussen zitten lossen het hout op. Direct nadat de buitenste membraan uiteenvalt wordt een nieuw membraan binnenin de cel gevormd.

Met het lichtmicroscop (LM) is EB moeilijk van andere type aantasting te onderscheiden. In het verleden is er veel verwarring ontstaan omdat verschillende typen aantasting door elkaar aanwezig waren en er geen goed onderscheid kon worden gemaakt. Op dit moment worden er twee type EB gehanteerd:

- 1) onregelmatige erosie-vorming van V-vormige inhammen;
- 2) stripy erosie

Aangetast hout heeft geen dubbellichtbreking meer (afbraak cellulose)

Volgens Boutelje & Bravery (1968) kleuren (bv met safranine) in coupes gebieden met aantasting sterker en zijn hierdoor te herkennen.

Verloop aantasting

De primaire besmetting lijkt via de stralen te gaan (in *Pinus radiata* worden in de stralen veel bacteriën waargenomen). Vanuit de stralen komen de bacteriën in de celholten waar ze zich ophopen. Dit verspreidingspatroon uit zich in het feit dat in de beginfase met name de tracheïden rondom de stralen zijn aangetast. Want vanuit de stralen verspreiden de bacteriën zich naar de tracheïden waar de aantasting als eerste zichtbaar is in de buurt van de stralen. Vanuit de stralen worden sommige tracheïden bereikt terwijl andere niet geïnfecteerd worden. Hierdoor ontstaat de niet homogene verdeling van de aantasting die karakteristiek is voor EB (aangetaste en gezonde tracheïden kunnen naast elkaar liggen). Via beperkte aantasting van de S3 (klein gaatje) komen de bacteriën (in groepjes of een enkele bacterie) in de S2 die dan snel wordt afgebroken. De S3 blijft ook bij sterke aantasting van de S2 lang intact. De bacteriën gaan alleen of in groepjes door de S3. Bij de aantasting van de S2 komen de bacteriën parallel aan de microfibrillen te liggen. De bacteriën blijken van vorm te kunnen veranderen om zodoende meer raakvlak met de celwand te krijgen en de aantasting te versnellen. Meestal is de aantastingrichting vanuit de S3 maar aantasting via de S1 (via de hofstippels) is ook mogelijk. Uiteindelijk wordt alles behalve de middenlamel aangetast. In een ver gevorderd stadium kan de middenlamel ook afgebroken

worden maar de sterk gelignificeerde hoeken worden niet aangetast. De S3 blijft lang intact maar wordt uiteindelijk ook afgebroken. De genoemde primaire degradatie van de celwand resulteert in een granulair amorf structuur waarin veel bacteriën zitten. Op plaatsen waar de EB niet aanwezig zijn komen andere soorten bacteriën voor, de secundaire aantasters. Deze secundaire aantasters zijn voor hun voeding volledige afhankelijk van de granulair amorf structuur. De secundaire aantasters kunnen van de volgende vormen zijn:

- 1) vacuole filamenten,
- 2) dichte filamenten;
- 3) helical filamenten.

Na EB aantasting blijft residu materiaal over. Bij EB is meer residu materiaal aanwezig met meer lignine dan bij TB wat duidt op een minder volledige afbraak van het celwandmateriaal.

Ecologie

EB aantasting komt veel voor in natte bodems en kan makkelijk onder laboratoriumomstandigheden worden gesimuleerd. Kan geïmpregneerd hout aantasten (bv *Pinus radiata* in koeltorens).

Van alle houtaantasters kunnen EB het best tegen zuurstofarme omstandigheden. Bij zeer lage zuurstofconcentraties verdwijnen als laatste van de houtaantasters de softrotters en TB en blijft EB over. Het lijkt er op dat met afnemende hoeveelheid zuurstof de hoeveelheid residumateriaal toeneemt, wat duidt op minder ver afgebroken granulair amorf materiaal, wat wijst op verminderde afbraak van lignine.

EB kan tegen temperaturen tot 70°C.

In archeologisch hout onder water is EB vaak de enige vorm van aantasting, EB is wereldwijd verspreid en gaat langzaam (1000 – 6000 jaar oud).

Literatuur: Blanchette et al. (1990); Daniel & Nilsson (1986); Singh & Butcher (1991); Singh et al. (1990-1995); Singh (1997); Kim (1996); Holt (1993).

7.3. CB (cavitation, holtevormende bacteriën)

Van de drie bacteriële aantastingspatronen is CB het minst voorkomende type en de kennis over deze vorm van aantasting is dan ook beperkt.

CB maken duidelijke holten (cavities) in de celwand in tegenstelling tot de groeven die door de EB gemaakt worden.

De cellen blijken sterk polymorphisch te zijn: ze variëren van cirkelrond tot langwerpig.

Het verloop van de aantasting

De bacteriën hechten zich aan het hout via de celomgevende slijm laag.

Door inwerking van bacteriële enzymen ontstaan er in eerste instantie kleine gaatjes in de celwand die vervolgens groter worden tot diamantvormige holten die een haakse hoek maken met de as van de tracheïden. Dit is in tegenstelling tot TB aantasting waarbij de eerste aantasting zich uit als groeven die parallel lopen aan de richting van de microfibrillen. De CB lijken enzymen te produceren die kunnen diffunderen door het hout in tegenstelling tot TB waar de enzymen aan de directe nabijheid van de celwand gekoppeld zijn.

Omschrijving aantasting

De aantasting vindt met name plaats in de S2. De S1 en S3 worden nauwelijks aangetast. Cellulose en hemicellulose wordt met name aangetast.

De diamantvormige holten komen met name voor rond de hofstippels, CB krijgen mogelijk toegang tot de S2 via de hofstippel. Het voordeel voor de bacteriën van penetratie via de hofstippels is dat ze bijna direct in de S2 zitten: de S3 hoeft niet aangetast te worden (welke door zijn hogere lignine gehalte moeilijker afbreekbaar is), verduurzamingsmiddelen die vaak in de celholten zitten worden op deze manier ook omzeild. Omdat er sterke aantasting wordt

waargenomen rond de straalcellen lijken de stralen de belangrijkste toegang te zijn voor radiale penetratie.

Voorkomen

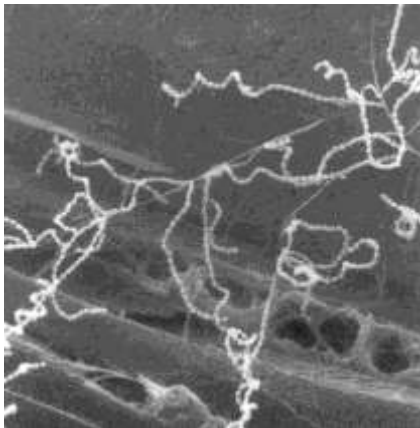
CB veroorzaakt behoorlijke aantasting in CCA geïmpregneerde grenen palen gebruikt in tuingrond in Nieuw Zeeland. CB komt voor in grenen in zoutwater al in de eerste twee maanden van onderdompeling

Ecologie

Hierover is weinig informatie bekend.

Literatuur: Nilsson & Singh (1984); Holt (1993); Blanchette et al. (1990); Singh & Butcher (1991).

7.4 Actinomyceten (filament bacteriën)



Figuur 7.3: SCAN-opname overlangse doorsnede: sporulerende *Streptomyces sparsogenes* (naar Eriksson et al. 1990).

Actinomyceten is een groep van organismen die tussen de bacteriën en schimmels in liggen. Het zijn prokaryoten net als de bacteriën maar vormen lange filamenten waardoor ze op schimmels lijken.

Hun rol in houtaantasting is nog steeds controversieel. Ze komen veel voor in bodems en worden in samenhang gezien met de afbouw van plantenresten en lignocellulose materiaal. Hoewel er veel Actinomyceten uit aangetast hout zijn geïsoleerd is nauwelijks bevestiging gevonden dat het hier om primaire aantasters gaat. Het initiëren van aantasting wordt wel gerapporteerd maar kon nooit worden herhaald. Actinomyceten kunnen wel met zekerheid niet verhout weefsel afbreken (parenchym, G-laag in trekhout).

Actinomyceten worden in verband gebracht met aantasting van met name de S2 laag van de celwand met de daarin karakteristieke kanalen van 0.5 – 3 µm in diameter. De tunnels worden gevormd door hyfen. De hyfen zijn smaller dan die van schimmels en het aantastingpatroon is atypisch voor schimmels. Er zijn veel verschillende aantastingvormen; een voorbeeld zijn de kam-achtige structuren. Hout kan blijkbaar makkelijk worden afgebroken doordat de zeer dunne hyfen goed de celwand kunnen penetreren.

Literatuur: Nilsson et al. (1990); Daniel & Nilsson (1997).

7.5 Aantasting van weinig gelignificeerde delen door bacteriën

Bacteriële activiteiten in het hout waren al eerder bekend in hout dat langdurig nat was opgeslagen. Het zogenaamde wateren van hout in sloten, doodlopende rivierarmen en meertjes is hiervan een voorbeeld of het besproeien van opgeslagen hout bovengronds. Als

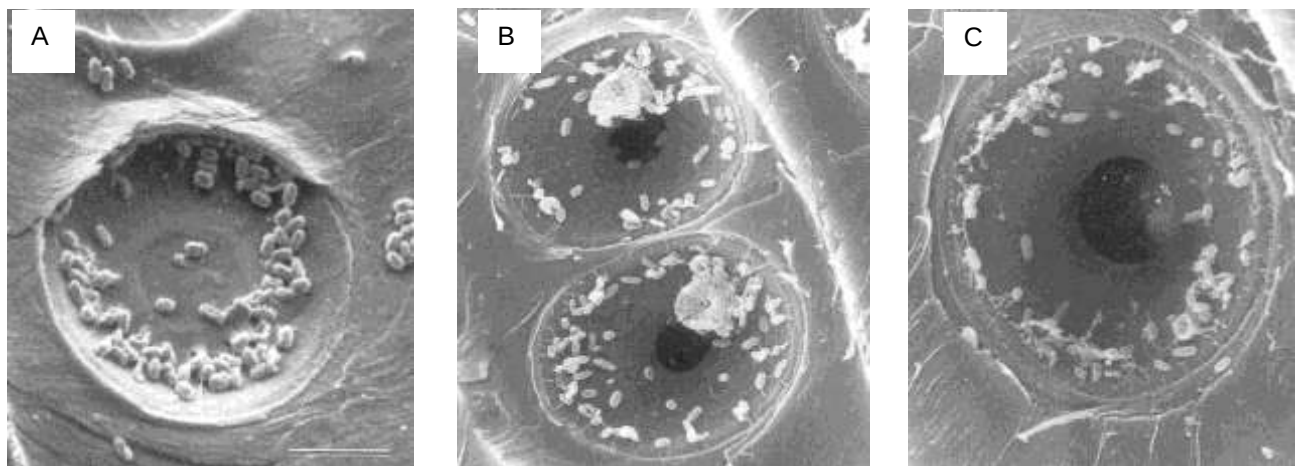
gevolg van deze opslag werd de permeabiliteit van het hout vergroot en kon er verkleuring in het hout ontstaan.

Ellwood & Ecklund deden hiernaar al in 1959 onderzoek en zij constateerden de volgende gebreken in *Ponderosa Pine* en *Sugar pine* dat in water met een pH van 6.8 en een zuurstofconcentratie van 0.0 – 0.8 ppm was opgeslagen:

- het hout geurde (zure lucht die ontstaat door organische zuren die vrij komen bij de afbraak van koolhydraten);
- nam meer verf / verduurzamingsmiddel op (zeer poreus spinhout, alleen aangetast parenchym staafvormige bacteriën aanwezig);
- gaf blaarvorming bij afwerking.

Bij een afname van de hoeveelheid bacteriën in het water (verversing) nam de mate van aantasting af. Bij een pH < 3 of > 10.5 was er ook geen aantasting. Er werden indicaties gevonden dat er bacteriële besmetting in de levende boom aanwezig was, *Bacterium polymyxa* werd als mogelijke aantaster aangemerkt.

Uit later onderzoek kwam naar voren dat alleen de niet gelignificeerde delen worden aangetast zoals het parenchym, de stralen en de stippelmembranen, dat het hout nauwelijks aan sterkte verliest en dat dit fenomeen al na enige weken opslag kan ontstaan. (Daniel & Nilsson 1997, Banks & Dearling 1973, Blanchette et al. 1990, Jutte 1971, Line 1975: vond na 2 weken dat de margo (stippelmembraan) was afgebroken. Hij oppert het idee dat dit in samenwerking moet zijn gebeurd met stikstof-bindende bacteriën.



Figuur 7.4: (SCAN-opname) afbraak van het stippelmembraan in hofstippels door bacteriën van *Picea abies* en *Bacillus macerans* (A) en *Pinus monticola* (B en C). In C zijn de restanten van de torus te zien en ophoping van bacteriën in de hofstippel (naar Eriksson et al. 1990).

Liese & Greaves (1975) melden dat in naaldhout spinhout-straal-stippel-membranen makkelijk kunnen worden aangetast door bacteriën die pectine en cellulose afbreken, soms wordt zelfs de pectinerijke parenchymcelwand aangetast. In de tracheïden kunnen de tori (m.n. pectine) en margo (m.n. cellulose) worden aangetast. De mate waarin is houtsoortafhankelijk: de tori van grenen worden sneller aangetast dan die van vuren en zeker dan die van dennen. Met name in douglas en hemlock zitten veel aromatische componenten in het stippelmembraan die de aantasting tegenhouden. In de aantasting van stippels door bacteriën zijn drie typen te onderscheiden:

1. Aantasting van de aperturerand door bacteriën komend uit de hofkamer en celholte;
2. Accumulatie bacteriën bij de torus en aperture bij gesloten torus. (komt weinig voor);
3. Celwandaantasting vanuit de hofkamer (meest voorkomend).

Schmidt & Liese (1994) vonden nog een tweede verschijnsel als gevolg van bacteriële aantasting namelijk verkleuring tijdens opslag. Ilomba (*Pycnanthus angolensis*) verkleurt door de bacterie *Pseudomonas fragi*: pH wordt door de bacterie verhoogd van 5.5 naar 7.5-8.5 door het afscheiden van ammonia. Het meer alkalisch milieu veroorzaakt een chemische reactie wat een verkleuring van het hout tot gevolg heeft. Er zijn ook verkleuringen waargenomen in beuken en esdoorn door besmetting met *Pseudomonas* soorten.

7.6. Houtkoloniserende bacteriën

Als gevolg van activiteiten van andere micro-organismen kunnen er bacteriën in het hout komen, die leven van afvalproductie van de zogenaamde primaire aantasters. Er kunnen ook bacteriën in het hout komen, die leven van opgeslagen voedingsstoffen (zetmeel, suiker). Deze bacteriën kunnen zelfs al in de levende boom aanwezig zijn.

7.7. Samenvatting

In hout kunnen primaire en secundaire houtaantastende en houtkoloniserende bacteriën voorkomen. Houtkoloniserende bacteriën veroorzaken geen aantasting maar leven alleen van inhoudstoffen in het hout. Secundaire aantasters leven van het residumateriaal wat ontstaat na primaire aantasting. Bij de primaire aantasting van hout door bacteriën kunnen drie hoofdpatronen worden onderscheiden, waarvan tunnelvormende bacteriële aantasting (TB) en erosie bacteriële aantasting (EB) de belangrijkste zijn. Beide patronen zijn duidelijk herkenbaar onder het microscoop. TB wordt als ideale houtaantaster beschouwd omdat de bacteriën die dit patroon veroorzaken alle verschillende houttypen kunnen afbreken (duurzaam en verduurzaamd hout). TB hebben echter een lagere tolerantie voor ongunstige omstandigheden dan EB welke al voor kan komen bij zeer lage zuurstofconcentraties en hoge temperaturen. De snelheid van EB aantasting is echter erg laag.

8. Bacteriën isoleren uit hout

Bacteriën die in hout kunnen voorkomen kunnen in drie groepen worden onderverdeeld:

- Primaire aantasters (bacteriën die de intacte celwand kunnen afbreken);
- Secondaire aantasters (bacteriën die residu celwandmateriaal, ontstaan na primaire aantasting, verder kunnen afbreken);
- Koloniseerders (bacteriën die slechts in het hout aanwezig zijn en geen afbraak van celwanden of inhoudstoffen veroorzaken).

Om bacteriële aantasting te kunnen vaststellen wordt naar het aantastingpatroon gekeken en door isolatie uit hout met een bacterieel aantastingspatroon kunnen de bacteriën geïdentificeerd worden. Om te controleren of de geïsoleerde bacteriën primaire aantasters van hout zijn moet met deze bacteriën aantasting geïnitieerd kunnen worden in gezond hout. Dit is tot op heden niet gelukt (Holt et al. 1979, Schmidt & Liese, 1994; Singh et al., 1990, Greaves 1970, Schmidt & Dietrichs, 1976). Met een in situ mix van niet geïdentificeerde bacteriën is wel aantasting in hout geïnitieerd. Doordat het nog steeds niet gelukt is om de enkele bacteriën uit de mix te isoleren en te identificeren is het onderzoek naar de eigenschappen van houtaantastende bacteriën geblokkeerd (Courtois 1966, Blanchette et al. 1990).

8.1. Isolatie technieken

8.1.1. Traditioneel

Bij het isoleren van bacteriën uit hout worden kleine stukjes hout op een voedingsbodem gelegd die vooraf gesteriliseerd zijn, bijvoorbeeld door ze met een vlam te behandelen en daarna te splijten. Omdat de voedingsbodems bacteriespecifiek (bv Gram-negatief) kunnen zijn, bepaalt de keuze van de voedingsbodem min of meer welke bacterie kan uitgroeien. Er worden altijd kolonies van meerdere bacteriesoorten gevonden. Het isoleren van de kolonies leidde tot op heden steeds tot afsterven van de kolonies.

8.1.2. Isoleren met membraanfilters

TB (tunnelvormende bacteriën) zijn verschillende keren fysisch gescheiden van de rest van de aanwezige bacteriën (secondaire aantasters/ koloniseerders) in het hout. Op aangetast hout werd hiertoe cellophaan (25 µm dik) geplaatst. Hierin groeiden de bacteriën (TB patroon in cellophaan). De isolaties (kleine stukjes cellophaan) konden echter niet overgezet worden op een voedingsbodem (Nilsson & Daniel 1992).

Houtcoupes met een specifiek aantastingbeeld (Actinomyceten) zijn in steriel water gelegd (toevoeging 250 mg/l delovocid). Na 2-20 uur zijn de coupes op een membraanfilter (poriëngrootte 0,2 µm) op een agarbodem geplaatst. Na 5 – 10 dagen waren de bacteriën door het membraan gegroeid en zichtbaar op de voedingsbodem als kleine kolonies. Met deze kolonies is al na vier weken aantasting veroorzaakt in de houtsoort grenen en *Alstonia*. (Nilsson et al. 1990).

8.1.3. Herbesmetting

Enkele voorbeelden van gemelde herbesmetting:

- Singh, et al 1987 melden dat een bacterie-mix verkregen uit aangetaste CCA geïmpregneerd grenenpalen was geënt op twee houtsoorten met een hoog lignine gehalte (*Alstonia scholaris* en *Homalium foetidum*). Na drie maanden bij 22°C werd TB waargenomen, eerst aantasting van de S2 dan de S1 en uiteindelijk ook de middenlamel;
- Baecker et al. (1984) melden dat *Streptomyces* soorten (Actinomyceten) die uit grenen geïsoleerd waren cavities veroorzaakten in linden en 12% gewichtsverlies.

- Nilsson et al. (1990) melden dat een niet geïdentificeerde Actinomycete EB aantasting veroorzaakt in berken;
- Schmidt & Liese (1994) melden aantasting in grenen onder absoluut zuurstofloze omstandigheden door een enkele bacterie die uit houtchips geïsoleerd was. Deze melding is echter in strijd met de huidige opvatting;
- Schmidt & Liese (1982) hebben 66 bacterie-stammen gebruikt om aantasting in hout te initiëren, dit lukte echter niet. Alleen niet gelignificeerde delen konden worden aangetast zoals het stippelmembraan.
- Nilssen & Daniel (1983) melden dat geen pure cultures beschikbaar zijn om TB te initiëren, dit kan alleen met een mix van bacteriën.

8.2 Uit hout geïsoleerde bacteriën

Hieronder staat een lijst weergegeven van bacteriesoorten die ooit uit aangetast hout zijn geïsoleerd. Achter elke soort is met een of meer nummers aangegeven in welke literatuurreferentie de bacteriën zijn opgegeven. Een verklaring van de nummers is onder aan de lijst gegeven. De bacteriën zijn ingedeeld volgens Schlegel (1995) op Gram-kleuring, vorm (staaf- of cocvormig), sporenvormend, en zuurstofbehoefte (aëroob of anaëroob). Van geen van deze bacteriesoorten is echter bekend of deze in rondhout aantasting van de celwand kunnen veroorzaken behalve dan van enkele Actinomyceten.

8.2.1. Gram-positief, cocvormig

AËROOB

Micrococcus luteus. (4)
Micrococcus roseus. (3)
Staphylococcus aureus (4)

8.2.2. Gram-negatief, cocvormig

AËROOB

Acinetobacter spp. (3)
Acinetobacter calcoaceticus (4)
Aeromonas aerogenes (4)
Aeromonas hydrophila (4)

8.2.3. Gram-positief, staafvormig, Corynevormige en Actinomyceten

AËROOB

Actinomyces spp. (*Actinomyces* (7) opm. uit 2500 jaar oud hout uit archeologische opgraving)
Arthrobacter paraffineus (4)
Arthrobacter spp. (2, 4, 13)
Cellulomonas flavigena (4)
Cellulomonas spp. (4,5)
Corynebacterium michiganense (4)
Micromonospora chalcea (4)
Micromonospora spp. (2, 12, 13, 19)
Nocardia autotrophica (4)
Nocardia cellulans (4)
Nocardia erythropolis (4)
Streptomyces cellulose (4)
Streptomyces griseus (1,6 opm. uit CCA hout)
Streptomyces olivaceus (4)
Streptomyces violaceoniger (1,6 opm. produceert antifungicide, competitie vrije nutriënten; uit CCA hout)
Streptomyces xanthochromogenus (19)
Streptomyces spp. (19)

8.2.4. Gram-positief, endosporen vormend, pleomorf (staaf- / cocvormige) bacteriën

AËROOB

Bacillus badius (3)
Bacillus brevis (4)
Bacillus cereus (3, 4, 5, 13)
Bacillus circulans (3, 4)
Bacillus firmus (3)
Bacillus licheniformis (4)
Bacillus macerans (4,5)
Bacillus megaterium (4, 5)
Bacillus mesentericus (4)
Bacillus polymyxa (4, 5)
Bacillus pumilus (3, 4, 9)
Bacillus subtilis (1, 4, 5, 6 opm. o.a. uit CCA hout)
Bacillus spp. (1, 2, 4, 7, 8*, 12 opm. uit 2500 jaar oud hout uit archeologische opgraving; uit nat opgeslagen hout)

ANAËROOB

Clostridium thermocellum (14)
Clostridium spp. (2, 3, 7, 8*, 9, 13 opm. uit 2500 jaar oud hout uit archeologische opgraving; uit nat opgeslagen hout)

8.2.5. Gram-negatief, pleomorf (staaf- / cocvormige) bacteriën

AËROOB

Agrobacterium (15)
Alcaligenes eutrophus (4)
Alcaligenes faecalis (1, 3, opm. o.a. CCA hout)
Alcaligenes spp. (3,4,17)
Cellvibrio vulgaris (4, 10, 18)
Pseudomonas aeruginosa (1, 4, 6, 13* opm. o.a. uit CCA hout)
Pseudomonas acidovorans (3, 17)
Pseudomonas alcaligenes (17)
Pseudomonas arvilla (4)
Pseudomonas aureofaciens (17)
Pseudomonas cepacia (3)
Pseudomonas fluorescens (3, 4, 9, 11*)
Pseudomonas fragi (11*)
Pseudomonas mallei (3)
Pseudomonas maltophilia (3)
Pseudomonas pseudomallei (3)
Pseudomonas putida (3, 4, 11*)
Pseudomonas stutzeri (3)
Pseudomonas spp. A (3)
Pseudomonas spp. B (3)
Pseudomonas spp. (1, 2, 13*)
Xanthobacter autotrophicus (4, 17)
Xanthobacter flavus (17)
Xanthomonas pelargonii (4)

8.2.6. Gram-negatieve. facultatief anaërobe staafvormige bacteriën

FACULTATIEF ANAËROOB

Enterobacter amnigenus (11*)
Erwina carotovora (5)
Escherichia coli (12, = E.coli veel voorkomend ook in menselijke darmen)
Serratia marcescens (4)

8.2.7. Gram-negatieve gebogen, gedraaide vormen

AëROOB

Spirillum spp. (2, 3)

8.2.8. Gram-negatieve “gliding” bacteriën

AëROOB

Sporocytophaga myxococcoides (10, 18)

8.2.9. Rest

Gram-positief rest onbekend

Aureobacterium luteolum (16)

Gram-negatief, anaërobe

Bacteroides succinogenes (14)

Strikt anaërobe (zuurstof is giftig)

Chromobacterium violaceum (3)

Staafvormig, facultatief anaëroob

Flavobacterium solare (3)

Flavobacterium spp. (2, 3, 5)

Niets bekend

Plectridium spp. (2, 13*)

In het overzicht zijn de volgende referenties gebruikt: 1: Greaves (1970); 2: Drift & Rijsdijk (1978); 3: Eslyn & Clark (1976); 4: Schmidt & Liese (1982); 5: Schmidt (1980); 6: Schmidt et al. (1987); 7: Wazny (1968); 8: Schmidt & Dietrichs (1976); 9: Eslyn & Moore (1984); 10: Holt et al. (1979); 11: Stuurman & De Jong (1995); 12: Harmsen & Nissen (1965); 13: Boutelje & Goransson (1975); 14: Daniel (1994); 15: Tiedemann et al. (1977); 16: Schmidt et al. (1995) / Schmidt (1995); 17: Line (1997); 18: Holt & Jones (1978); 19: Nilsson et al. (1990). Van de nummers met een asterisk is bekend dat het om funderingshout ging.

Op grond van bovenstaande lijst van bacteriën moet op basis van onderstaande argumenten er van worden uitgegaan dat de houtaantaster niet in de lijsten genoemd wordt. Bij het opstellen van de argumenten is de relatie houtaantasters aerobe-activiteit en morfologie in ogenschouw genomen. De restgroep is hierbij buiten beschouwing gelaten.

1. Wanneer de aantasting aëroob zou zijn dan staan de aantasters genoemd onder punt 8.2.2, 8.2.5, 8.2.6 of 8.2.8. Het lijkt echter onduidelijk of de aantaster aëroob is, gezien het milieu waarin de aantasting plaats vindt.
2. Wanneer de aantasting anaërobe is dan staat de aantaster er niet bij of staat in 8.2.6. De in 8.2.6. genoemde bacteriën zijn echter veel voorkomend en hebben geen specialisme voor houtaantasting. Hierdoor is het onwaarschijnlijk dat de aantaster er bij staat.
3. Gezien het feit dat slechts 3 studies over heipalen gaan kunnen alle andere geïsoleerde bacteriën op een andere manier in het hout zijn gekomen.

Daniel & Nilsson (1997) wijzen erop dat geen van de bacteriën ooit uit hout geïsoleerd met EB of TB aantasting voldoen aan de anatomische kenmerken zoals waargenomen met de microscoop (lichtmicroscopisch en elektronenmicroscopische waarnemingen). Eerder somden zij al (Daniel & Nilsson, 1985) de kenmerken op van TB:

- Motiel (geen flagel toch de mogelijkheid van voortbeweging);
- Extracellulair slijm;
- Gram-negatief;

- Sporen vormend;
- Kan lignocellulose en cellulose vezels afbreken;
- Is herkend door het aantastingspatroon op land en in water.

Al deze kenmerken wijzen in de richting van “Gliding Bacteria” dit zijn bacteriën die in de strikt aerobe chemoheterotrofe motile groep van de Myxobacterie thuishoren, in de Cytophaga-groep met de geslachten *Cytophaga* en *Sporocytophaga* (beide bekende cellulose afbrekers). Verder komt volgens hen het weinig bekende geslacht *Nevskia* (Gram-negatief, motile, produceert hyaline, heeft dichotome vertakte uitstulpingen) in aanmerking.

8.3. Geïsoleerde bacteriën uit levende bomen

In levende bomen blijken ook bacteriën voor te komen. Deze komen van nature voor of worden door infectie ingebracht. Deze bacteriën veroorzaken dan met name schade aan de weinig gelignificeerde delen van het hout zoals de stippelmembranen en het parenchymatische weefsel. Enkele voorbeelden van geïsoleerde bacteriën uit levende bomen:

- Kobayashi et al. vonden in een door hen geïnfecteerde boom (*Cryptomeria japonica*) met *Pseudomonas* spp., *Bacillus* spp. *Staphylococcus* spp. geen afbraak van de celwanden maar wel aantasting van de hofstippel- en kruisvlakstippel-membranen na 6 maanden. De aantasting had plaats gevonden rondom de stam en tot 3 meter boven het infectiepunt.
- Tiedemann et al. (1977) isoleerde bacteriën (*Acinetobacter* spp. *Agrobacterium* spp., *Erwinia* spp., *Xanthomonas* spp.) uit een levende populier. De bacteriën kwamen door de hele stam voor. De aantasting was met name in de stippelmembranen (waardoor een natte kern ontstaat); ook enige aantasting van andere celwandcomponenten (pectine, hemicellulose, holocellulose). Alfacellulose en lignine werden niet afgebroken.

8.4. Invloed van nutriënten op de bacterië-samenstelling

Naast de al genoemde componenten is stikstof bij houtaantastende micro-organismen een beperkende factor. Stikstof is een belangrijke component bij de aanmaak van eiwitten die als basis dienen voor allerlei enzymatische activiteiten en celopbouw. Een stikstoftekort kan leiden tot groeiremming of activiteitenstop. Vrije stikstof uit de lucht (N₂) kan hiervoor niet gebruikt worden. Opneembare stikstof kan vrijkomen door afbraak van organisch materiaal (hout) of kan worden geproduceerd door stikstofbindende bacteriën die de vrije stikstof uit de lucht fixeren. Hout heeft van nature typisch een hoge C/N verhouding, waardoor bij aantasting stikstof al snel beperkend wordt. De koolstof wordt gebruikt voor de assimilatie van de houtaantasters. De combinatie met stikstofbindende bacteriën is dus voordelig voor de aantasting (Line 1997). Om redenen van stikstoftekort kunnen celwanden van micro-organismen dienen als belangrijke stikstofbron voor micro-organismen die hout koloniseren (Tsuneda & Thorn 1994).

Hendrickson (1991) meldt dat aangetast hout een hogere C/N verhouding heeft dan gezond hout. Dit bemoeilijkt aantasting maar is een ideale habitat voor stikstofbindende bacteriën (zoals *Bacillus* spp.; *Clostridium* spp.). Het is onduidelijk of deze bacteriën betrokken zijn bij houtafbraak. Het lijkt erop dat de stikstoffixatie-activiteit hoog is bij witrotaantasting en laag is bij bruinrotaantasting in naaldhout. De stikstofbindende bacteriën spelen waarschijnlijk een rol bij de afbraak van residu-materiaal in hout. Baines & Millbank (1978) suggereren ook al dat er een relatie is tussen stikstoffixatie en aantasting in hout. Line (1997) heeft in houten pijpleidingen die bacterieel waren aangetast, stikstofbindende bacteriën (*Alcaligenes* en *Pseudomonas*) gevonden die creosoot als C-bron gebruikten.

Enkele andere belangrijke nutriënten voor eiwitvorming zijn fosfor (P) en sulfur (S); ook het aanbod van deze stoffen moet voldoende zijn.

8.5. Samenvatting

Omdat het moeilijk is om primaire houtaantastende bacteriën te scheiden van andere in het hout voorkomende bacteriën en omdat houtaantasting waarschijnlijk wordt veroorzaakt door een mengcultuur van bacteriën is het tot op dit moment niet mogelijk geweest om de houtaantastende bacteriën te isoleren, te identificeren en met een reincultuur nieuwe aantasting te initiëren. Van de tot nu toe geïsoleerde en geïdentificeerde bacteriesoorten uit aangetast hout blijken de meeste niet als primaire houtaantaster te kunnen worden aangemerkt omdat ze een afwijkende morfologie hebben. Op dit moment worden de “Gliding Bacteria” en het geslacht *Nevskia* als meest waarschijnlijke houtaantasters gezien. Verder onderzoek naar de fysiologische eigenschappen van de houtaantastende bacteriën is geblokkeerd totdat de identiteit van deze bacteriën duidelijk wordt.

9. Inventarisatie funderingsinspectiegegevens

9.1 Methode

9.1.1. Inleiding

Het doel van de inventarisatie van onderzoeksgegevens bij de verschillende onderzoeksbureaus is het verkrijgen van een beeld van de geografische spreiding van het vóórkomen van aangetaste houten paalfunderingen waarvan de aantasting niet ontstaan is als gevolg van droogstand. Daarnaast is onderzocht of op basis van de op dit moment beschikbare gegevens aantastingverschillen in verschillende regio's te herkennen zijn.

Door het grootschalig funderingsonderzoek in Haarlem is door een aantal onderzoeksbureaus in samenwerking met de VNG een onderzoeksprotocol voor de uitvoering van een funderingsinspectie opgesteld. Houtsoortbepaling heeft hiermee een vaste plaats in funderingsonderzoek gekregen. Bij bijna al het funderingsonderzoek van voor medio 1996 is de houtsoort niet vastgesteld.

Bij de onderzoeksbureaus (TNO-Bouw, Fugro, IFCO, SHR en Wareco) is ten behoeve van deze inventarisatie een verzoek tot informatie neergelegd. Het vragenformulier, met toelichting voor de beantwoording, is in bijlage II opgenomen. Via relaties zijn ook nog enkele vragenformulieren van andere, niet direct betrokken, onderzoeksbureaus verkregen. Opgemerkt moet worden dat door de beperking van de onderzoeksgegevensbronnen en het feit dat nagenoeg in alle gevallen onderzoek pas is uitgevoerd indien daar aanleiding toe bestond de inventarisatie niet compleet kan zijn en zeker ook niet a-select gekozen is. Naast bovenstaande beperkingen van de inventarisatie is de mate van openbaarheid essentieel voor het beschikbaar stellen van gegevens. Besloten is om projectgegevens uitsluitend op postcode aan te leveren voor deze inventarisatie. Voor het weergeven van gegevens is in verband met de mogelijk privacy gevoelige informatie van verschillende projecten besloten om slechts de eerste twee cijfers van de postcode te benutten.

De vragen op het formulier zijn niet alleen op bacteriële schade gericht geweest. Ook is getracht een indruk te krijgen van droogstandschade bij paalfunderingen. Hierover wordt in het onderzoek van VROM 1999 gerapporteerd.

9.1.2. Gegevens

Er zijn in totaal 1258, al dan niet volledig ingevulde formulieren voor deze inventarisatie ter beschikking gesteld. Aanvullend zijn de recentelijke gegevens van Zaanstad (onderzoek 1999) toegevoegd.

De betrokken bureaus hebben alle onderzoeken waarbij houtsoortbepaling in het laboratorium heeft plaatsgevonden voor dit onderzoek beschikbaar gesteld, natuurlijk binnen de privacy randvoorwaarde. Dit betreft veelal het meest recente funderingsonderzoek. Van, vaak wat ouder funderingsonderzoek, is door de betreffende bureaus een selectie gemaakt. Bij deze selectie is gepoogd een evenwichtige spreiding van onderzoeksgegevens uit de desbetreffende bureaugegevens te bewerkstelligen.

Bij een deel van de projectgegevens is, zoals gezegd de houtsoort niet bepaald en daarnaast bleken ook prikgegevens en diameter gegevens niet altijd beschikbaar. Met betrekking tot de schadeoorzaak is vaak een eindconclusie van het totale onderzoek aangegeven.

In de ingevulde formulieren waren gegevens opgenomen van 3680 palen en van driekwart van deze palen waren ook prikgegevens (frankslaghardheidsmeter) bekend en daarmee bruikbaar voor de inventarisatie (zie tabel 9.1). Voor het onderzoek naar bacteriële aantasting zijn dié palen genegeerd waarbij de schadeoorzaak (zoals aangegeven op het formulier) droogstand was.

Opgemerkt moet worden dat hoewel alle onderzoeksgegevens waarbij droogstand is waargenomen buiten de analyses van dit onderzoek zijn gehouden, er tussen de gegevens waarbij geen informatie bekend was over de schadeoorzaak, palen met droogstandschade kunnen zitten. Deze onzekere factor kan de uitkomsten van dit onderzoek iets vertroebelen.

Uit de laboratoriumanalyses van alle gegevens blijkt dat in circa 25% van de gevallen de houtsoort niet bekend was, in circa 50% van de gevallen werden grenen palen en in circa 20% vuren palen aangetroffen. Andere aangetroffen houtsoorten waren lariks, dennen en loofhout.

Tabel 9.1 geeft een totaaloverzicht van alle onderzochte palen (inclusief droogstand). Per postcodegebied zijn de verschillende houtsoorten weergegeven die als heipaal zijn gebruikt. Dit betreft gegevens van palen waar, onafhankelijk van schadeonderzoek, prikgegevens van bekend zijn.

aangetroffen houtsoort per postcodegebied met prikgegevens								
postcode- gebied	plaats	houtsoort						totaal
		grenen	vuren	dennen	rest naaldhout	loofhout	onbekend	
10	Amsterdam	29	19	5			348	401
11	Amstelveen/ Volendam		7				12	19
13	Weesp						4	4
14	Uithoorn/ Purmerend	4					16	20
15	Zaanstad	584	72				67	723
17	Den Helder	1						1
20	Haarlem	751	110				83	944
23	Leiden		2					2
25	Den Haag	7	8				38	53
26	Delft	4	2					6
27	Bloemendaal / Gouda Waddinxveen	2	93				12	107
28	Gouda	129	160				25	314
29	Nieuw Lekkerland	6	12			2	1	21
30	Rotterdam	1	15				18	34
33	Dordrecht	21	35		2		30	88
34	Woerden						1	1
36	Maarssen	4					1	5
52	Boxtel	4						4
56	Eindhoven	4					4	8
69	Diemen	1	3					4
85	Joure						4	4
Eindtotaal		1552	538	5	2	2	664	2763

Tabel 9.1: Houtsoorten overzicht van onderzochte heipalen.

9.2 Resultaten

Omdat verondersteld wordt dat bacteriële aantasting vaker voorkomt bij grenen palen dan bij vuren palen, zijn de resultaten uitgesplitst naar houtsoort.

Het totaaloverzicht, ongeacht de houtsoort (inclusief loofhout en andere naaldhoutsoorten dan vuren en grenen), van de aantasting van houten palen in Nederland is weergegeven in bijlage III van dit rapport.

9.2.1. Spreiding grenen palen in Nederland

In figuur 9.1 staat aangegeven waar in Nederland grenenhouten funderingspalen zijn gevonden.



Figuur 9.1. Locaties waar greenhouten funderingspalen zijn gevonden.

Postcodegebied	Plaats	aantal vuren palen	aantal grenen palen
10	Amsterdam	18	16
14	Purmerend		4
15	Zaanstad	56	505
20	Haarlem	107	731
25	s Gravenhage	4	4
26	Delft		4
27	Waddinxveen	67	2
28	Gouda	139	126
29	Nieuw Lekkerland	12	6
30	Rotterdam	8	1
33	Dordrecht	22	21
36	Maarssen		4
52	Boxtel		4
56	Eindhoven		4
69	Diemen	3	1

Tabel 9.2. Aanwezigheid van grenen en vuren palen in een aantal goed onderzochte Nederlandse steden, waarbij geen sprake was van droogstand.

In tabel 9.2 is een lijst met postcodegebieden (vertaald naar namen van gemeenten) opgenomen met het aantal paalgegevens per gemeente. De gemeentenaam is afgeleid uit de eerste twee cijfers van de postcode.

Duidelijk komt uit de tabel naar voren dat een grote verscheidenheid aan gegevensdichtheid aanwezig is. In een aantal gemeenten (Zaanstad, Haarlem, Gouda en Dordrecht) zijn veel tot zeer veel gegevens beschikbaar. In de andere gemeenten zijn slechts weinig gegevens beschikbaar. Deze spreiding in hoeveelheid gegevens wordt uitsluitend veroorzaakt door de hoeveelheid onderzoek met houtsoortbepaling die op die plaatsen is uitgevoerd.

9.2.2. Aantasting vuren en grenenhout en regionale verschillen in aantasting

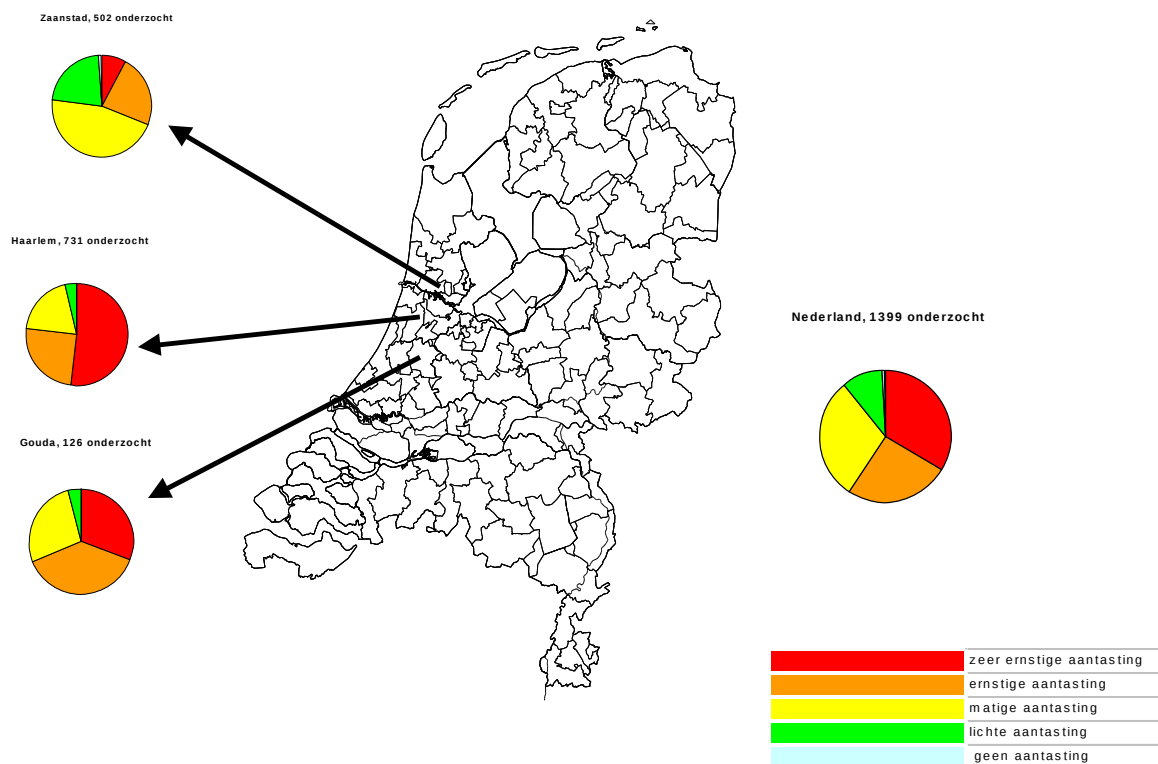
Het verschil in bacteriële aantasting tussen vuren en grenen is aan de hand van de inventarisatie gegevens onderzocht. Teneinde mogelijke aantastingverschillen tussen regio's te ontdekken zijn de gegevens van postcodegebieden waar veel gegevens beschikbaar zijn, nader geanalyseerd.

Interpretatie van gegevens heeft plaatsgevonden op basis van gemeten indrukkingen met de slaghardheidsmeter. De definitie voor de mate van aantasting die hierbij gehanteerd is staat weergegeven in tabel 9.3.

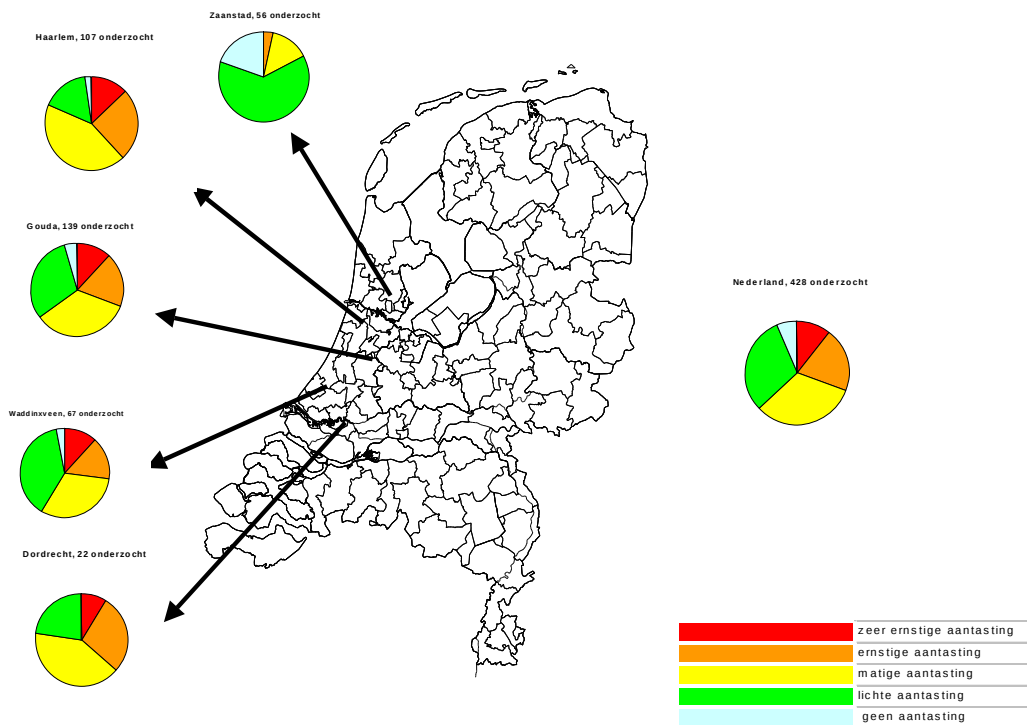
Indrukking	Omschrijving
Groter dan 35 mm	zeer ernstige aantasting
Kleiner dan 35 mm	ernstige aantasting
Kleiner dan 20 mm	matige aantasting
Kleiner dan 10 mm	lichte aantasting
Kleiner dan 5 mm	geen aantasting

Tabel 9.3. Definities ter interpretatie van slaghardheidsmetingen

In de figuren 9.2 en 9.3 zijn de gegevens van vuren en grenen palen landelijk en per regio grafisch weergegeven. Alleen voor postcodegebieden waar een redelijke hoeveelheid paalgegevens (>21) voorhanden waren is een dergelijke regionale presentatie opgesteld (3 regio's voor grenen en 5 voor vuren). In de tabellen 9.4 en 9.5 zijn de achterliggende gegevens opgenomen waarbij overigens ook de resultaten van de indeling voor de postcodegebieden met een gering aantal gegevens zijn vermeld.



Figuur 9.2. Landelijk en regionaal overzicht van de mate van bacteriële aantasting in grenen heipaalkoppen.



Figuur 9.3. Landelijk en regionaal overzicht van de mate van bacteriële aantasting in vuren heipaalkoppen.

Aantasting van grenen palen in Nederland

postcode gebied	plaats	aantasting					aantal
		zeer ernstig	ernstig	matig	licht	geen	
10	Amsterdam	44%	13%	44%	0%	0%	16
14	Purmerend	100%	0%	0%	0%	0%	4
15	Zaandam	9%	20%	48%	23%	1%	319
0	Zaanstad	24%	36%	22%	18%	0%	45
0	Koog aan de Zaan	1%	31%	35%	28%	4%	93
0	Zaandijk	0%	18%	73%	9%	0%	45
15	Zaanstad	8%	23%	46%	22%	1%	502
20	Haarlem	52%	25%	19%	4%	0%	731
26	Delft	0%	25%	25%	25%	25%	4
27	Waddinxveen	50%	50%	0%	0%	0%	2
28	Gouda	31%	37%	28%	4%	0%	126
29	Kinderdijk	50%	50%	0%	0%	0%	4
30	Rotterdam	0%	0%	100%	0%	0%	1
33	Dordrecht	25%	25%	50%	0%	0%	4
36	Maarsen	0%	0%	0%	25%	75%	4
69	Diemen	0%	100%	0%	0%	0%	1
Eindtotaal	Nederland	34%	26%	30%	10%	1%	1399

Tabel 9.4: Overzicht van de mate van aantasting in grenen heipalen, deze gegevens zijn gebruikt om figuur 9.1 op te stellen.

Aantasting van vuren palen in Nederland

postcode gebied	plaats	aantasting					aantal
		zeer ernstig	ernstig	matig	licht	geen	
10	Amsterdam	22%	50%	22%	6%	0%	18
15	Zaandam	0%	2%	12%	67%	19%	43
0	Koog aan de Zaan	0%	8%	25%	42%	25%	12
0	Zaandijk	0%	0%	0%	100%	0%	1
15	Zaanstad	0%	4%	14%	63%	20%	56
20	Haarlem	13%	25%	43%	17%	2%	107
25	Den Haag	0%	0%	0%	0%	100%	4
27	Waddinxveen	12%	15%	31%	39%	3%	67
28	Gouda	12%	19%	34%	31%	4%	139
29	Kinderdijk	20%	60%	0%	20%	0%	5
0	Nieuw Lekkerland	0%	0%	0%	100%	0%	1
29	Nieuw Lekkerland	17%	50%	0%	33%	0%	6
30	Rotterdam	0%	0%	0%	100%	0%	4
33	Dordrecht	9%	27%	41%	23%	0%	22
69	Diemen	33%	67%	0%	0%	0%	3
23	Leiden	0%	0%	0%	0%	100%	2
Eindtotaal	Nederland	11%	20%	32%	31%	6%	428

Tabel 9.5: Overzicht van de mate van aantasting in vuren heipalen, deze gegevens zijn gebruikt om figuur 9.2 op te stellen.

Uit de figuren 9.2 en 9.3 blijkt dat de onderzochte vuren palen in circa 30 % van de gevallen zeer ernstig tot ernstig bacterieel zijn aangetast. De onderzochte grenen palen zijn vaker ernstiger aangetast (circa 55% van de palen zijn ernstig tot zeer ernstige aangetast).

Als de drie regio's die voor grenen zijn onderzocht vergeleken worden op het percentage zeer ernstig aangetast palen dan lijkt Haarlem een hoog percentage (circa 50 %), Zaanstad een duidelijk laag (8%) en Gouda een gemiddeld percentage (31%) te bezitten. Eenzelfde verhouding tussen de drie gemeenten wordt gevonden wanneer de categorieën "zeer ernstig" en "ernstig" worden samengevoegd. Het samenvoegen van de categorieën lijkt gerechtvaardigd omdat de gepresenteerde indeling (tabel 9.3) arbitrair is en veldinterpretaties vaak op een grovere schaal zijn gedaan. Gezien het grote verschil in hoeveelheid onderliggende gegevens tussen de verschillende gemeenten en het niet a-selecte karakter van de gegevens binnen de gemeenten, is het opstellen van specifieke

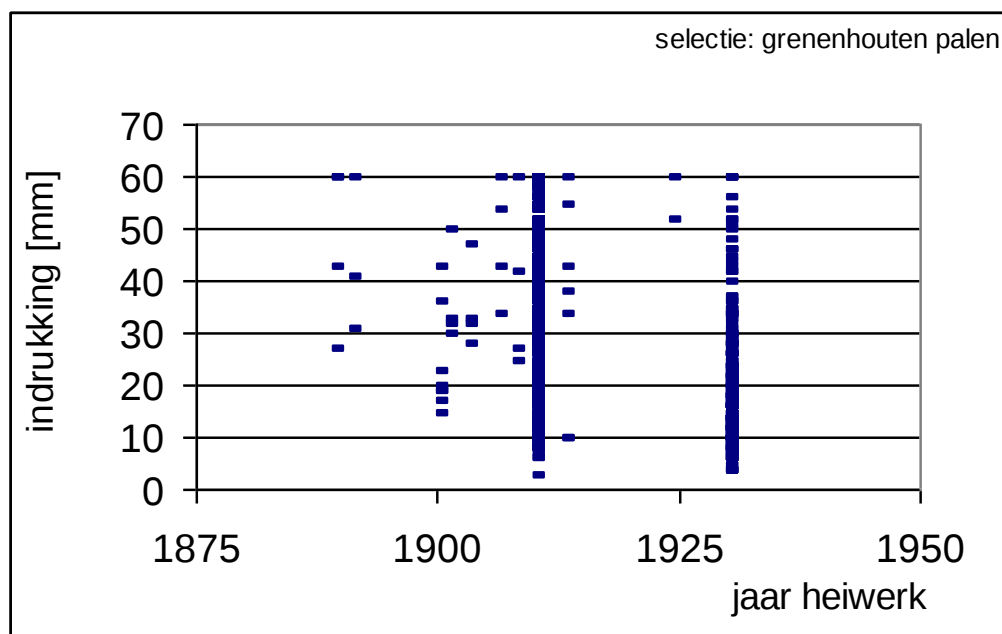
conclusies over het ontstaan van regionale verschillen in aantasting bij grenenhouten heipalen zeer moeilijk.

Als de gemeenten voor de vuren houten palen vergeleken worden op het percentage aangetaste palen lijken na het samenvoegen van “zeer ernstig en ernstig aangetast”, de verschillen tussen gemeenten klein. Geconcludeerd moet worden dat regionale verschillen bij aantasting van vuren houten palen op basis van dit onderzoek niet waarneembaar zijn.

Hoewel de spreiding binnen een regio van palen met en zonder aantasting om praktische redenen niet in een kaartje is weergegeven, moet worden opgemerkt dat goede en slechte palen naast elkaar kunnen voorkomen. Het second opinion onderzoek van IFCO geeft hiervan een voorbeeld. Onder een huizenblok (twee woningen) worden naast elkaar op een afstand van 10 meter palen met zeer ernstige, ernstige, matige en lichte aantasting gevonden.

9.2.3 Relatie leeftijd en aantasting paal

Een van opgevraagde gegevens betrof het, in veel gevallen geschatte, bouwjaar van de fundering. Er is een analyse uitgevoerd naar een relatie tussen mate van aantasting en ouderdom van de palen. In figuur 9.4 zijn de resultaten weergegeven en duidelijk is de dominatie van de twee uitvoerig onderzochte gemeenten (twee verticale lijnen voor Haarlem en Zaanstad). Hierdoor geeft de figuur een vertekend beeld van de overall situatie en algemene conclusies over een aantastingsnelheid kunnen niet getrokken worden. Wanneer we ervan uitgaan dat de voorwaarden voor bacteriële aantasting in Haarlem en Zaanstad gelijk zijn dan zien we dat in 20 jaar (de onderzochte woningen in Haarlem zijn circa 20 jaar ouder dan de onderzochte woningen in Zaanstad) de aantasting van de palen sterk toeneemt. Dit geldt zowel voor de grenen (31 – 77%) als voor de vuren palen (4 – 38%). Deze interpretatie van de gegevens is zeer speculatief omdat hierbij geen rekening wordt gehouden met de voor de aantasting waarschijnlijk cruciale regionale omgevingsfactoren. Wat op grond van deze vergelijking (Haarlem – Zaanstad) wel kan worden geconcludeerd is dat de potentiële maximale aantasting in Zaanstad nog niet bereikt is en dat in 70 tot 90 jaar binnen de Nederlandse situatie ernstige aantasting van grenen palen verwacht zou kunnen worden. De situatie voor bacteriële aantasting bij vuren heipalen is binnen dit tijdsbestek niet alarmerend.



Figuur 9.4. Relatie ouderdom heiwerk en mate van aantasting.

9.3 Conclusies en discussie

- Grenen palen blijken veel gevoeliger voor bacteriële aantasting dan vuren palen. Hierbij moet nog worden opgemerkt dat het vermoeden bestaat dat bij de gegevens van vuren palen die in deze analyse zijn meegenomen toch nog paalgegevens zijn betrokken die betrekking hebben op droogstandschade. Informatie hierover was echter niet terug te vinden. Hierdoor zou de situatie voor vuren palen met betrekking tot bacteriële aantasting in werkelijkheid beter zijn dan hier weergegeven.
- Het percentage toegepaste grenen palen lijkt in gebieden met een ondiepe draagkrachtige zandlaag hoger te zijn dan in gebieden met zo'n laag op grotere diepte. Het gebruik van grenen palen blijkt echter niet beperkt te zijn tot gebieden met ondiepere funderingszandlagen (Haarlem en Zaandam).
- Alle onderzochte palen, zowel vuren als grenen, zijn in meer of mindere mate bacterieel aangetast.
- Er is geen algemene relatie gevonden tussen de mate van aantasting en de leeftijd van het heiwerk. Het lijkt er echter op dat binnen de Nederlandse situatie in 70 tot 90 jaar ernstige aantasting van grenen palen verwacht kan worden. De situatie voor bacteriële aantasting van vuren heipalen is binnen dit tijdsbestek niet alarmerend.

Op basis van de op dit moment beschikbare gegevens is geen verantwoord onderscheid in mate van aantasting over verschillende regio's te herkennen. Binnen één regio blijken "ernstige en minder ernstige" aangetaste palen naast elkaar voorkomen. Dit verdelingspatroon van aantasting lijkt erop te wijzen dat aantasting door verschillen op lokale schaal worden beïnvloed.

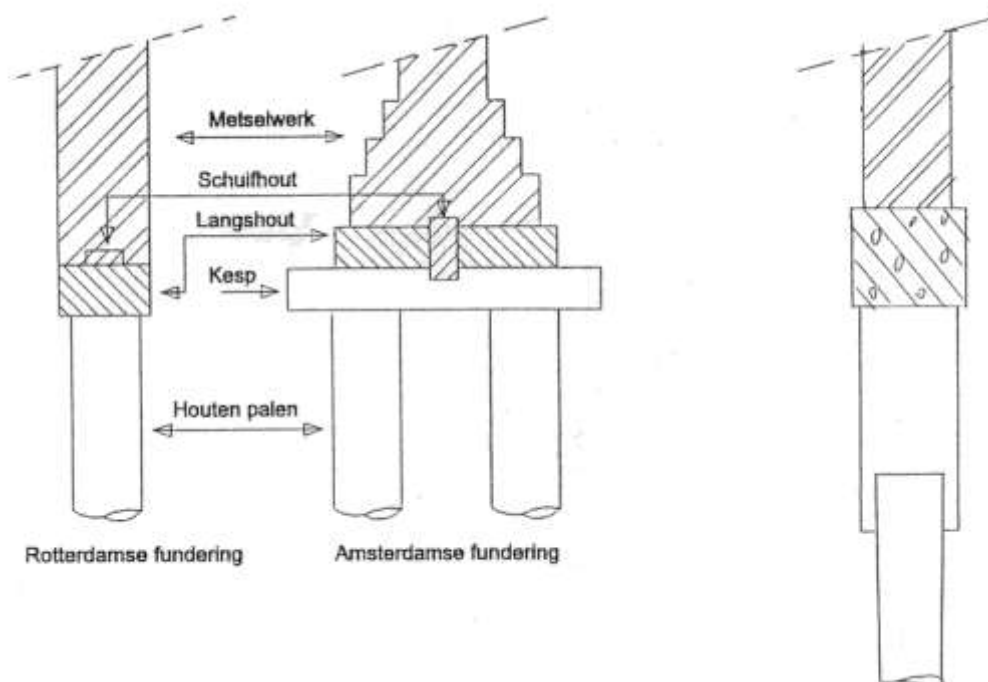
Op basis van de gegevens van projecten tot nu toe kan nog geen volledig en zeker beeld over de schaal van de houten palen problematiek worden afgeleid. Ook de spreiding is niet volledig in beeld gebracht. Sinds het manifest worden van de palen problematiek (met name grenen) is eenvoudigweg nog te weinig feitelijk en bruikbaar onderzoek verricht (onderzoek volgens het protocol). Sinds kort worden funderingsinspecties gestandaardiseerd uitgevoerd en derhalve is het zinnig om over enige jaren opnieuw een inventarisatie uit te voeren waardoor een vollediger en zekerder beeld van de omvang van de problematiek kan worden verkregen.

10. Paalonderzoek

10.1. Algemeen

In Nederland worden al honderden jaren lang houten paalfunderingen toegepast. De zogenaamde korte spekpalen of slieten zijn in het verre verleden veel toegepast als bodemverdichting ("kleefpalen"). De langere palen (tot 23 m lengte) zijn vanaf de 2^e helft van de 17^e eeuw toegepast om bouwwerken te funderen op stevigere en diepere zandlagen ("op stuit" geheid).

Uiteindelijk ontwikkelden de funderingstypen zich in grote lijnen tot de Amsterdamse en de Rotterdamse paalfundering (zie figuur 10.1). Na de invoering van beton als bouw materiaal (ca.1920), worden betonoplagers op de houten palen gezet die er voor moeten zorgen dat de paalkoppen onder het grondwaterniveau komen te liggen. Hierdoor was langs (kesp) hout niet meer nodig. Op de houten paal wordt nu een betonoplanger gezet die ervoor zorgt dat de paalkop ruim onder het grondwaterniveau komt te liggen.

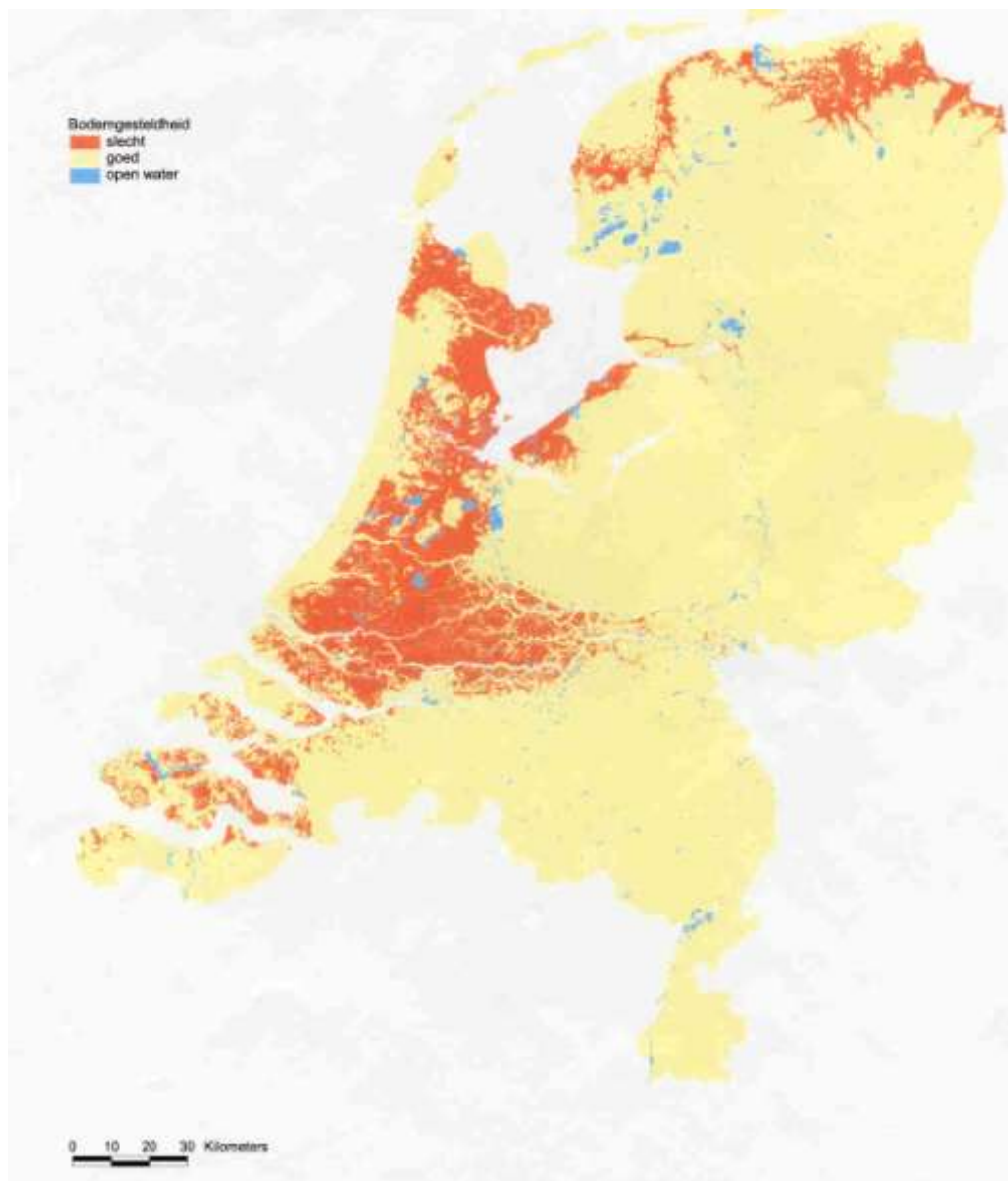


Figuur 10.1. Links: twee veel gebruikte funderingstypen; rechts: houten palen met betonnen oplanger (H. Keijer Fugro).

Figuur 10.2 geeft een overzicht van de gebieden met slappe bodems waar palen toegepast zouden moeten worden.

Hout kan alleen als funderingsmateriaal worden gebruikt wanneer de houten delen nooit boven het grondwaterniveau komen te liggen. De houten delen moeten dus dieper zijn aangebracht dan de laagst voorkomende grondwaterstand. In deze situatie is het funderingshout altijd waterverzadigd en is het omgeven door water waardoor er nauwelijks zuurstof bij het hout kan komen. Het is gebleken dat onder deze omstandigheden geen schimmelaantasting optreedt. Komt een waterverzadigde paalkop echter boven het grondwaterniveau te liggen dan kan via de lucht enige zuurstof worden aangevoerd en is softrotaantasting (schimmel) mogelijk. Alle andere vormen van schimmelaantasting hebben een grotere zuurstofbehoefte en komen dan ook niet voor bij funderingshout in de bodem boven het grondwaterniveau. Softrotschimmels kunnen hout onder bepaalde omstandigheden snel afbreken en droogstand is daarmee fataal voor een houten paalfundering (VROM 1999). Met (bacteriële) aantasting onder water, in een mate die van invloed is op het draagvermogen van de fundering, is eigenlijk nooit rekening gehouden.

Houten paalfunderingen zijn dan ook op grote schaal toegepast. Het feit dat veel historische panden al eeuwen lang zonder zakkingsverschijnselen staan, bevestigen overigens de duurzaamheid van veel houten funderingen.



Figuur 10.2. Bodemgesteldheid van Nederland (vereenvoudigde versie van “Maatstaf Bodemgesteldheid” gemaakt in 1997 in opdracht van het Ministerie van BZ door NITG-TNO, afd. Geo-Infrastructuur). Op deze kaart wordt de grond in Nederland onderverdeeld in de twee hoofdcategorieën “goede grond” en “slechte grond”. Onder slechte grond wordt verstaan een minimaal 5 meter dik aaneengesloten pakket holocene klei- en of veenlagen dat zich binnen 8 meter onder het maaiveld bevindt. Twee categorieën zijn aangegeven (rood voor slechte grond en geel voor goede grond), aangezien het aanwezig zijn van klei- en veenlagen in de ondergrond bepalend is voor het gebruik van heipalen, geeft de categorie slechte bodemgesteldheid een goede indicatie voor de aanwezigheid van heipalen.

10.1.1. Kwantitatief gebruik van houten heipalen

Kort na de tweede wereld oorlog werden er in Nederland jaarlijks 180.000 palen geïmporteerd (gegevens Fugro ingenieursbureau). Over het gebruik van grenen palen vóór de tweede wereld oorlog zijn geen gegevens in de literatuur aangetroffen. Uit funderingsonderzoeksgegevens blijkt dat in deze periode veel grenen palen zijn toegepast. Veldhuyzen (1963) heeft in de vijftiger jaren 88 handelaren geënquêteerd om de handel in heipalen in beeld te brengen. In tabel 10.1 is een samenvatting gegeven uit het werk van Veldhuyzen van de handel in houten heipalen over de jaren 1959 tot en met 1961. Er wordt onderscheid gemaakt tussen inlandse palen en importpalen. De inlandse palen bestonden toen voor ruim 90% uit grenen en de importpalen grotendeels uit vuren. Kortere palen (< 8 m) bleken hoofdzakelijk inlandse palen te zijn en langere palen (< 13 m) hoofdzakelijk importpalen.

Lengteklasse	1959			1960			1961		
	inlands	import	totaal	inlands	import	totaal	inlands	import	totaal
5- 8 meter	80093	3032	83125	71187	3247	74434	64455	1089	65544
8-11 meter	33171	43970	77141	38614	41659	80273	38058	58175	96233
11-13 meter	10207	74513	84720	12875	65903	78778	8980	78351	87331
13 m en op	157	127831	127988	738	156569	157307	176	191404	191580
Totaal	123628	249346	372974	123414	267378	390792	111669	329019	440688

Tabel 10.1. Overzicht van de handel in houten heipalen (in aantallen) in de jaren 1959 – 1961 (overgenomen uit Veldhuyzen 1963).

Samenvattend kan gezegd worden dat rond 1960 er jaarlijks circa 400.000 palen gebruikt werden (21.000 m³ inlandse palen: 5-13 meter lang en 81.000 m³ buitenlandse palen). Volgens Bosch (1965) bestond in de jaren 60 het houtsoortenassortiment uit douglas, lariks, grove den, Oostenrijkse en Corsicaanse den en fijnspar. Bosch bevestigt de houtsoortverdeling zoals die door Veldhuyzen wordt voorgesteld namelijk circa 20% van de heipalen was grenen, 57% was vuren en 23% was lariks. Volgens opgave van de Nederlandse Vereniging van heipalen leveranciers is in 1997 circa 80.000 m³ hout (correspondeert met circa 270.000 palen) als heipaal gebruikt. Het aandeel Nederlands hout hierin is ongeveer 40% (32.000 m³). Van alle palen is 70% vuren (met doormenging van dennen) omdat deze houtsoort de rechtste en langste paal levert. De overige 30% bestaat uit douglas en lariks. Het buitenlandse paalhout komt met name uit Duitsland en België. In de periode 1989 – 1997 is de omzet van houten heipalen in de woningbouw en utiliteitsbouw met circa 20% gedaald. In tabel 10.2 staat het verloop van het paalgebruik nog eens weergegeven (gegevens van 1971 - 1982 zijn verkregen via Fugro ingenieursbureau):

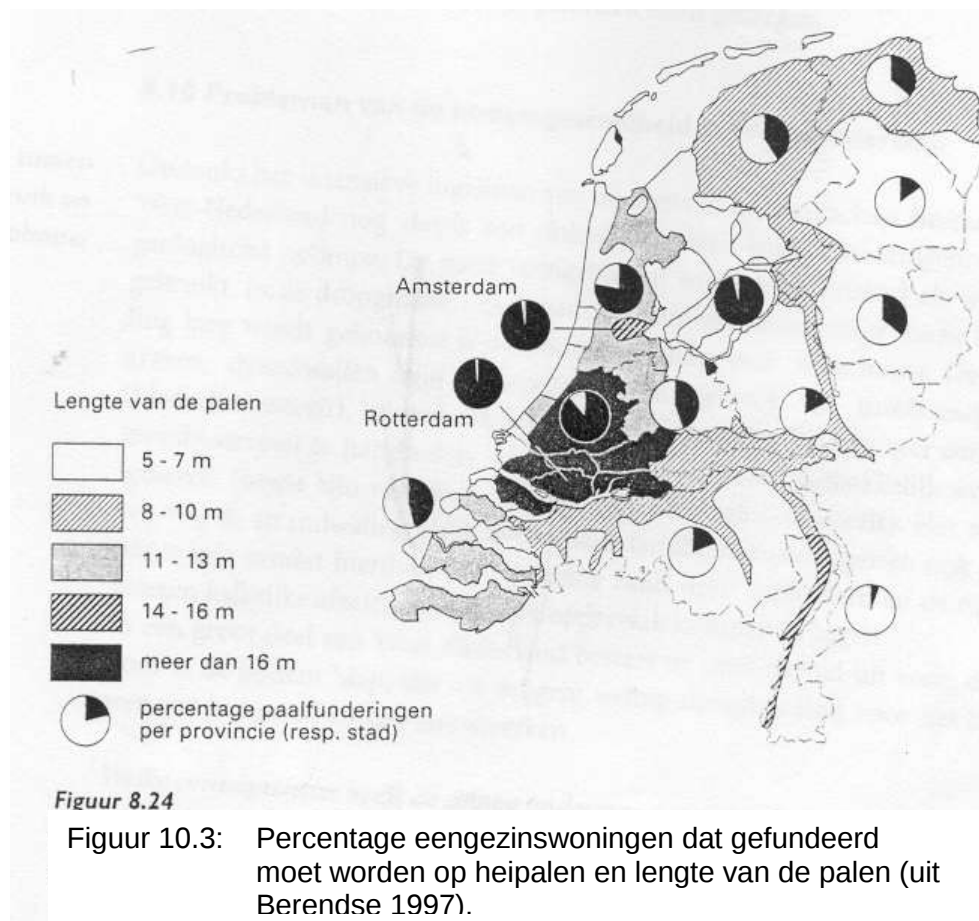
periode	aantal gebruikte heipalen
kort na WO II	180.000 (alleen import)
jaren 60	400.000
71 – 77	350.000
78 – 81	150.000
82	73.000
97	270.000

Tabel 10.2. Overzicht van het gebruik van houten heipalen in de periode na de tweede wereld oorlog.

De toepassing van houten funderingspalen is op dit moment beperkt tot de kleinere projecten in de woningbouw, waarbij hout door de kleinschaligheid en de geringere paalbelasting goedkoper is. Door de noodzaak van het toepassen van betonnen oplangers worden houten palen om economische redenen niet meer toegepast bij kortere palen (< 10 meter). In situaties waarbij geen oplanger hoeft te worden gebruikt en een lage paalbelasting aanwezig

is (bijvoorbeeld bij rioleringen die onder het grondwaterniveau liggen) is een houten paalfundering financieel voordeliger dan een betonnen paalfundering. Verder worden houten palen nog steeds gebruikt bij de bouw van kassen, in waterwerken en beschoeiingen. De toepassing vindt met name in Noord en Zuid Holland plaats.

De heipaallengten per gebied verschillen sterk.



De gangbare benamingen van paalassortimenten waren zelfs gekoppeld aan de namen van steden waarin ze veel werden toegepast (zie tabel 10.3). De figuren 10.3 en 10.4 geven een globale indruk van de bodemgesteldheid van West Nederland waaruit blijkt wat de globaal benodigde paallengte is voor de gebieden waar gefundeerd wordt in de pleistocene lagen: Amsterdam, Gouda, en Rotterdam of voor gebieden die op holocene afzettingen zijn gefundeerd: Zaanstad (meestal Wadafzettingen) en Haarlem (strandwalzand).

Benodigde paallengte per gemeente	
Gemeente	paallengte
Rotterdam	16 – 23 m
Amsterdam	12 – 14 m
Gouda	10 – 15 m
Zaandam	7 – 9 m
Groningen	3 – 12 m
Haarlem	2 – 5 m
Den Haag	2 – 5 m

Tabel 10.3. Benodigde paallengte per gemeente (referentie Fugro).

10.1.2. Problemen met grenen

In de BRL 2302 “Houten Heipalen” wordt verwezen naar de NEN 5491 “Kwaliteitseisen voor hout (KVH 1980) Heipalen – europees naaldhout” en hierin staat aangegeven dat lariks,

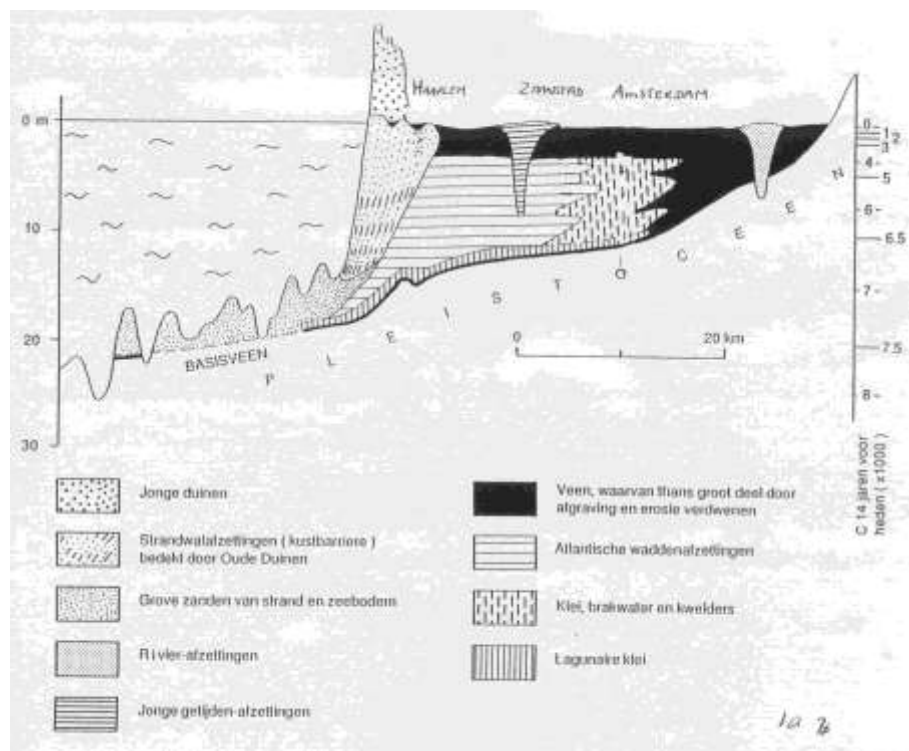
vuren, dennen en douglas mag worden toegepast. Grenen staat hierin niet vermeld en het is aldus verboden om grenen onder KOMO certificaat toe te passen. De NEN 5491 dateert van april 1983 en zeker sinds die tijd is grenen dus verboden. Dit verbod is gebaseerd op de indruk dat het spinthout van grenen veel gevoeliger is voor aantasting die onder water plaatsvindt dan het spinthout van andere houtsoorten. Bovendien wordt ervan uitgegaan dat met name grenen altijd een dikke spintlaag heeft.

Het is bekend dat grenen palen een erg dikke spintlaag kunnen hebben (> 60 jaarringen breed) maar het is verder ook bekend dat de breedte van de spintrand in grenen erg variabel is en dus ook relatief smal kan zijn (<12 jaarringen breed). Gemiddeld genomen is de spintrand van lariks en douglas relatief smal. De spintrand van vuren onderscheidt zich visueel en chemisch niet of nauwelijks van het kernhout en het is derhalve dan ook moeilijk om een indruk te krijgen van de breedte ervan.

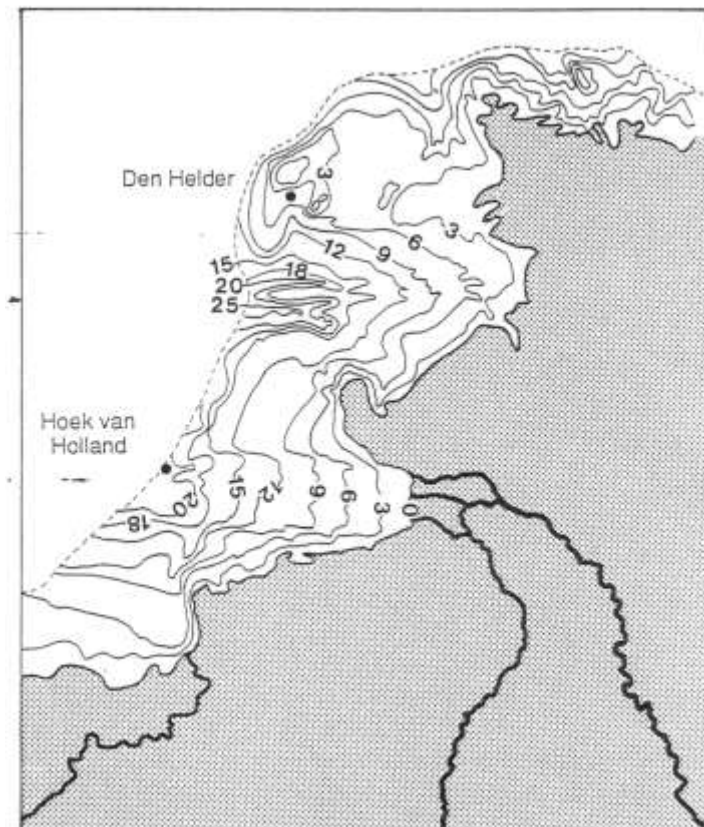
De problemen met grenen palen in Nederland zijn in 1931 al door Wijnperse beschreven. Op diverse plaatsen, die hij echter niet precies aangeeft, heeft hij gezien dat het grenenspint in heipalen al binnen 50 jaar wegrot.

Er worden verschillende redenen genoemd waarom er in een regio specifiek gebruik is van bepaalde houtsoorten als heipaal:

- 1) In de jaren 60 waren de uit Nederland afkomstige grenen palen goedkoper dan het buitenlandse hout (vuren, lariks en douglas). Dit zou een overweging kunnen zijn geweest om voor grenen palen te kiezen. De Nederlandse grenen palen waren niet in de langere afmetingen te verkrijgen zodat grenen met name toegepast is in gebieden waar de zandlaag niet al te diep lag, zie onderstaande tabel. Dit zou een verklaring kunnen zijn voor het feit dat in gebieden met een diepere zandlaag met name fijnspar palen zijn toegepast;
- 2) De toenmalige bestekken waren niet houtsoort specifiek en houtsoortkeus was afhankelijk van de voorkeur van de hoofdverantwoordelijken.



Figuur 10.4. Globale doorsnede van West Nederland met de diepteligging van de pleistocene zandlaag waarin gefundeerd wordt. Fundering is ook mogelijk op de holocene lagen zoals jonge duinen, strandwal, grove zanden, rivierafzetting en Atlantische waddenafzetting (uit Grondboor en Hamer november 1991).



Figuur 10.5. Diepteligging van pleistocene zandige afzettingen. Gestippeld is hoger dan 0 m NAP, individuele lijnen geven het niveau onder 0 m NAP aan (uit Grondboor en Hamer november 1991).

10.1.3. Ervaring funderingsbureaus

Uit de ervaringen van funderingsbureaus blijkt dat paalkoppen die in zandige bodems staan meer zijn aangetast door bacteriën dan palen die volledig in veenachtige bodems staan. Ook is er de ervaring dat palen over de hele lengte bacterieel aangetast kunnen zijn ook wanneer ze volledig in veen staan.

In de Nederlandse heipalen wordt bijna uitsluitend EB aantasting gevonden. De aantasting varieert van een smalle rand (< 15 mm) van matig aangetast hout tot sterke aantasting van 60 jaar oude palen waarbij aan de kop tot 90% van het hout volledig is weggerot en waarbij de aantasting tot in de paalpunt doorloopt (Klaassen & Homan 1998 - 1999).

10.2. Veen in relatie tot bacteriële groei en activiteit

De reden dat heipalen worden gebruikt is de aanwezigheid van slappe veen- en kleilagen in de ondergrond. Deze bieden onvoldoende draagkracht voor bouwwerken aan het oppervlak (zie paragraaf 10.1). De heipalen worden gefundeerd in diepere zandlagen, enerzijds holocene zandlagen of, indien deze afwezig zijn, pleistocene zandlagen. Dit betekent dat de heipalen vaak één of meerdere veenlagen doorkruisen. Dit hoofdstuk beschrijft voor veen een aantal eigenschappen in relatie tot de groei en activiteit van bacteriën.

Veen als humusvorm wordt gekenmerkt door het feit dat in het milieu waarin het is ontstaan de afbraakprocessen sterk vertraagd verliepen. Hierdoor bestaat veen voor een groot deel uit plantenresten, die veelal met het blote oog duidelijk herkenbaar zijn en botanisch geïdentificeerd kunnen worden. Daarnaast zijn er homogene deeltjes zonder duidelijke vorm (amorfe humus) aanwezig.

Veen is voor bodemkundigen tevens de benaming voor de organische stofklasse waarbij het organische stofgehalte boven de 35 a 70% stijgt.

De veenlagen in de ondergrond van West- en Noord Nederland bevatten dus veel organisch materiaal. Deze grote hoeveelheid gereduceerd organisch materiaal zorgt ervoor dat alle opgeloste zuurstof die de veenlaag bereikt, gebruikt wordt voor de oxidatie (afbraak) ervan. Daardoor is er in de veenlaag dus sprake van een anaëroob (zuurstofloos) milieu. In het grondwater in de veenlaag is veel opgeloste organische koolstof (DOC) aanwezig. Tevens komen kleine hoeveelheden nutriënten zoals stikstof, fosfor en zwavel bij de afbraak vrij in het grondwater. Deze nutriënten kunnen weer worden gebruikt door bacteriën, die van organisch materiaal leven waarin deze stoffen beperkt aanwezig zijn. De afbraak van organisch materiaal, die langzaam in veen plaatsvindt, en de daarbij vrijkomende nutriënten, kunnen dus een stimulans zijn voor de groei en activiteit van bacteriën die hieraan een tekort hebben.

Vanwege het anaerobe milieu zijn de bacteriën (facultatief) anaëroob. Dit type bacteriën is vanwege gebrek aan zuurstof voor hun energievoorziening aangewezen op alternatieve elektronacceptoren, zoals nitraat, Fe[III], sulfaat.

Vanwege de grote hoeveelheden organisch materiaal en opgeloste koolstof zullen de bacteriën heterotroof van karakter zijn, d.w.z. dat ze organische moleculen als koolstof- en energiebron gebruiken.

Voor de groei en activiteit van de in het veen voorkomende bacteriën zijn nutriënten en elektronacceptoren noodzakelijk. Het nutriënt koolstof is er in overvloed, de nutriënten stikstof, fosfor en zwavel zijn in mindere mate voorhanden. De nutriënten stikstof en fosfor zouden voor groei en activiteit beperkend kunnen zijn (zie ook paragraaf 8.5). Volgens Ghiorse en Wilson (1988) is het minder aannemelijk dat ook zwavel beperkend is. Alternatieve elektronacceptoren zijn eveneens beperkt voorhanden en door het hoge gehalte aan organisch materiaal en opgeloste koolstof zullen deze snel worden gebruikt voor oxidatieprocessen. Aanvoer van elektronacceptoren via het grondwater zal in de praktijk langzaam verlopen.

Het bovenstaande impliceert dat wanneer er een verhoogde aanvoer van deze stoffen zou zijn, bv. als gevolg van een organische verontreiniging, dat de groei en activiteit van bacteriën die van nature voorkomen, zou kunnen toenemen. Lekkende rioleringen zouden een dergelijke stimulans kunnen zijn.

10.2.1 Conclusies

Door de grote hoeveelheid gereduceerd organisch materiaal is er in veen sprake van een zuurstofloos milieu. De nutriënten stikstof en fosfor zijn beperkt voorhanden evenals alternatieve electronacceptoren zoals nitraat en sulfaat. Aanvoer van deze beperkende stoffen naar het leefmilieu van bacteriën door lekkende rioleringen, zou een stimulans in de bacteriële groei en activiteit kunnen betekenen.

10.3 Invloed van riolen

Uit verschillende onderzoeken blijkt dat het vermoeden bestaat dat riolen op grote schaal lekken (Darwinkel et al., 1997; Rauch en Stegner, 1996). In het onderzoek van Darwinkel et al. wordt geconcludeerd dat met name lekkage blijkt op te treden in rioolbuizen die zijn aangelegd vóór 1960. Tevens is het waarschijnlijk dat de aansluitpunten bij de huizen zwakke schakels zijn in het systeem. Wanneer het maaiveld zakt als gevolg van inklinking – een proces wat in West-Nederland met veen en slappe klei in de ondergrond plaatsvindt – komen deze punten onder druk te staan. Een gevolg kan zijn dat de aansluitingen gaan lekken.

Het is goed mogelijk dat het lekkende rioolwater gevolgen heeft voor de grondwatersamenstelling en dat dit vervolgens gevolgen heeft voor de groei en activiteit van bacteriën.

In deze paragraaf zal worden ingegaan op de factoren die van invloed zijn op het al of niet uittreden van rioolwater, oftewel of een beschadigd riool een infiltrerende werking dan wel een drainerende werking heeft. Vervolgens zal de samenstelling van rioolwater worden besproken en de gevolgen hiervan op de groei en activiteit van bacteriën. In paragraaf 10.3.3

zal de invloed van het rioolwater op het zuurstofgehalte van grondwater rondom lekkende riolen worden besproken. Tenslotte zal in paragraaf 10.3.4 aandacht worden besteed aan de mogelijke temperatuurverhoging in de ondergrond als gevolg van het rioolsysteem.

10.3.1 Hydrologische eigenschappen van riolen

Een beschadigde rioolbuis hoeft niet altijd te leiden tot het uittreden van rioolwater. Afhankelijk van de hydrologische situatie ter plaatse, de positie van het riool boven of onder de grondwaterspiegel, de mate van gevuldheid van de rioolbuis en de lekopening, zal het riool drainerend of infiltrerend werken.

Bij een drainerend riool zal grondwater het riool binnentreden en kan lokaal een grondwaterstandverlaging optreden, bij een infiltrerend riool zal lekwater uittreden en zijn invloed uitoefenen op de bodem- en/of grondwaterkwaliteit in de omgeving.

Er zijn twee basissituaties denkbaar:

1. het riool ligt boven de grondwaterspiegel
2. het riool ligt onder de grondwaterspiegel

In de eerste situatie zal bij een beschadiging aan de rioolbuis afvalwater uittreden. Deze situatie gaat in de meeste gevallen op voor de aansluitpunten onder de huizen. Voor de rioolbuizen kan het van plaats tot plaats verschillen.

Darwinkel et al. (1997) concluderen dat het uittreden van lekwater in deze situatie niet leidt tot duidelijk verhoogde concentraties van verontreinigende stoffen in het grondwater. Wel kunnen door uittreding van slibdeeltjes in de directe nabijheid van een lek sterk verontreinigende stoffen in de bodem voorkomen.

Dit komt waarschijnlijk doordat de vaste deeltjes in het rioolwater door de zandmatrix rondom de rioolbuis worden ingevangen. Dit proces verlaagt de doorlatendheid van de zandmatrix; deze raakt als het ware verstopt (Rauch en Stegner, 1994). De hoeveelheid lekwater die uit kan treden neemt hierdoor af.

In de tweede situatie zal bij een rioolbeschadiging niet altijd afvalwater uittreden. Dit is afhankelijk van het verschil tussen de grondwaterstijghoogte (H) en de rioolwaterstand (h_r) ter plaatse van de lekkage en het verschil tussen de grondwaterstijghoogte (H) en de drainagebasis (h_{dr}) van het grondwater ter plaatse van de lekkage. Wanneer de rioolwaterstand lager ligt dan de drainagebasis van het grondwater zal het riool draineren, wanneer de rioolwaterstand hoger ligt dan de drainagebasis van het grondwater zal het riool infiltreren.

Indien de rioolbuis geheel gevuld is met afvalwater zal bij beschadiging altijd water uittreden en dus in het grondwater terechtkomen. Een aantal keren per jaar (bij hevige regenval) zal dit het geval zijn. Gedurende deze perioden zal dus lekwater uittreden.

10.3.1.1. Conclusies

Op basis van het bovenstaande kan verwacht worden dat in alle rioolsystemen die zijn aangelegd vóór 1960 lekkages optreden en dat indien deze gelegen zijn onder de grondwaterspiegel dit enige keren per jaar leidt tot vervuiling van het grondwater met afvalwater. De hoeveelheid afvalwater dat het grondwater per tijdseenheid bereikt is afhankelijk van de grootte van de lekopening en de mate van verstopping van de zandmatrix rondom het riool. Doch aangenomen dat het riool op vele plaatsen, bij de aansluitpunten en bij beschadigingen aan rioolbuizen, lekt, zou de hoeveelheid lekwater die het grondwater bereikt onder een stad aanzienlijk kunnen zijn.

10.3.2. Samenstelling van rioolwater

Rioolwater is afkomstig van zowel huishoudelijke bronnen, industriële bronnen en oppervlakkige afvoer. Het bestaat uit een mengsel van natuurlijke anorganisch en organisch

materiaal, micro-organismen en een klein deel kunstmatige, door de mens geproduceerde bestanddelen.

Het organische materiaal bestaat hoofdzakelijk uit: koolhydraten, eiwitten, vetten, aminozuren, vluchtige zuren en in mindere mate hormonen, vitaminen, gechlloreerde koolwaterstoffen en pesticiden. Het anorganisch materiaal bestaat hoofdzakelijk uit: natrium, kalium, calcium, magnesium, boor, chloride, sulfaat, fosfaat, bicarbonaat, ammonia. Voorts vinden we bacteriën, protozoën, schimmels en virussen in het rioolwater.

In Tabel 10.4 staat voor twee Duitse steden, Rastatt en Hannover, de gemiddelde rioolwatersamenstellingen en de gemiddelde jaarlijkse input vanuit rioollekages in bodem en grondwater weergegeven (Eiswirth & Hötzl, 1997).

	Rastatt			Hannover ^{*1}		
	mean concentration in sewage [mg l ⁻¹]	mean annual load 4400 m ³ a ⁻¹ [kg a ⁻¹]	mean annual input 0,030 km ² [kg ha ⁻¹ a ⁻¹]	mean concentration in sewage [mg l ⁻¹]	mean annual load 6,5·10 ⁶ m ³ a ⁻¹ [kg a ⁻¹]	mean annual input 84 km ² [kg ha ⁻¹ a ⁻¹]
potassium	38	167	55	25	160000	20
sodium	111	488	153			
ammonium-N	55	242	80	35	230000	30
organic nitrogen-N	23	101	33			
chloride	101	444	150	150	980000	120
nitrate	7	31	10			
sulphate	38	167	55	200	1300000	160
boron	1.96	9	3	1.7	10000	
phosphate	11	48	16	17	110000	13
lead	0.034	1.5	0.48	0.035	230	0.03
cadmium	0.005	0.022	0.007	0.003	15	0.002
chromium	0.0010	0.004	0.001	0.035	230	0.03
copper	0.062	0.27	0.09	0.115	730	0.09
nickel	0.027	0.12	0.05	0.035	230	0.03
zinc	0.85	3.7	1.2	0.29	1900	0.22

^{*1} 395 km combined sewerage systems; separated systems: 1060 km waste water sewers, 845 km storm sewers; 84 km² area in which all waste water sewers are always above the groundwater level

Tabel 10.4. Gemiddelde rioolwatersamenstelling en gemiddelde jaarlijkse input van beschadigde riolen in de bodem en het grondwater voor twee Duitse steden, Rastatt en Hannover (Eiswirth & Hötzl, 1997).

10.3.2.1. Conclusies

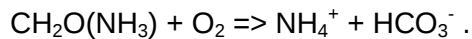
Wanneer rioolwater in het grondwater komt, zal dit het natuurlijke grondwatermilieu verrijken met nutriënten (koolstof, stikstof, fosfor en zwavel) en elektronacceptoren, zoals nitraat en sulfaat. Deze stoffen zouden een stimulans kunnen zijn voor de groei en activiteit van de (facultatief) anaerobe bacteriën, daar nutriënten en electronacceptoren vaak beperkt voorhanden zijn.

Tevens zijn in het rioolwater bacteriën actief die eveneens bij lekkage van het riool in het grondwatermilieu kunnen komen.

10.3.3. Lekkende riolen en zuurstof

Het rioolwater heeft een gereduceerd karakter. Wanneer dit afvalwater in relatief zuurstofrijk grondwater terechtkomt zullen er afbraakprocessen optreden waarbij in eerste instantie de voorhanden zijnde zuurstof wordt gebruikt en vervolgens alternatieve electronacceptoren zoals nitraat, Fe (II) en sulfaat. Er ontstaat een redoxzonering in de richting van de grondwaterstroming naar een steeds minder gereduceerde toestand.

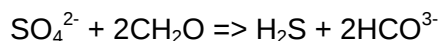
De omzettingsreacties die optreden in de omgeving van een rioollekage worden in sterke mate beïnvloed door de aanwezigheid en beschikbaarheid van zuurstof en andere electronacceptoren, zoals nitraat en sulfaat, in het omringende grondwater. Organisch materiaal wordt eerst gedeeltelijk geoxideerd tot ammonium (ammonificatie):



Indien voldoende zuurstof beschikbaar is wordt de ammonium geoxideerd tot nitraat (nitrificatie):



Het zuurstofgehalte neemt hierbij af en het koolstofdioxidegehalte neemt toe. Hierdoor worden de anaerobe processen dominant. De zuurstof is opgebruikt en een alternatieve electronacceptor is noodzakelijk voor verdere afbraak van organisch materiaal. De bij voldoende beschikbare zuurstof geproduceerde nitraat is reeds geconsumeerd in het denitrificatieproces. Mangaan is meestal niet beschikbaar en ijzer is al in zijn gereduceerde Fe[II]-vorm. De beschikbare electronacceptor is Sulfaat. Sulfaat wordt gereduceerd en het gereduceerde ijzer slaat neer als onoplosbaar ijzersulfide (o.a. pyriet) (Gooddy et al., 1997):



Wanneer ook sulfaat verdwenen is, wordt CO_2 gereduceerd en wordt methaangas geproduceerd.

10.3.3.1. Conclusies

Het gereduceerde karakter van het lekwater heeft tot gevolg dat de zuurstof die in het grondwater aanwezig is in de directe omgeving van de lekkage zal worden gebruikt voor oxidatieprocessen. Dit leidt ertoe dat de zuurstof die in het grondwater aanwezig is als gevolg van deze oxidatieprocessen verdwijnt. Autochtone bacteriën die van zuurstof afhankelijk (aerobe bacteriën) zijn, ondervinden dus nadeel van het uittrekkende gereduceerde lekwater. Doch wanneer de bacteriën facultatief anaëroob zijn, zullen deze bacteriën andere elektronacceptoren dan zuurstof gaan gebruiken voor hun metabolisme.

10.3.4. Riolen en temperatuur in de ondergrond

Door de temperatuur van het water zoals dat het riool in komt en de hoge microbiologische activiteit in het rioolwater, heeft het rioolwater vermoedelijk een hogere temperatuur dan de ondergrond en het grondwater. De rioolbuizen die dit water vervoeren vormen een dicht netwerk onder de stad en dragen deze warmte af aan de omringende grond. Dit kan een stimulerende invloed hebben op de bacteriële groei en activiteit.

Onder natuurlijke omstandigheden heeft de ondiepe ondergrond tot maximaal enkele meters diepte een temperatuur die afhankelijk is van de seizoensfluctuaties in de luchttemperatuur (in Nederland: 2 - 2,5 °C in de winter, 16,5 - 17,5 °C in de zomer). De mate en diepte van deze seizoensinvloed op de temperatuur van de ondergrond varieert van plaats tot plaats sterk in afhankelijkheid van het bodemmateriaal, de hydrologische situatie en de bodembedekking.

Vanaf een diepte van ongeveer 15 meter is de temperatuur van de ondergrond in de tijd constant en komt overeen met de gemiddelde jaartemperatuur, in Europa 10 à 15 °C (West en Chilton, 1995).

Bij een Rioolwater Zuiveringsinstallatie (RWZI) in de regio Den Haag worden de temperaturen van het influent (het rioolwater dat de RWZI binnenkomt) bijgehouden. De gemiddelde zomertemperatuur ligt rond de 20 °C en de gemiddelde wintertemperatuur ligt rond de 10 °C. De temperatuur van het rioolwaterinfluent wordt bepaald door het seizoen, de weersomstandigheden (nat of droog) en de afgelegde afstand tot de RWZI. Vermoedelijk komt afvalwater het rioolsysteem in met een temperatuur van 20-30 °C onafhankelijk van het seizoen.

10.3.4.1. Conclusies

Geconcludeerd kan worden dat door de aanwezigheid van een dicht net van rioolbuizen de ondiepe ondergrond (in de winter) in de directe omgeving van de rioolbuizen een hogere temperatuur kan hebben dan onder natuurlijke omstandigheden. Deze temperatuurstijging kan plaatselijk een stimulans zijn voor groei en activiteit van heipaalaantastende bacteriënpopulatie(s) maar de omvang van de stimulans wordt niet groot genoeg geacht om van invloed te zijn op de mate van aantasting van heipalen in de directe omgeving.

10.4. Bepaling van de reststerkte van het funderingshout

De mate van verlies aan sterkte is essentieel voor het bepalen van de staat van een houten fundering en voor het geven van een indicatie van de levensduur. Bij het bepalen van de reststerkte van een paal moet men zich realiseren dat de (druk-) sterkte van hout in de loop der jaren iets terug zou kunnen lopen door uitlogings- / inlogingsprocessen. Dit is echter nooit gekwantificeerd. Wat wel gemeten is, is dat niet aangetast paalhout door het inheien en in de loop van 50 jaren of meer aan druksterkte verliest (Laming et al. 1978, Klaassen en Homan 1998 en Van Weele et al. 1989).

Het verlies aan sterkte is echter aanzienlijk wanneer het hout wordt aangetast. Bij bacteriële aantasting wordt het hout van buiten naar binnen aangetast en deze aangetaste laag wordt ook wel als zachte schil aangemerkt. Afhankelijk van de aantasting verliest de zachte schil aan sterkte en neemt steeds minder deel aan de ondersteuning van het bovenliggende bouwwerk. Er zijn diverse proeven uitgevoerd die dit sterkteverlies probeerden te kwantificeren. Dit is echter moeilijk omdat de aanvangsdruksterkte van het hout onbekend is en men bovendien rekening moet houden met de enorme variatie in druksterkte die binnen een houtsoort kan optreden. Verder is de druksterkte van gezond, niet aangetast hout afhankelijk van het vochtgehalte. Droog hout heeft een hogere druksterkte dan nat hout. Om enigszins vergelijkbare proeven te kunnen uitvoeren moet waterverzadigd hout worden beproefd. Bij de bepaling van de druksterkte kunnen hele paalstukken beproefd worden (Van Weele et al. 1989, Van Bueren et al. 1987, Klaassen & Homan 1998, 1999) maar men moet zich dan wel realiseren dat hierbij een enorme kracht moet worden uitgeoefend (578 kN bij 13.6 N/mm^2 , Van Bueren 1987). De druksterkte kan ook bepaald worden aan kleinere monsters (b.v. $20 \times 20 \times 60$ / $35 \times 35 \times 210 \text{ mm}$) waarbij dan een relatie gelegd zou kunnen worden met de mate van aantasting.

Er zijn verschillende snelle methoden ontwikkeld om de dikte en de mate van sterkteverlies in de zachte schil te kwalificeren.

Om praktische redenen wordt in Nederland veel gewerkt met een inslaghamer. Deze methode geeft slechts een grove inschatting van de verwachte reststerkte. In de praktijk is de nauwkeurigheid van deze methode echter voldoende. Wanneer gedetailleerde informatie verkregen dient te worden om de relatie aantasting -- afname sterkte in kaart te brengen dan zijn er ook andere methoden beschikbaar. Alle beschikbare methoden worden in deze paragraaf opgesomd.

10.4.1. Methode inslaghamer (Frankhamer, Pylodin, Penetrometer)

Met deze methode wordt de dikte van de zachte schil van de paal bepaald. Afname van de originele diameter door de zachte schil wordt beschouwd als een afname van de maximale sterkte. Op grond van praktijkervaring worden resultaten geïnterpreteerd. Er zijn echter weinig directe vergelijkingen gemaakt tussen de mate van aantasting en het verloop van sterkteverlies. De methode is verder niet houtsoort- en vochtgehalte- specifiek. Van Weele et al (1989) hebben bij hun onderzoek aan de palen van het Amsterdamse Concertgebouw indringingen met de Frankhamer gemeten van 9 - 11 mm (pen 6 mm diameter). Zij gebruikten de volgende referentiewaarden: nieuw en droog hout: indringing 4 - 5 mm; oud, gezond en nat hout: indringing 6 - 8 mm. Hun conclusie was dat de palen niet waren aangetast.

Mouzouras et al. 1986 geven indringingsgegevens van de Pilodyn in relatie tot aangetast hout.

Wareco heeft eerste stappen gezet om het anatomische beeld te correleren aan de indringingsgegevens van de Frankhamer. Uit hun eerste studie blijkt dat de slagpen in het hout dringt tot een gebied waar circa 50% van de cellen (tracheïden) zijn aangetast.

10.4.2. Boorkern methode voor het radiale druksterkte profiel

Swab et al. (1982) hebben een snelle en weinig destructieve methode bedacht om het radiale profiel van druksterkte in een paal te bepalen. Hiertoe is een boorkern van 10 mm doorsnede nodig die met behulp van een aanwasboor uit een heipaal genomen kan worden. De boorkern wordt op verschillende plaatsen op druksterkte beproefd. De waarden van deze beproeving zijn direct vergelijkbaar met beproevingen aan genormeerde proefstukken.

10.4.3. Microscopische kwantificering van de aantasting in relatie tot verlies aan druksterkte

Paalkoppen kunnen ook in kleinere monsterblokjes (20 x 20 of 35 x 35 mm) worden gezaagd, die beproefd worden op druksterkte. Die resultaten die men hierdoor krijgt kunnen worden gerelateerd aan het aantastingbeeld. (Grinda 1997) vond een goede correlatie tussen de mate van aantasting en de druksterkte. Hij gebruikte hierbij de volgende indeling om de aantasting te kwalificeren:

- 1) sterk: bijna alle laathout tracheïden zijn aangetast;
- 2) gemiddeld: niet alle laathoutcellagen zijn aangetast of laathoutcellen in afgegrensde gebieden zijn aangetast;
- 3) licht: onregelmatige verspreide lagen van laathoutcellen en individuele laathout tracheïden zijn aangetast;
- 4) geïsoleerd: onregelmatig verspreide individuele laathout tracheïden zijn aangetast.

In aangetaste gebieden heeft het hout 30 tot 50% van de druksterkte verloren. Dit komt goed overeen met de microscopische observaties.

10.4.4. Methode vochtgehalte

Veel gegevens aan aangetaste palen laten zien dat er mogelijk een verband is tussen aantasting / verlies druksterkte en vochtgehalte. Mogelijk zou het vochtgehalte als een maat te gebruiken zijn voor een inschatting van het sterkteverlies. Van belang is wel dat het vochtgehalte ruim boven het vezelvezadigingspunt ligt. Dit soort onderzoek zou gedaan kunnen worden aan boorkernen. Er zijn verschillende rapporten die over deze relatie berichten: Klaassen & Homan meerdere SHR rapporten (1997 – 1999), Van Weele et al (1989), Van Bueren (1987), Grinda (1997), Paajanen & Viitanen (1998) en Boutelje & Bravery (1968). Böttcher (1989) heeft onderzoek gedaan aan spekpalen (Spickpalen) tot 800 jaar oud. Ook hij vond een hoog vochtgehalte (tot 700%) bij sterke aantasting (afname volumieke massa tot onder 300 kg/m³). Gevonden houtsoorten waren beuk, eik, els, kers, grenen en populier. Zijn conclusies over aantasting door zuurhydrolyse worden zeer sterk in twijfel getrokken. Zeer waarschijnlijk heeft hij EB aantasting over het hoofd gezien.

10.4.5. Methode resistograaf

Een resistograaf is een apparaat dat de weerstand van een boortje registreert dat met een constante roterende en voorwaartse snelheid in het hout wordt gebracht. Bij droog hout is gebleken dat uit het boorprofiel (initiële) aantasting nauwkeurig kan worden gelokaliseerd. Nader onderzoek zal moeten uitwijzen of deze techniek ook bij nat hout toepasbaar is. De grootte en de elektrische besturing van het apparaat is wel een nadeel om te worden gebruikt in funderingsputten.

10.5. Relatie aantasting -leeftijd –bodem -houtsoort

Er is nooit systematisch onderzoek gedaan naar de snelheid van bacteriële aantasting in hout en over de gevoeligheid van verschillende naaldhoutsoorten voor deze vorm van aantasting. Het onderzoek dat wel is uitgevoerd had altijd een ander doel zoals het in kaart brengen van de aantastingspatronen of de reststerkte van een fundering. Alle informatie die voor dit onderzoek nodig is wordt nooit volledig gegeven: paaldiameter, dikte aangetaste schil, aantastingspatroon, ouderdom fundering, druksterkte, houtsoort, spintrand breedte, en grondsoort. Uit de beschikbare informatie kan het volgende algemene beeld verkregen worden:

In relatief korte tijd (30 – 60 jaar) kunnen paalfunderingen onafhankelijk van de houtsoort aanzienlijk worden aangetast door bacteriën (Paajanen & Viitanen 1988: 40 tot 80 mm diepe bacteriële aantasting in 30 jaar oude vuren palen en 40 tot 80 mm diepe bacteriële aantasting in 60 jaar oude grenen palen; Wijnperse 1931: volledige aantasting van het spint in 50 jaar oude grenen palen; Peek & Willeitner 1981: sterke bacteriële aantasting in 50 jaar oude grenen, vuren, eiken palen).

Aanzienlijke bacteriële aantasting in houten paalfunderingen wordt ook gevonden na een wat langere tijd van 75 – 90 jaar (Harmsen & Nissen 1965: EB aantasting in 90 jaar oude grenen en vuren palen van 100 cm lang en 25 – 30 cm diameter; Boutelje & Bravery 1968: aantasting 30 – 50 mm diep in 75 jaar oude vuren en grenen palen van 20 - 25 cm in diameter; Eslyn & Moore 1984: bacteriële aantasting tot 30 mm diep in 85 jaar oude grenen en lariks (*Pinus strobus*, *Pinus resinosa*, *Larix laricina*) palen die onder water in rivieren zijn toegepast, Eslyn & Clark 1976: aantasting (reductie sterkte eigenschappen) in 85 jaar oude grenen en lariks palen die onderwater in rivieren zijn toegepast). Grinda (1997) vindt in zijn studies geen relatie tussen de leeftijd van de paalfundering en de mate van bacteriële aantasting.

Er wordt geen eenduidig beeld gekregen over het feit dat grenenspint gevoeliger is voor bacteriële aantasting dan het spinthout van andere soorten. Uit sommige studies blijkt dat grenenspint inderdaad veel gevoeliger is dan het spinthout van vuren, lariks en douglas (ervaring Nederlandse funderingsbureaus), terwijl andere studies aangeven dat er geen verschil is (Boutelje & Goransson 1975) of dat vuren zelfs gevoeliger is dan grenen (Paajanen & Viitanen, 1988; Grinda 1997). Grinda (1997) vindt in 66 tot 111 jaar oude palen in Berlijn dat grenen slechts 5 – 15 mm is aangetast terwijl de vuren palen sterk zijn aangetast. Een vergelijking van de onderzoeksgegevens van grenen en vuren palen moet genuanceerd worden bekeken omdat de houtsoorten niet altijd in dezelfde mate of met een zelfde functie zijn toegepast (in Berlijn zijn met name grenen palen toegepast, Grinda 1997). Vuren werd vaak als bezaagd hout toegepast waardoor het gevoeliger spinthout niet meer aanwezig is terwijl grenen vaak als rondhout (heipaal) werd toegepast waarbij de gehele stam (inclusief al het spinthout) werd gebruikt (ervaring Nederlandse funderingsbureaus, Grinda, 1997).

De aanwezigheid van spinthout wordt gebruikt om zowel de gevoeligheid van grenen als dat van vuren voor bacteriële aantasting te verklaren. Sommige onderzoekers gaan ervan uit dat ongeacht de soort, het spinthout veel gevoeliger is voor bacteriële aantasting dan kernhout. Grinda (1997) schrijft de ernstigere aantasting in vuren dan ook toe aan het feit dat deze houtsoort geen (zichtbaar) kernhout heeft en hij constateerde dat bacteriën dieper in vuren lijken door te dringen dan in grenen. Andere onderzoekers gaan ervan uit dat uitsluitend het spinthout van grenen in hoge mate gevoelig is voor bacteriële aantasting. Grenenkernhout wordt als weinig of niet gevoelig beschouwd en vurensint wordt veel ongevoeliger voor bacteriële aantasting geacht dan grenensint (Boutelje & Goransson 1975, volgens de Nederlandse funderingsbureaus).

De indruk bestaat dat de bacteriële aantasting sterker optreedt in zandachtige bodems (Grinda 1997, Boutelje & Goransson 1975, volgens de Nederlandse funderingsbureaus). Dit

neemt niet weg dat er ook sterke aantasting gevonden is in klei- en veenachtige bodems (Boutelje & Bravery, 1968; Paajanen & Viitanen, 1988).

Volgens Boutelje & Goransson (1975) speelt zuurstof geen rol van betekenis omdat bacteriele aantasting alleen optreedt bij zeer lage zuurstofconcentraties ($< 1 \text{ mg/l}$), of in situaties waarin beredeneerd kon worden dat er nauwelijks zuurstof aanwezig is (aantasting in paalpunten in enige bodems, Grinda 1997, volgens Nederlandse funderingsbureaus). Inmiddels weten we dat juist een minimale hoeveelheid zuurstof noodzakelijk is voor bacteriële aantasting.

Volgens van der Drift & Rijdsdijk (1978) en Boutelje & Goransson (1975) bestaat er mogelijk een verband tussen een verhoogde concentratie nutriënten (fosfor en stikstof) en aantasting omdat rondom aangetaste palen coliforme bacteriën werden aangetroffen wat duidt op grondwaterverontreiniging.

10.6 Samenvatting

Paalfunderingen worden toegepast op de zogenaamde slappe bodems, de paallengte is afhankelijk van de bodemopbouw en varieert in Nederland van 2 tot 23 meter.

Zowel voor als kort na de tweede Wereld Oorlog en in de jaren 50 en 60 zijn in Nederland grote aantallen inlandse palen toegepast, voornamelijk grenen.

De grenen paal wordt in Nederland als uiterst gevoelig beschouwd voor bacteriële aantasting. Uit de literatuur blijkt dat ook andere houtsoorten sterk aangetast kunnen worden in relatief korte tijd. Uit de ervaring van sommige funderingsbureaus en uit de literatuur blijkt dat hout in zandachtige bodem gevoeliger is voor bacteriële aantasting dan in veenachtige bodems. Dit beeld wordt niet overal bevestigd.

Er zijn diverse methodieken beschikbaar om de reststerkte van een funderingspaal te bepalen. Vanwege praktische onderzoekstechnische redenen wordt er in Nederland voor het vaststellen van de niet dragende aangetaste schil met de inslaghamer gewerkt.

Riolen zijn onder de stad alom aanwezig en het vermoeden bestaat dat deze op grote schaal beschadigd zijn. Of ook rioolwater uittreedt is afhankelijk van de hydrologische situatie.

Uittredend rioolwater heeft een negatief effect op de zuurstofconcentratie van de omringende grond en het grondwater, maar kan door de aanvoer van nutriënten (m.n. stikstof en fosfor) en elektronacceptoren (bijvoorbeeld sulfaat) een positief effect hebben op de bacteriële groei en activiteit. Voorts kunnen vanuit beschadigde riolen bacteriën in het grondwatermilieu terecht zijn gekomen die aantasting van heipalen mogelijk hebben geïnitieerd dan wel versneld.

11 Hypothesen over oorzaken van aantasting

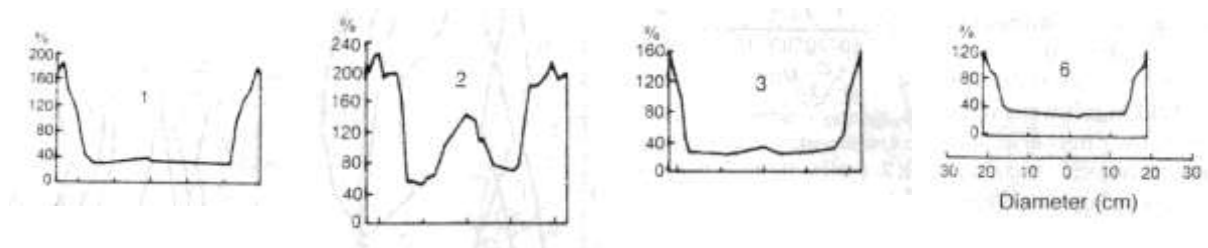
Op grond van alle beschikbare informatie voortgekomen uit dit onderzoek zijn uitgangspunten voor het opstellen van hypothesen over de oorzaak van de bacteriële aantasting geformuleerd. Zuurstof wordt hierbij als de cruciale factor voor bacteriële aantasting aangemerkt en de eerste twee hypothesen gaan dan ook over de aanvoer van zuurstof naar het zuurstofloze milieu waarin de heipaal zich bevindt.

11.1. Uitgangspunten

- Bacteriën kunnen hout aantasten;
- Hoewel niet bekend is om welke bacteriesoorten het gaat is het wel bekend dat het heterotrofe bacteriën zijn. Deze gebruiken organische moleculen als koolstof- en energiebron;
- Het is onbekend waar de houtaantastende bacteriën vandaan komen, mogelijke bronnen zijn: 1) de heipaal zelf, 2) komen van nature in de bodem voor, 3) de riolering;
- In absolute zuurstofloze milieus wordt hout niet afgebroken omdat aangenomen wordt dat zuurstof noodzakelijk is voor de afbraak van lignine waardoor uit het ligno-cellulitische complex (hemi) cellulose toegankelijk gemaakt kan worden voor afbraak door de primaire aantastende bacteriën;
- Veengronden zijn zuurstofloos maar bij een infiltrerende situatie (regenwater) kan het grondwater in de aan de oppervlakte gelegen (opgespoten) zandlaag nog enige zuurstof bevatten (circa 10 mg/l);
- Door de lage zuurstofconcentraties in de ondergrond en het grondwater (maximaal 10 mg/l) is het waarschijnlijk dat de aantasters (facultatief) anaërobe bacteriën zijn;
- Toevoer van nutriënten (met name stikstof en fosfor) en alternatieve elektronenacceptoren voor zuurstof is een stimulans voor bacteriële activiteit en groei;
- In een infiltrerende situatie heeft lekkend rioolwater een negatief effect op de zuurstofconcentratie in de ondergrond en het grondwater.

11.2. Hypothese 1: de heipaal is de zuurstof transporteur

Venige bodems zijn enkele cm's onder het grondwaterniveau absoluut zuurstofloos. De enige zuurstof die aanwezig is, is de zuurstof in de heipaal zelf. Hierdoor kan de paal een klein beetje aan de buitenkant worden aangetast, waarna de zuurstof verbruikt is en de afbraak stopt. Dit komt overeen met de praktijkervaring waar ook in gezonde palen in de buitenste rand (circa 15 mm) enige bacteriële aantasting wordt waargenomen. De zuurstof die in de paal is opgeslagen zit mogelijk met name in het kernhout vanwege het lagere vochtgehalte waardoor er meer ruimte voor zuurstofopslag beschikbaar is. Sommige houtsoorten vormen duidelijk kernhout wat te herkennen is aan een duidelijk lager vochtgehalte (zie tabellen 11.1 – 11.4). De bacteriële infectie vindt plaats via de bodem en vanuit de buitenkant van de paal verspreidt de bacteriële aantasting zich naar binnen toe met name door de stralen (parenchymatisch weefsel met weinig lignine). Deze verspreiding gaat gepaard met een minimale afbraak omdat bij elke celovergang de stippelmembranen moeten worden afgebroken. Hierdoor blijft het binnenste van de paal steriel (vrij van bacteriën). Door de bacteriële activiteit wordt de aanwezige zuurstof verbruikt (aanmaak enzymen voor lignineafbraak en mogelijk ook assimilatie wanneer er facultatief aërobe bacteriën betrokken zijn). Er ontstaat een zuurstofgradiënt en daarmee een zuurstofstroom van het binnenste van de paal naar de buitenrand. Wanneer alle zuurstof verbruikt is, stopt de aantasting. Omdat in de praktijk bacteriële aantasting in de buitenste 15 mm over de hele lengte van de paal is geconstateerd, lijkt het erop dat dit de maximale bacteriële aantasting is die kan ontstaan gevoed door de in de paal aanwezige zuurstof.



Tabellen 11.1 – 11.4: Horizontale variatie in vochtgehalte van enkele levende Europese houtsoorten op 55 cm boven de grond. De grafiekjes geven alleen het verschil aan tussen kern- en spinthout, de breedte van de spintrand in de grafiekjes is niet representatief voor de houtsoorten. Legenda 1: vuren, 2: dennen, 3: grenen, 6: douglas. Vuren, grenen en douglas hebben alle drie een relatief droge kern (circa 40% vochtgehalte) en nat spinthout (120 – 180%) terwijl bij dennen het verschil minder groot is (overgenomen uit Tsoumis 1991).

In tegenstelling tot venige bodems kan in een zandlaag ook onder het grondwater niveau zuurstof aanwezig zijn, echter slechts in zeer geringe concentraties. De zandlagen die van toepassing kunnen zijn, zijn de opgebrachte zandlagen en funderingslagen. In hypothese 2 wordt verder ingegaan op de funderingslaag.

In deze hypothese wordt van zuurstoftransport uitgegaan via de bodemlaag waarin de paalkoppen staan. Mogelijk vanuit (opgebrachte) zandlagen of sleufvulling (puin, zand, geroerde grond). Tijdens het heien werd vaak een sleuf aangebracht die na het heien werd dichtgegooid (zie figuur 11.1).

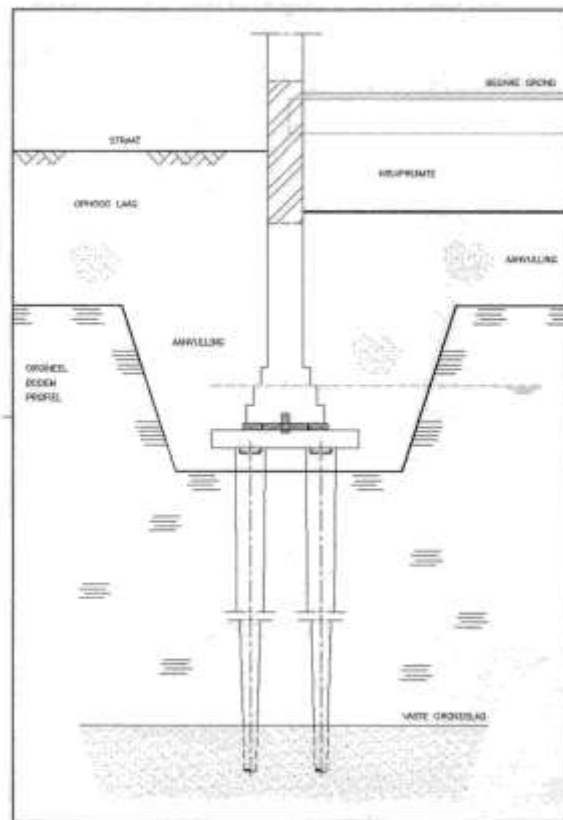
Hoewel de onderliggende veenachtige bodems zuurstofloos zijn, is gebleken dat ook hier ernstige aantasting kan voorkomen. De benodigde zuurstof hiervoor zou door de heipaal mogelijk zelf uit de onderliggende zuurstofhoudende lagen via de paalkop naar de lagere delen van de paal getransporteerd kunnen worden. De volgende twee processen zouden hiervoor verantwoordelijk kunnen zijn: diffusie en / of een hogere waterdoorlatendheid van de paal ten opzichte van de omliggende grond.

11.2.1. Diffusie

De motor achter de zuurstoftransport zou axiale diffusie kunnen zijn door het steriele (niet aangetaste) deel van de heipaal. Omdat overal in de paal ook radiale diffusie plaatsvindt naar de aantastingsgrens waar zuurstofconsumptie door bacteriën plaatsvindt blijft er een zuurstofgradiënt aanwezig die het axiale diffusieproces op gang houdt.

11.2.2. Hogere waterdoorlatendheid van de heipaal

Wanneer de waterdoorlatendheid van de paal hoger zou zijn dan dat van de omliggende bodem dan zou de paal als een soort drain kunnen functioneren. Grenenkernhout is nauwelijks te impregneren en daarmee zal het kernhout dan ook niet of nauwelijks waterdoorlatend zijn. Het spinthout van grenen is echter een van de makkelijkst te impregneren houtsoorten. Dit betekent dat water er makkelijk doorheen kan vloeien. Wanneer de waterdoorlatendheid van het steriele deel van het spinthout van grenen hoger zou zijn dan dat van de omliggende grond dan zou hier zuurstoftransport met het grondwater naar beneden kunnen plaats vinden. Hoewel het spinthout van vuren, dennen, lariks en douglas beter impregneerbaar is dan het kernhout, is het spint van deze houtsoorten vele malen moeilijker te impregneren dan dat van grenen. Wanneer deze hypothese blijkt te kloppen zou hierin ook een verklaring gevonden worden voor de hogere gevoeligheid van grenenspint ten opzichte van de andere toegepaste houtsoorten.



Figuur 11.1. Overzicht van de aanleg van een houtenfundering waarbij vaak geheid werd in een aangebrachte sleuf (P. den Nijs)

Om dit deel van de hypothese verder te onderbouwen en om aan te tonen dat houten palen niet zonder zuurstof af te breken zijn zouden de volgende zaken uitgezocht moeten worden:

- Isoleren, identificeren en classificeren van houtaantastende bacteriën;
- Kwantificering van de lignine afbraak in relatie met de mate van afbraak van (hemi)cellulose (mate van aantasting) en enzymatisch zuurstofverbruik hierbij;
- Zuurstofbepalingen uitvoeren in:
 - net gevelde bomen,
 - getrokken sterk- en weinig aangetaste heipalen;
 - verschillende bodemttypen op verschillende diepten (o.a. onderin zandophogingen);
- Bepaling van de diffusiecoëfficiënt van zuurstof in houten palen;
- Bepaling van de waterdoorlatendheid van niet aangetast spinhout van vuren, dennen, grenen, lariks en douglas met name in axiale richting in vergelijking met de doorlatendheid van veel voorkomende grondsoorten in West Nederland;
- Zuurstofbepalingen van de bodem relateren aan de mate van aantasting in getrokken palen;
- Vergelijking van de aantasting van paalkoppen die in een zandige of venige omgeving staan.

11.3. Hypothese 2: Zuurstoftoevoer in samenhang met de geohydrologische opbouw en hydrologische situatie

In hypothese 1 wordt uitvoerig ingegaan op de rol van zuurstof. Hierbij wordt echter er van uitgegaan dat zuurstof via de opgespoten zandlagen / sleufvulling komt. Deze hypothese stelt dat ook via de zandlaag waarin gefundeerd is al dan niet vrij zuurstof naar de paal wordt aangevoerd.

Zuurstoftransport in water door middel van diffusie is een langzaam proces en het ligt voor de hand dat het zuurstoftransport plaatsvindt door de stroming van grondwater in zandlagen. Hoewel het aannemelijk is dat grondwater, naarmate het een langere weg (dieper) heeft afgelegd, niet of nauwelijks zuurstof bevat, kunnen er toch omstandigheden zijn die relatief zuurstofrijk grondwater in de diepere zandlagen toelaten. Tot nu toe zijn alleen in Haarlem palen aangetroffen die van kop tot punt aangetast waren. Wanneer we naar deze gemeente kijken dan zouden de geringe diepte van de funderingslaag (2 - 5 m) en de horizontale grondwaterstroming, waarbij geen veenlagen doorkruist worden, zoals bijvoorbeeld vanuit de duinen, aanwijzingen kunnen zijn voor mogelijke aanwezigheid van zuurstof in de diepere zandlaag. Echter de aanwezigheid van grote hoeveelheden opgelost ijzer duidt op een anærobe omgeving in deze zandlagen.

Om deze hypothese verder te onderbouwen moet een zuurstofprofiel door de bodem en de paal gemaakt worden.

11.4. Hypothese 3: riool als stimulator voor bacteriële groei en activiteit

Hoewel zuurstof als cruciale factor wordt beschouwd in de bacteriële aantasting van houten heipalen, zou de snelheid van aantasting onder invloed van het riool beïnvloed kunnen worden. De op grote schaal beschadigde rioleringen zouden de groei en activiteit van bacteriën kunnen bevorderen. Lekkend rioolwater zou een (additionele) bacteriënbron kunnen zijn en zou de concentratie aan houtaantastende bacteriën sterk kunnen laten stijgen waardoor aantasting geïnitieerd of versneld zou kunnen worden. Verder kan door lekkend rioolwater een toename verkregen worden van de aanvoer van voedingsstoffen (met name stikstof en fosfor) en elektronenacceptoren (bijvoorbeeld sulfaat) die voor toename van bacterie activiteit en groei kunnen zorgen.

Om dit deel van de hypothese verder te onderbouwen zouden de volgende zaken uitgezocht moeten worden:

- Vergelijken met in het rioolwater aanwezige bacteriën met de huidige kennis van over de eigenschappen en uiterlijkheden van houtaantastende bacteriën;
- Transportprocessen vanuit riool naar heipaal en wijze van verspreiding (preferent door of langs de heipaal);
- Vergelijking van het voorkomen van relevante voedingsstoffen en elektronenacceptoren in het rioolwater enerzijds en het grondwater rondom de aangetaste heipaal en het water in de heipaal anderzijds;
- Experimenteel onderzoek om het temperatuureffect en de toevoer van voedingsstoffen en elektronenacceptoren op de aantastingsnelheid van bacteriën te kwantificeren;

11.5 Samenvatting

Er zijn een aantal hypothesen opgesteld die het proces van bacteriële aantasting van houten paalfunderingen verklaren.

De meest aannemelijke hypothese is dat bacteriële houtaantasting alleen kan plaats vinden in aanwezigheid van zuurstof en dat zeer geringe concentraties hiervoor voldoende zouden zijn. Veen en kleilagen waarin houten paalfunderingen normaliter staan zijn zuurstofloos en zonder extra toevoer van zuurstof is in principe aantasting onmogelijk. De extra zuurstof zou via de paalkoppen die vaak in een zuurstofhoudende laag (opgespoten zand, puin, geroerde grond) staan, aangevoerd kunnen worden. Een tweede en minder waarschijnlijke mogelijkheid is dat zuurstof via de diepere zandlaag (funderingslaag) wordt aangevoerd. Het rioolsysteem zou de bacteriële activiteit en groei kunnen bevorderd door toevoer van, voor bacteriën, essentiële voedingsstoffen en elektronenacceptoren uit lekkende riolen. Verder zou een lekkend riool als bacteriënbron kunnen fungeren waardoor aantasting versneld of geïnitieerd zou kunnen worden. Lekkende riolen hebben echter een negatieve invloed op de zuurstofconcentratie in de bodem en daarmee een negatief effect op de snelheid van bacteriële aantasting van hout.

Hoewel de aard van de houtaantastende bacteriën van groot belang is om het proces van deze aantastingsvorm verder in kaart te brengen is de verwachting dat hiervoor langjarig onderzoek nodig is en daardoor niet beschikbaar op de korte termijn voor de Nederlandse

funderingsproblematiek. Echter de rol van zuurstof lijkt cruciaal en gedetailleerde zuurstofmeting zowel in de palen als in de bodem zouden van grote waarde kunnen zijn om het proces van bacteriële aantasting beter in kaart te brengen. Gedacht wordt om een aantal gebieden te vergelijken waar ernstige en minder ernstige aantasting voorkomt en een vergelijking van stedelijk en buitenstedelijk gebied.

12. Conclusies met betrekking tot de vraagstelling:

12.1. Welke bacteriën veroorzaken onder welke omstandigheden aantasting

De zogenaamde erosiebacteriën en tunnelbacteriën veroorzaken aantasting in hout. Deze bacteriën zijn Gram-negatief, hebben geen flagel, zijn niet mobiel maar kunnen zich waarschijnlijk toch via hun extracellulaire slijm laag bewegen, zijn polymorf en sporenvormend. Tot op heden is het niet mogelijk geweest om aantasting te initiëren met uit aangetast hout geïsoleerde en geïdentificeerde bacteriën. De bacteriën die verantwoordelijk zijn voor aantasting in hout zijn dus niet bekend. Op grond van de morfologie komen een aantal bacteriëngroepen als houtaantasters in aanmerking. Verder lijkt het erop dat de aantasting niet wordt veroorzaakt door één enkele bacterie maar door een mengcultuur waarbij de verschillende bacteriën aan een successiereeks gekoppeld zijn.

12.2. Welke houtsoorten worden aangetast

Alle houtsoorten kunnen worden aangetast door bacteriën met name door tunnelvormende bacteriën (TB). Houtsoorten met een laag ligninegehalte en minder giftige inhoudstoffen hebben echter de voorkeur. Spinhout heeft minder van deze inhoudstoffen en wordt daarom dan ook eerder aangetast. Hoewel het kernhout duurzamer is dan het spinhout wordt het op den duur ook aangetast (ook dat van grenen). De kruisvlakstippels van grenen zijn erg groot en dit schijnt een toegangsweg te zijn voor bacteriën naar de celholte van de tracheïden. Van hieruit worden de individuele cellen aangetast. Bij douglas, lariks en vuren zijn de stippels veel kleiner en lijkt het erop dat de bacteriën bij deze houtsoorten minder makkelijk in de celholten van de tracheïden kunnen komen waardoor de aantasting vaak begint via de stippels (middenlamel). Tijdens de vorming van kernhout wordt het hout volgestopt met inhoudstoffen die deels door hun toxiciteit een bescherming bieden tegen aantasting en deels het hout minder toegankelijk maken. De grote kruisvlakstippels in grenen worden vaak verantwoordelijk gehouden voor de lage duurzaamheid van grenenspinhout doordat ze het hout enorm toegankelijk maken. De toegankelijkheid van het grenen door kernhoutvorming is gereduceerd wat de duurzaamheid echter verbetert.

In Nederland bestaat de indruk dat grenen en dan met name grenenspint sneller wordt aangetast dan vuren. Opgemerkt moet worden dat vuren vaker als bezaagd hout in een fundering wordt gebruikt waardoor met name het spinhout is verwijderd. Het aandeel spint in grenen en vuren funderingshout is dan sterk verschillend waardoor de mate van aantasting van beide houtsoorten niet meer te vergelijken is. Verder is het bekend dat de breedte van de spintrand bij grenen sterk kan variëren waardoor aan de bovenkant van de heipaal een spintrand aanwezig kan zijn variërend van 20 tot 200 mm. De onderkant van de paal (paalpunt) kan bij sommige grenenpalen over meerdere cm in lengte volledig uit spinhout bestaan. Het is goed mogelijk dat in Nederland (inlandse) grenen palen zijn toegepast met relatief veel spint terwijl in andere landen grenen met relatief weinig spint is toegepast. Het is bekend dat de grove den in Nederland relatief snel groeit en een relatieve brede spintrand heeft.

12.3. Omstandigheden waaronder bacteriële aantasting ontstaat en die de aantasting bevorderen

Alle houtsoorten kunnen aangetast worden door bacteriën en deze aantasting kan al optreden bij zeer lage zuurstofconcentraties. Bacteriën kunnen alleen in een vochtig milieu actief zijn waardoor zeer droog hout niet aangetast kan worden door hen. Omdat schimmels hout veel sneller kunnen afbreken dan bacteriën, komen bacteriën meestal daar voor waar schimmels niet kunnen groeien. Dit zijn omgevingen met weinig zuurstof (een beetje zuurstof is altijd nodig voor lignine afbraak), toxische inhoudstoffen, hout met een hoog ligninegehalte, hoge temperaturen en extreme zuurgraden. Bacteriële groei en activiteit kan

bevorderd worden door het verbeteren van genoemde omstandigheden en door een verhoogd aanbod van nutriënten of verhoogde concentratie van bodembacteriën. Voor de Nederlandse paalfunderingen zou zuurstof de cruciale factor kunnen zijn. Het blijkt dat paalkoppen vaak in bodems zitten waarin, in tegenstelling tot klei en veen, enige zuurstof zou kunnen zitten waarmee bacteriële aantasting mogelijk wordt. Zuurstof zou door de heipaal zelf uit bovenliggende zandlagen naar beneden getransporteerd kunnen worden. Mogelijk zou in diepere zandlagen ook zuurstof aanwezig kunnen zijn waardoor ook vanuit de paalpunt de aantasting wordt gestimuleerd.

12.4. Aantastingsnelheid

De aantastingsnelheid van bacteriën is per definitie veel langzamer dan die van schimmels omdat de enzymsystemen langzamer zijn. De snelheid lijkt verder afhankelijk van het zuurstofaanbod, de houtsoort de hoeveelheid spinhout en mogelijk ook de bodemtemperatuur. Eerder onderzoek laat zien dat al binnen 30 jaar aanzienlijke aantasting kan plaatsvinden in vuren en grenen palen.

12.5. Inventarisatie

Alle onderzochte palen (alle houtsoorten) blijken in meer of mindere mate door bacteriën te zijn aangetast. Grenen palen blijken hiervoor gevoeliger dan vuren palen. Er is geen relatie gevonden tussen de leeftijd van het heikwerk en de mate van aantasting. Op basis van de beschikbare gegevens zijn alle uitspraken prematuur.

12.6. Relatie aantasting en sterkte

De relatie aantasting en sterkte moet verder onderzocht worden en er blijken eenvoudige methoden te bestaan om hiervoor snel data te verzamelen. Dit is opgenomen in het onderzoeksprotocol dat sinds 1999 in funderingsonderzoek wordt gebruikt. Er is een correlatie tussen het aantastingbeeld en het verlies aan sterkte. Mogelijk is er ook een correlatie tussen verlies aan sterkte en vochtgehalte. Bij matige aantasting is al een druksterkte vermindering geconstateerd van 50%.

Uitgaande van een te verwaarlozen draagkracht van de aangetaste schil kan de volgende formule gebruikt worden om de afname van het onaantast paalkoppervlak te bepalen:

$$4a(d-a)/d^2 \cdot 100\%$$

a = dikte aangetaste schil

d = diameter oorspronkelijke paalkop

De onderstaande tabel geeft enkele voorbeelden van de relatie aangetaste schil en verlies in sterkte bij een paalkop van 250 mm.

dikte aangetaste schil (mm)	sterkte afname (%)
10	15
20	29
50	64

De criteria voor het inschatten van de kwaliteit van de heipaal staan weergegeven in hoofdstuk 9.

12.7. Welke aspecten zijn niet bekend

Bacteriën

- Isoleren, identificeren en classificeren van houtaantastende bacteriën;
- Herkomst houtaantastende bacteriën;

Zuurstof

- Kwantificering van de lignineafbraak in relatie met de mate van afbraak van (hemi)cellulose (mate van aantasting) en enzymatisch zuurstofverbruik hierbij;
- Zuurstofbepalingen uitvoeren in net gevelde bomen, getrokken sterk en weinig aangetaste heipalen en in verschillende bodemtypen op verschillende diepten (o.a. onderin zandophogingen);
- Bepaling van de diffusiecoëfficiënt van zuurstof in houten palen;
- Bepaling van de waterdoorlatendheid van niet aangetast spinhout van vuren, dennen, grenen, lariks en douglas met name in axiale richting in vergelijking met de doorlatendheid van veel voorkomende grondsoorten in West Nederland;
- Zuurstofbepalingen van de bodem relateren aan de mate van aantasting in getrokken palen.
- Het vermoeden is dat de paalkoppen vaak in een bodemlaag staan die in tegenstelling tot veen zuurstof kan bevatten: opgespoten zand, opgevulde sleuven met pui, zand, of geroerde grond.
- Wat is de relatie tussen zuurstofconcentratie en zandlaag-dikte, -type en -samenstelling;
- Bepaling zuurstofgehalten in het grondwater in de grondlagen ter plaatse van de paalpuntniveaus in de probleemgebieden;

Riolering

- Vergelijken met in het rioolwater aanwezige bacteriën met de huidige kennis over de eigenschappen en uiterlijkheden van houtaantastende bacteriën;
- Transportprocessen vanuit riool naar heipaal en wijze van verspreiding (preferent door of langs de heipaal);
- Vergelijking van het voorkomen van relevante voedingsstoffen en elektronacceptoren in het rioolwater enerzijds en het grondwater rondom de aangetaste heipaal en het water in de heipaal anderzijds;
- Experimenteel onderzoek om het temperatuureffect en de toevoer van voedingsstoffen en elektronacceptoren op de aantastingsnelheid van bacteriën te kwantificeren;

Bestrijding

- Er zijn geen bestrijdingsmiddelen om actieve bacteriële aantasting in situ te stoppen.

12.8 Toekomstperspectief, te verwachten schades en te nemen maatregelen

Op grond van de volgende zaken die uit deze studie naar voren komen is een toekomstbeeld opgesteld:

- Grenen palen zijn zeer gevoelig voor bacteriële aantasting;
- Vuren palen worden ook aangetast maar op grond van het uitgevoerde onderzoek wordt niet verwacht dat dit binnen 100 jaar tot een substantieel verlies aan draagvermogen van de paal leidt;
- Er zijn sterke aanwijzingen gevonden dat zuurstof de cruciale factor is bij het ontstaan en verloop van bacteriële aantasting in de paalfunderingen;
- Over de snelheid van de bacteriële aantasting in grenen palen kan slechts in zijn algemeenheid worden gesproken omdat die afhankelijk is van de omstandigheden waaronder het hout zich bevindt. Uit een vergelijking van de circa 90 jaar oude palen in de Amsterdamse buurt in Haarlem (gebouwd rond 1910) met de circa 70 jaar oude palen uit Zaanstad (gebouwd rond 1930) blijkt dat de 90 jaar oude palen veel ernstiger zijn aangetast dan de 70 jaar oude palen. Hoewel de omgevingsfactoren cruciaal zijn voor het verloop van de aantasting kan worden gesteld dat de palen in Zaanstad de maximale aantastingsgraad (van het spinhout) nog niet en in Haarlem vaak al wel hebben bereikt.

Er van uitgaande dat er tot in de jaren 60 grenen palen (jaarlijks circa 80.000, zie 10.1.1.) zijn toegepast in het hele gebied zoals aangegeven in figuur 10.2 en dat deze palen in 90 jaar

zeer ernstig aangetast kunnen worden door bacteriën, kan de verwachting uitgesproken worden dat de heipalenproblematiek zich tot zeker in 2050 zal voordoen. Met betrekking tot de grootschalige stedelijke uitbreiding rond 1900 en 1930 wordt verwacht dat de grenen heipalenproblematiek van de uitbreidingen van rond 1900 op dit moment actueel is en dat voor de uitbreidingen van 1930 een piek rond 2020 verwacht mag worden.

Wanneer de cruciale rol van zuurstof met zekerheid kan worden aangetoond (voor wijze waarop zie hoofdstuk 11) in het proces van bacteriële aantasting dan zouden effectieve maatregelen genomen kunnen worden om de zuurstoftoevoer naar de paal te stoppen.

Hiervoor zouden verschillende methodieken kunnen worden ontwikkeld waarbij enerzijds de paalkop zou kunnen worden behandeld of waarbij anderzijds geohydrologische maatregelen uitkomst zouden kunnen bieden.

Wanneer de rol van zuurstof niet cruciaal is voor het proces van bacteriële aantasting van hout dan zouden specifieke bestrijdingsmiddelen ontwikkeld moeten worden. Hierbij wordt met name gedacht aan biologische bestrijding met behulp van fagen. Wanneer het lukt om de juiste biologisch bestrijding te vinden zou het proces van aantasting met enkele tientallen jaren vertraagd kunnen worden.

Literatuurlijst

- Ackerman, H.W. & Du Bow. 1987. Viruses of Prokaryotes. Boca Raton CRC Press.
- Alexander, M., 1977. Introduction to Soil Microbiology. Second Edition, Wiley, New York.
- Anomynous, 1989. What's new in forest research. Wood degrading bacteria in posts. Forest research institute. New Zealand no 174
- Appelo, C.A.J., Postma, D., 1996. Geochemistry, groundwater and pollution. A.A. Balkema, Rotterdam.
- Atlas, R.M., 1986. In "Bacteria in Nature" (J.S. Poindexter en E.R. Leadbetter, eds.), Vol. 2, pp. 339-370, Plenum, New York.
- Atlas, R.M., 1984. Petroleum Microbiology.
- Baas Becking, L.G.M., Kaplan, I.R. & Morre, D., 1960. Limits of the natural environment in terms of PH and oxidation-reduction potentials. Journal of Geology, 68, pp.243-284.
- Baecker-AAW; Dyker-RMP; King-B; Oxley-TA (ed.); Barry-S, 1983, *The role of actinomycetes in the biodeterioration of wood*, Biodeterioration 5., 64-74; PR; 34 ref, John Wiley & Sons; Chichester; UK.
- Baedecker, M.J. en Back, W., 1979. Hydrogeological processes and chemical reactions at a landfill. Groundwater 17 (5): 429-437.
- Baines, E.F., Millbank, J.W., 1978. *The influence of moisture content on the occurrence of nitrogen fixing bacteria in timber in ground contact*. Ecological Bulletins 26: 193-198.
- Berendsen, H.J.A., 1997. Landschap in delen overzicht van geofactoren. Van Gorcum.
- Balkwill, D.L. and W.C. Ghiorse. 1985. Characterization of subsurface bacteria associated with two shallow aquifers in Oklahoma. Appl. Environ. Microbiol. 50:580-588.
- Banks-WB; Dearing-TB, 1973, *The water storage of Scots Pine sapwood in conditions of high and low oxygen concentration*, Material-and-Organismen. 8: 1, 39-49.
- Blanchette, R.A., 1991. Delignification by wood-decay fungi. Annual Review of Phytopathology 29 381-398.
- Blanchette, R.A.; Cease, K.R.; Abad, A.R.; Koestler, R.J.; Simpson, E.; Sams, G.K. 1991a. An evaluation of different forms of deterioration found in archeological wood. International Biodeterioration 28 3-22.
- Blanchette, R.A.; Iiyama, K. Abad, A.R.; & Cease, K.R. 1991b. Ultrastructure of ancient buried wood from Japan. Holzforschung 45: 161-168
- Blanchette, R.A., Nilsson, T., Daniel, G. & Abad, A. 1990. Biological degradation of wood. In Rowell, R.M. & Barbour, R.J. (eds.) Archaeological wood: properties chemistry, and preservation.
- Bone, T.L., Balkwill, D.L., 1988. Morphological and cultural comparison of microorganisms in surface soil and subsurface sediments in a pristine study site in Oklahoma. Microb. Ecol. 16: 49-64.
- Böttcher, P., 1989. Untersuchungen zur Dauerhaftigkeit von Gründungsfählen. Holz als Roh- und Werkstoff 47: 179-184.
- Boutelje, J.B.; Bravery, A.F., 1968. Observations on the bacterial attack of piles supporting a Stockholm building. J. Inst. Wood Sci. 47-57.
- Boutelje, J.B.; Göransson, B., 1975. Decay in wood constructions below the ground water table. Swedish J. Agric. Res.: 113-123.
- Boutelje, J.B.; Kiessling, H., 1964. On water-stored oak timber and its decay by fungi and bacteria. Arch. Mikrobiol. 305-314.
- Bryant, M.P., Campbell, L.L., Reddy, C.A., Crabill, M.R., 1977. Growth of Desulfovibrio in lactate or methanol media low in sulfate in association with H₂-utilizing methanogenic bacteria. Appl. Environ. Microbiol. 33: 1162-1169.
- Bultman, J.D.; Haderlie, E.C.; Depalma, J.R., 1980. Comparative natural resistance of four central american hardwoods to marine borers. in: Biodeterioration, proceedings of the fourth international symposium, berlin. Pitman publishing Ltd London.
- Van Bueren, R., 1987. Druksterkte van 100 jaar oude houten funderingspalen van het Amsterdamse concertgebouw. TU Delft.
- Buiten, H., 1997. Houten heipalen. In houtdocumentatie 18.
- Butcher, J.A.; Nilsson, T.; Singh, A., 1984. The bacterial attack of CCA-treated horticultural posts. Proc. New Zealand Wood Pres. 24: 34-49.

- Butterfield, B.G.; Meylan, B.A., 1980. Three-dimensional structure of wood. An ultrastructural approach. Chapman & Hall: London, New York, 2nd edn.: 103.
- Chapelle, F.H., Zelibor, J.L., Grimes, D.J., Knobel, L.L., 1987. Water Resour. Res. 23: 1625-1632.
- Chapelle, F.H., 1993. Ground-Water Microbiology & Geochemistry, John Wiley & Sons, Inc., New York.
- Clark, L., Blakey, N.C., Foster, S.S.D. & West, J.M., 1991. Microbiology of Aquifers. In: Clausen, C.A., 1996. Bacterial associations with decaying wood: A review. International Biodeterioration & Biodegradation 37(1-2): 101-107.
- Clausen, J.C., Brooks, K.N., 1983. Quality of runoff from Minnesota peatlands. In: A Characterization. Water Res. Bull., 19: 763-767.
- Corapcioglu, M.Y., Hridas, A., 1984. Transport and fate of microorganisms in porous media: a theoretical investigation. J. Hydrol. 72: 149-169.
- Courtois, H., 1966. Über den Zellwandabbau durch Bakterien im Nadelholz. Holzforschung. 148-154.
- Daniel, G., 1994. Use of electron microscopy for aiding our understanding of wood biodegradation. FEMS microbiology reviews 13 199-233.
- Daniel, G., Nilsson, T., 1986. Ultrastructural observations on wood degrading erosion bacteria. IRG/WP/1283.
- Daniel, G., Nilsson, T., 1985. Ultrastructural and TEM – EDAX studies on the degradation of CCA treated Radiata pine by tunnelling bacteria. IRG/WP/1260.
- Daniel, G., Nilsson, T., 1998. Developments in the study of soft rot and bacterial decay. In: Bruce, A. & Palfreyman, J.W. (eds.) Forest products biotechnology. Taylor & Francis.
- Daniel, G.; Nilsson, T., 1997. Developments in the Study of Soft Rot and Bacterial Decay. In: Bruce, A. & Palfreyman (eds.): Forest Products Biotechnology. Taylor & Francis Publ., London.
- Darwinkel, B., Mensing, S., In 't Veld, M., Van den Berge, L.M., 1997. Lekkende rioleringen, overstorten en bodemkwaliteit. H2O 25: 780-783.
- Davis, J.B., 1967. Petroleum Microbiology. Elsevier, New York.
- DRW-Verlag, 1988. Holzlexikon, twee delen. Stuttgart.
- Downing, R.A., Wilkinson, W.B. (eds) Applied Groundwater Hydrology: A British Perspective. Clarendon, Oxford: 164-176.
- Drift van de J.W.P.T. & Rijdsdijk, J.F. 1978. Biotische aantasting in houten funderingspalen – literatuurstudie-. TNO rapport no. H-78-11, Delft.
- Eaton, R.A., 1994. Bacterial decay of ACQ treated wood in a water cooling tower. International Biodeterioration & Biodegradation 33: 197-207.
- Ehrlich, H.L., 1996. Geomicrobiology. Marcel Dekker, Inc., New York.
- Eisworth, M., Hotzl, H., 1997. The impact of leaking sewers on urban groundwater. In: Groundwater in the urban environment. Ed.: Chilton, J. et al. Balkema, Rotterdam. Vol. 1: 399-404.
- Ellwood, E.L.; Ecklund, B.A. 1959. Bacterial attack of pine logs in pond storage. Forest Products Journal: 283-292.
- Eriksson, K.E.; Blanchette, R.A. & P. Ander. 1990. Microbial and enzymatic degradation of wood and wood components. Springer-Verlag.
- Eriksson, K.E., Wood, T.M., 1985. Biodegradation of cellulose. in: Degradation of wood by microorganisms. In Biosynthesis and biodegradation of wood components (ed. Higuchi, T.). Academic press INC. Orlando, San Diego, New York, London, Toronto, Montreal, Sydney, Tokyo.
- Eslyn, W., Clark, J.W., 1976. Appraising deterioration in submerged piling. Materials & Organisms sup. 3: 43-52
- Eslyn, W., Moore, W.G., 1984. Bacteria and accompanying deterioration in river pilings. Materials & Organisms sup. 4: 263- 282.
- Filip, Z., Hattori, T., 1984. In "Microbial Adhesion and Aggregation" (K.C. Marshall, ed.): 251-282. Dahlem Konferenzen 1984. Springer-Verlag, New York.
- Fletcher, M., 1977. The effects of culture concentration and age, time and temperature on bacterial attachment to polystyrene. Can. J. Microbiol. 23:1 - 6.
- Freeze, R.A., Cherry, J.A., 1979. Groundwater. Prentice-Hall, Englewood Cliffs, New Jersey.

- Früh, J., Schröter, C., 1904. Die Moore der Schweiz, mit Berücksichtigung der gesamten Moorfrage. A. Francke, Bern: 750.
- Fyfe, W.S., 1996. The Biosphere Is Going Deep. Science, Vol. 273.
- Ghiorse, William C., Wilson, John. T., 1988. Microbial Ecology of the Terrestrial Subsurface. Advances in applied microbiology, Vol. 33, 1988, Academic Press, Inc.
- Goody, D.C., Lawrence, A.R., Morris, B.L., Chilton, P.J., 1997. Chemical transformations of groundwater beneath unsewered cities. In: Groundwater in the urban environment. Ed.: Chilton, J. et al. Balkema, Rotterdam. Vol. 1: 405-410.
- Grbi-Gali, D., 1990. Methanogenic transformation of aromatic hydrocarbons and phenols in groundwater aquifers. Geomicrobiol. J. 8: 167-200.
- Gross, M.J., Logan, B.E., 1995. Influence of different chemical treatments on transport of *Alcaligenes paradoxus* in porous media. Appl. Environ. Microbiol. 61: 1750-1756.
- Greaves, H., 1970. The effect of selected bacteria and *Actinomycetes* on the decay capacity of some wood-rotting fungi. M. & O. 4: 265-279.
- Grinda, M., 1997. Some experiences with attack of microorganisms on wooden constructions supporting foundations of houses and bridges. International Research Group for Wood Preservation No. 10232.
- Grosser, D., 1985. Pflanzliche und tierische Bau- und Werkholz- Schädlinge. DRW-Verlag.
- Harvey, R.W., 1991. Parameters involved in modelling movement of bacteria in groundwater. In: Modelling the environmental fate of microorganisms. Ed. C.J. Hurst. American Society for Microbiology, Washington, D.C.: 89-114.
- Henis, Y. (ed.), 1987. Survival and Dormancy of Microorganisms. John Wiley & Sons, New York.
- Henrichs, I.J., Reeburgh, W.S., 1987. Anaerobic mineralization of organic matter: rates and the role of anaerobic processes in the oceanic carbon economy. Geomicrobiol. J. 5: 191-237.
- Higgins, I.J., Best, D.J., Hammond, R.C., Scott, D., 1981. Methaneoxidizing microorganisms. Microbiol. Rev. 45: 556-590.
- Holt, D.M., 1983. Bacterial degradation of wood cell walls in aerobic aquatic habitats: decay patterns and mechanisms proposed to account for their formation. Journal of the Institute of Wood Science: 212-223.
- Holt, D.M.; Jones, E.B.G., 1978. Bacterial cavity formation in delignified wood. Material & Organismen 13: 13-31.
- Holt, D.M., Jones, G.E.B., Furtada, S.E.J., 1979. Bacterial breakdown of wood in aquatic habitats. B.W.P.A. Annual convention.
- IFCO 1999. Second opinion met betrekking tot de kwaliteit van een houten paalfundering te Haarlem. IFCO Funderingsexpertise BV, Waddinxveen
- Jutte, S.M., 1971. Wood structure in relation to excessive absorption - a literature survey -. Houtinstituut TNO, Delft.
- Jang, L.K., Chang, P.W., Findly, J. Yen, T.F., 1983. Selection of bacteria with favorable transport properties through porous rock for the application of microbial enhanced oil recovery. Appl. Environ. Microbiol. 46: 1066-1072.
- Kankowski, J., Acworth, R.I., 1997. Development of a contaminant plume from a municipal landfill: Redox reactions and plume variability. In: Groundwater in the urban environment. Ed.: Chilton, J. et al., Balkema, Rotterdam. Vol. 1: 439-444.
- Kim, Y.S., 1989. Micromorphology of degraded archaeological pine wood in waterlogged situations. Material & Organismen 24: 271-286.
- Kim, Y.S., Singh, A.P., 1994. Ultrastructural aspects of bacterial attacks on a submerged ancient wood. Mokuzai Gakkaishi 40: 554-562.
- Kim, Y.S., Singh, A.P., Nilsson, T., 1996. Bacteria as important degraders in waterlogged archaeological woods. Holzforschung 50: 389-393.
- Kirk, K.T., Schimada, M., 1985. Lignin biodegradation : The microorganisms involved and the physiology and biochemistry of degradation by white-rot fungi in: Degradation of wood by microorganisms. In Biosynthesis and biodegradation of wood components (ed. Higuchi, T.). Academic press INC. Orlando, San Diego, New York, London, Toronto, Montreal, Sydney, Tokyo.

- Klaassen, R.K.W.M., Homan, W.J., 1997. Diverse projecten waarbij houtsoortbepaling is uitgevoerd en mate van aantasting is bepaald, rapportnummers: 97.176, 97.302. Wageningen
- Klaassen, R.K.W.M., Homan, W.J., 1998. Diverse projecten waarbij houtsoortbepaling is uitgevoerd en mate van aantasting en soms de druksterkte is bepaald, rapportnummers: 98.009, 98.039, 98.051, 98.056, 98.085, 98.106, 98.146, 98.147, 98.157, 98.185, 98.190, 98.213, 98.276, 98.285, 98.342, 98.344. Wageningen
- Klaassen, R.K.W.M., Homan, W.J., 1999. Diverse projecten waarbij houtsoortbepaling is uitgevoerd en mate van aantasting en soms de druksterkte is bepaald, rapportnummers: 99.056, 99.106, 99.123, 99.142, 99.178, 99.198, 99.207, 99.239, 99.240, 99.242, 99.252, 99.213, 99.255, 99.256, 99.280. Wageningen
- Koerselman, W., Verhoeven, J.T.A., 1992. Fens and Bogs in the Netherlands: Vegetation, History, Nutrient Dynamics and Conservation. Kluwer Academic Publishers. The Netherlands: 397- 432.
- Kurz, H., 1928. Influence of Sphagnum and other mosses on bog reactions. Ecology, 9: 56-69.
- Kobayashi, Yoshinori, Iida, Ikuho, Imamura, Yuji, Watanabe, Ugai. Improvement of water movement in wood by bacteria impregnated with sap-flow method.
- Kuznetsov, S.I., Ivanov, M.W., Lyalikova, N.N., 1963. Introduction to geological microbiology, McGraw-Hill, New York.
- Laming, P.B., Rijsdijk, J.T., Verwijs, S.C., 1978. Houtsoorten informatie voor de praktijk. Houtinstituut TNO.
- Lawrence, J.R. and M.L. Hendry. 1996. Transport of bacteria through geologic media. Can. J. Microbiol. 42: 410-422.
- Levy, J.F., 1975, *Bacteria associated with wood in ground contact*, in Biological Transformation of wood by micro organism, ed. W. Liese: 64-73, Berlin, Springer-Verlag (zie Liese, 1975)
- Liese, W.K.F., 1955. On the decomposition of the cell wall by micro-organisms. The record of the annual convention of the British wood preserving association.
- Liese, W., 1970. The action of fungi and bacteria during wood deterioration. B.W.P.A. Annual convention.
- Liese, W., Greaves, H., 1975. Micromorphological of bacterial attack. In: Biological transformation of wood by micro-organisms. Liese, W.E. (Editor) Springer-Verlag, Berlin.
- Line, M.A. (1997): A nitrogen fixing consortia associated with the bacterial decay of a wooden pipeline. Letters in applied microbiology 25(3): 220-224.
- Lindqvist, R., Cho, J.S., Enfield, C.G., 1994. A kinetic model for cell density dependent bacterial transport in porous media. Water Resour. Res. 30: 3291-3299.
- Loosdrecht van, M.C.M., Lyklema, J., Norde, W., Zehnder, A.J.B., 1990. Influence of interfaces on microbiological activity. Microbiol. Rev. 54: 75-87.
- Madson, Eugene L., Ghiorse, William C., 1993. Groundwater Microbiology: subsurface ecosystem processes. Ford, T.E. (ed.), 1993. Aquatic Microbiology: an ecological approach. Blackwell, Boston.
- Malmström, C., 1923. Degerö stormyr. En botanisk, hydrolysk och utvecklingshistorisk undersökning över ett nordvenskt myrkomplex (met Duitse samenvatting). Medd. Statens Skogsförsöksanstalt, 20: 1-206.
- Marxsen, J., 1988. Investigations into the number of respiring bacteria in groundwater from sandy and gravelly deposits. Microb. Ecol. 16: 65-72.
- Matthess, G., 1982. The Properties of Groundwater (J.C. Harvey, trans.). Wiley, New York.
- McNapp, J.F. en Dunlap, W.J., 1975. Subsurface biological activity in relation to groundwater pollution. Groundwater 13: 33-44.
- Melger, E.R., 1996. Modelling of bacterial transport in porous media. TNO-rapport GG-R-96-65 (B), NITG-TNO, Delft.
- Meyer-Reil, L.A., 1994. Microbial life in sedimentary biofilms – the challenge to microbial ecologists. Mar. Ecol. Prog. Ser. 112: 303-311.
- Missteart, B.D., Bisshop, P.K., 1997. Groundwater contamination from sewers: Experience from Britain and Ireland. In: Groundwater in the urban environment. Ed.: Chilton, J. et al. Balkema, Rotterdam. Vol. 1: 491-496. Mouzouras, R, Jones, E.B.G., Venkatasamy, R &

- Moss, S.T., 1986. Decay of wood by micro-organisms in marine environments. B.W.P.A. Annual convention.
- Nagashima, Y., Fukuda, K., Haraguchi, T., 1989. Bacterial degradation of wood cell walls in aquatic habitats. *Mokuzai Gakkaishi* 35: 839-844.
- Nagashima, Y., Fukuda, K., Sato, S., Moroboshi, N., Haraguchi, T., 1990a. Ultrastructural aspects of wood-degrading bacteria in aquatic habitats I. Tunneling bacteria. *Mokuzai Gakkaishi* 36: 1474-479.
- Nagashima, Y., Fukuda, K., Sato, S., Moroboshi, N., Haraguchi, T., 1990b. Coexistence of microfungus and bacterial degradation in a single wood cell wall. *Mokuzai Gakkaishi* 36: 480-486.
- Nagashima, Y., Fukuda, K., Sato, S., Haraguchi, T., 1990c. Morphological changes of wood-degrading erosion bacteria in aquatic habitats. *Mokuzai Gakkaishi* 36: 1076-1083.
- Nilsson, T., Daniel, G.F., 1983. Tunneling bacteria. International Research Group for Wood Preservation No. 1186.
- Nilsson, T., Daniel, G.F., 1992. Attempts to isolate tunneling bacteria through physical separation from other bacteria by the use of cellophane. IRG/WP No. 1535-92.
- Nilsson, T., Daniel, G., Bardage, S., 1990. Evidence for actinomycete degradation of wood cell walls. IRG/WP/1444.
- Nilsson, T., Holt, D., 1983. Bacterial attack occurring in the S₂ layer of wood fibres. *Holzforschung* 37: 107-108.
- Nilsson, T., Singh, A.P., 1984. Cavitation bacteria. International Research Group for Wood Preservation No. 1235.
- Nilsson, T., Singh, A.P., Daniel, G., 1992. Ultrastructure of the attack of *Eusideroxylon zwageri* wood by tunneling Bacteria. *Holzforschung* 46: 361-367.
- NNI. 1983. NEN 5491: Kwaliteits-eisen voor hout (KVH 1980) Heipalen – europees naalddhout. Delft.
- NWRW, 1989. Eindrapportage en evaluatie van het onderzoek 1982 – 1989. Ministerie van VROM, Den Haag.
- Oremland, R.S., Taylor, B.F., 1978. Sulfate reduction and methanogenesis in marine sediments. *Geochim. Cosmochim. Acta* 42: 209-214.
- Oremland, R.S., Marsh, L.M., Polcin, S., 1982. Methane production and simultaneous sulfate reduction in anoxic, salt marsh sediments. *Nature (Lond.)* 296: 143-145.
- Paajanen, L., Viitanen, H., 1988. Microbiological degradation of wooden piles in building foundations IRG/WP/1370 .
- Panshin A.J., De Zeeuw, C., 1990. Textbook of wood technology. McGraw-Hill publishing company.
- Peek, R.D., Liese, W., Parameswaran, N., 1972. Infektion und Abbau des Wurzelholzes von Fichte durch *Fomes annosus*. . *Eur. J. For. Path.* 237-248 (Sonderdruck).
- Peek, R.D., Willeinter, H., 1981. Behaviour of wooden pilings in long time service. *Proc. X. Int. Conf. Int. Soc. Soil Mech. Found.Eng., Stockholm*, vol III: 147-152.
- Poindexter, J.S., 1981. *Adv. Microb. Ecol.* 5: 63-89.
- Proceedings of the second international conference on groundwater ecology., 1994. American Water Resources Association, Herndon, Virginia.
- Rapp, O., Behrmann, K., 1998. Preparation of wood for microscopic analysis after decay testing. *Holz als Roh- und Werkstoff* 56: 277-278.
- Rauch, W., Stegner, Th., 1994. The colmation of leaks in sewer systems during dry weather flow. *Water Science Technology*. Vol. 30. No. 1,: 205-210.
- Reiss, W., Daniel, G., 1997. Evaluation of preservation efforts for the revolutionary war privateer Defence. *The international Journal of Nautical Archaeology* 26: 330-338.
- Reynolds, P.J., Sharma, P., Jenneman, G.E., McInerney, M.J., 1989. Mechanisms of microbial movement in subsurface materials. *Appl. Environ. Microbiol.* 55: 2280-2286.
- Rijnaarts, H.H.M., 1994. Interactions between Bacteria and Solid Surfaces in Relation to Bacterial Transport in Porous Media. CIP-DATA Koninklijke Bibliotheek, Den Haag.
- Robert F., 1992. GSA Abstracts with Programs, A104.
- Rogers, G.M., Jackson, S.A., Shelver, G.D., Baeker, A.A.W., 1992: Anaerobic degradation of lignocellulosic substrates by a 1,4 beta xylanolytic *Clostridium* species novum. *International Biodeterioration & Biodegradation* 29(1): 3-17.

- Sansone, F.J., Martens, C.S., 1981. Methane production from acetate and associated methane fluxes from anoxic coastal sediments. *Science* 211: 707-709.
- Schlegel, H.S., 1995. General microbiology. Seventh edition. Cambridge University press.
- Schmidt, O., 1980. Laboratory experiments on bacterial activity towards the woody cell wall. in: Biodeterioration, proceedings of the fourth international symposium, Berlin. Pitman publishing Ltd London.
- Schmidt, O., 1995. Bacterial wood degradation by a pure culture. International Research Group on wood preservation No. 10093.
- Schmidt, O., Bauch, J., 1980. Lignine in woody tissue after chemical pretreatment and bacterial attack. *Wood Science Technology* 14: 229-239.
- Schmidt, O., Dietrichs, H-H., 1976. Zur Aktivität von Bakterien gegenüber Holzkomponenten. *M. & O.* 3: 91-101.
- Schmidt, O., Liese, W., 1982. Bacterial decomposition of woody cell walls. *The international Journal of wood preservation* 2: 13-19.
- Schmidt, O., Liese, W., 1994. Occurrence and significance of bacteria in wood. *Holzforschung* 48: 271-277.
- Schmidt, O., Moreth, U., Schmitt, U., 1995. Wood degradation by a bacterial pure culture. *Mat & Org.* 29(4): 289-293.
- Schmidt, O., Nagashima, Y., Liese, W., Schmitt, U., 1987. Bacterial wood degradation studies under laboratory conditions and lakes. *Holzforschung* 41: 137-14-.
- Schmidt, O., Wolf, F., Liese, W., 1975. On the interaction between bacteria and wood preservatives. *Int. Biodetn. Bull* 11: 85-89.
- Sholl, M.A., Mills, A.L., Herman, J.S., Hornberger, G.M., 1990. The influence of mineralogy and solution chemistry on the attachment of bacteria to representative aquifer materials. *J. Contam. Hydrol.* 6: 321-336.
- Shotyk, W., 1986. An overview of the chemistry of the peatland waters. In: *Advances in Peatlands Engineering*. National Research Council Canada, Ottawa, Ont.: 159-171.
- Shotyk, W., 1988. Review of the Inorganic Geochemistry of Peats and Peatland Waters. *Earth-Sciences Reviews* 25: 95-176. Elseviers Science Publishers B.V., Amsterdam.
- Sinclair, J.L., Ghiorse, W.C., 1987. Distribution of protozoa in subsurface sediment of a pristine groundwater study site in Oklahoma. *Appl. Environ. Microbiol.* 53: 1157-1163.
- Sinclair, J.L., Ghiorse, W.C., 1989. Distribution of aerobic bacteria, protozoa, algae, and fungi in deep subsurface sediments. *Geomicrobiology Journal* 7: 15-32.
- Sinclair, J.L., Randtke, S.J., Denne, J.E., Hathaway, L.R., Ghiorse, W.C., 1990. Survey of microbial populations in buried-valley aquifer sediments from northeastern Kansas. *Ground Water* 28(3): 369-377.
- Singh, A.P., 1997a. The ultrastructure of the attack of *Pinus radiata* mild compressing wood by erosion and tunneling bacteria. *Can.J.Bot.* 75: 1095-1102.
- Singh, A.P., 1997b. Initial borders in *Pinus radiata* are resistant to degradation by soft rot fungi and erosion bacteria but not tunnelling bacteria. *Holzforschung* 51: 15-18.
- Singh, A.P., Butcher, J.A., 1985. Degradation of CCA-treated *Pinus radiata* posts by erosion bacteria. *Journal of the Institute of Wood Science* 10: 140-144.
- Singh, A.P., Butcher, J.A., 1991. Bacteria degradation of wood cells: a review of degradation patterns. *Journal of the Institute of Wood Science* 12: 143-157.
- Singh, A.P., Hedley, M.C., Page, D.R., Han, C., Atisongkroh, K., 1992. Microbial degradation of CCA-treated cooling tower timbers. *IAWA bulletin n.s. vol 13 (2)*: 215-231.
- Singh, A.P., Nilsson, T., Daniel, G.F., 1987. Ultrastructure of the attack of the wood of 2 high lignin tropical hardwood species *Alstonia scholaris* and *Homalium foetidum*, by tunneling bacteria. *Journal of the institute of wood sciences* june 1987.
- Singh, A.P., Nilsson, T., Daniel, G.F., 1990. Bacterial attack of *Pinus sylvestris* wood under near anaerobic conditions. *Journal of the Institute of Wood Science*: 237-249.
- Singh, A.P.; Nilsson, T.; Daniel, G.F., 1996. Variable resistance of *Pinus sylvestris*. In: Donaldson, L.A., Singh, A.P. & Butterfield, B.G. Third Pacific Regional wood anatomy conference, Roturua.
- Singh, A.P., Wakeling, 1993. Microscopic characteristics of microbial attacks of CCA-treated *Radiata Pine* wood. IRG/ WP/ 93-10011.

- Sjörs, H., 1950. On the relation between vegetation and electrolytes in North Swedish mire waters. *Oikos*, 2: 241-258.
- SKH. 1997. BRL 2302 Houten heipalen.
- Sparling, J.H., 1966. Studies on the relationship between water movement and water chemistry in mires. *Can. J. Bot.*, 44: 747-758.
- Stumm, W., Morgan, J.J., 1996. *Quatic Chemistry. Chemical Equilibria and Rates in Natural Waters*. A Wiley-interscience publication, John Wiley & Sons, Inc, New York.
- Stuurman, R.J., Jong, J. de, 1995. Grondwatersituatie Amsterdamse buurt Haarlem. TNO Grondwater en geo energie TNO-rapport GG-R-95-58(B).
- Schwab, E., Waschau, A., Willeitner, H., 1982. Bohrkerne zur Beurteilung der Festigkeit hölzerner Ramppfähle. *Bauen mit Holz* 84: 566-570.
- Tiedemann, G., Bauch, J., Bock, E., 1977. Occurrence and significance of bacteria in living trees of *Populus nigra* L. Sonderdruck aus *European Journal of Forest Pathology* 7: 364-374.
- The Intraterrestrials. *New Scientist*, 7 maart 1998.
- Thompson, P.D. The virus realm. J.P. Lippincott Compagny, Philadelphia, New York.
- Thurman, E.M., 1985. *Organic Geochemistry of Natural Waters*, pp. 14-18. Nijhoff/Dr. W. Junk, Boston.
- Tsoumis, G., 1991. Science and technology of wood, structure, properties, utilization. Van Nostrand Reinhold, New York.
- Tsuneda, A., Thorn, R.G., 1994. Interactions of wood decay fungi with other microorganisms, with emphasis on the degradation of cell walls. *Canadian Journal of Botany* 73 (suppl. 1 sect. E-H): 1325-1333.
- Umbreit, W.W., 1991. *Essentials of Bacterial Physiology*. Dowden, Hutchinson & Ross, Inc. Stordsborg, Pennsylvania.
- Vasudevan, N., Mahadevan, A., 1990. Degradation of black liquor lignin by Microorganisms. *Holzforschung* 44: 325-330.
- Venkatasamy, R., Mouzouras, R., Jones, E.B.G., Moss, S.T., 1990. Micromorphological aspects of the microbial decay of wood. In Howsam, P (ed.): *Microbiology in civil engineering*. Chapman & Hall.
- Vogels, G.D., 1979. The global cycle of methane. *Antonie van Leeuwenhoek* 45: 347-352.
- Vogels, G.D., Keltjens, J.T., van der Drift, C., 1988. Biochemistry of methane production. In: *Biology of anaerobic microorganisms*. A.J.B. Zehnder (ed.). Wiley & Sons, New York, 707-770.
- Wazny, J. 1968. Deterioration of ancient wood in Biskupin archaeological excavations. *M. & O.* 3: 53-62
- VROM, 1999. Schimmelaantasting in houten paalfunderingen.
- Walton, N.R.G., 1995. An unusual coexistence of sulphate-reducing bacteria and algae in a confined groundwater production system. *The Quarterly Journal of Engineering Geology*, Vol.30, Part 2, May 1997, The Geological Society.
- Wan, J., Wilson, J.L., Kieft, T.L., 1994. Influence of the gas-water interface on transport of microorganisms through unsaturated porous media. *Appl. Environ. Microbiol.* 60: 509-516.
- Wazny, J., 1968. Deterioration of ancient wood in Biskupin archaeological excavations. *Material & Organism*: 53-62.
- Van Weele, A.F., van Bueren, R., Maas, J.J., 1989. Kwaliteit van houten paalfunderingen in Amsterdam (oorzaak bezwijkend fundering concertgebouw). In: *PT civiel techniek* 3.
- Veldhuyzen, C.J., 1963. Het verbruik van houten heipalen in Nederland" van het Landbouw - Economisch Instituut.
- Wichert, H-W., 1988. Einfluß der Alterung auf die Tragfähigkeit von historischen Spickpahl-Gründungen. *Mitteilungen des Instituts für Grundbau und Bodenmechanik Technische Universität Baunschweig*.
- Weiss, T.H., Mills, A.L., Hornberger, G.M., Herman, J.S., 1972. Effect of bacterial shape on transport of bacteria in porous media. *Environ. Sci. Technol.* 29: 1737-1740.
- West, J.M., Chilton, P.J., 1995. Aquifers as environments for microbiological activity. *The Quarterly Journal of Engineering Geology*, Vol.30, Part 2, May 1997, The Geological Society.
- Wijnpersse, van W.J.M., 1931. De inlandsche grove den ongeschikt voor heipaal. *Bouw en waterbouwkunde* 7 no 14.

- Wilcox, W.W., 1970. Anatomical changes in wood cell walls attacked by fungi and bacteria. *The botanical review* 36: 1-28.
- Wilson, J.T., McNabb, J.F., Balkwill, D.L., Ghiorse, W.C., 1983. Enumeration and Characterization of Bacteria Indiginous to a Shallow Water-Table Aquifer. *Groundwater*, Vol. 20, No. 2.
- Wirdum, G. van, 1994. Veen, venen en moerassen [algemeen]. In: Beije, H.M. et al., 1994. *Bos- en Natuurbeheer in Nederland 1. Levensgemeenschappen*. 3e, herziene druk. Backhuys Publishers, Leiden.
- Yates, M.V., Yates, S.R., 1988. Modeling microbial fate in the subsurface environment. *CRC Crit. Rev. Environ. Control*, 17: 307-343.
- Zagwijn, W.H., 1991. *Geologie van Nederland. Nederland in het Holoceen*. Rijks Geologische Dienst te Haarlem. Sdu uitgeverij, 's Gravenhage.

Bijlage 1

Algemene opmerkingen: De hier genoemde kleurreagentia zijn alleen bedoeld voor lichtmicroscopische observaties.

De tijd die bij sommige kleurstoffen staat aangegeven om de coupes te kleuren is slechts een richtlijn. De een houdt van een donkere kleuring terwijl de ander het liever iets subtieler heeft. Vaak is een minimum tijd nodig maar is het niet altijd even zinnig om een maximum aan te geven, vooral de waarden die aan de hand van eigen ervaringen zijn vastgesteld dienen slechts ter indicatie. Veel kan ook afhangen van de dikte van de coupes die gebruikt worden, en wellicht ook de houtsoort.

Er moet worden opgepast met reactieweefsel (drukhout en trekhout) wat verward kan worden met aantastingbeelden. Zo wordt er bij drukhout meer lignine gevonden. Dit heeft een zelfde kleuring tot gevolg als bij aangetast hout. Verder kan de spiraalvormige structuur verward worden met softrot aantasting. Er moet dus altijd in coupes van verschillende oriëntaties gecontroleerd worden of de geconstateerde aantasting overal is terug te vinden.

Houtmonsters waar mogelijk bacteriële aantasting in zit moeten altijd nat worden gehouden omdat anders andere aantastingpatronen kunnen optreden en dat de bacteriën zelf anders niet meer te zien zijn.

Bij het herkennen van aantasting moet verschil gemaakt worden tussen kolonisatie en aantasting. Koloniserende bacteriën zitten vaak in de stippels (vastgeplakt in hars/ of gecondenseerd, zichtbaar als een ring in de hofstippel), droogt het hout dan verdwijnen de bacteriën vaak met het water. Bacteriën zijn vaak ook opgehoopt te zien bij tracheïdenstaarten (meestal in puntjes of korreltjes). De stippels zijn aantasting en de torus is weg (geen CD-weerspiegeling of kruisachtig effect, de stippel is leeg). Bij houtafbrekende bacteriën vertoont het hout vaak rode strepen of grauwe plekken en stinkt (boterzuur). Hier moet gekeken worden naar celwand degradatie. Herkenning van de verschillende vormen van bacteriële aantasting is in hoofdstuk 2 beschreven. In de Nederlandse heipalen komt bijna uitsluitend EB voor (soms ook TB). Observaties met het lichtmicroscop zijn voldoende om dit aantastingstype te kunnen herkennen. Radiale en kopse coupes met een dikte van circa 30 µm kunnen worden aangekleurd met onderstaande reagentia. Bij de herkenning van EB zijn de volgende kenmerken van cruciaal belang:

- Aanwezigheid van schimmeldraden;
- Verlies van lichtbrekende eigenschappen in aangetaste gebieden;
- V-vormingen inhammen in de axiale celwand;
- Erosie van de celwand van celholte naar middenlamel;
- Aanwezigheid van residu materiaal in aangetaste celwanden.

1. Astrablauw (Pechmann 1972)

Recept & gebruik

0.5 gr astrablauw

2.0 gr tartaarzuur (=weinszure)

100 ml gedestilleerd water

Drie minuten kleuren, daarna spoelen met gedestilleerd water.

Werking

Kleurt cellulose (hemicellulose niet), levende parenchym cellen en schimmeldraden. Indicator voor delignificatie (witrot),. Plaatsen met bacteriële aantasting worden donkerder blauw gekleurd. Reageert pas bij sterke schimmelaantasting.

2. Analine blue in lactic acid (Harmsen & Nissen 1965)

Recept & gebruik

50 gr melkzuur;
50 ml gedestilleerd water;
0.1 gr aniline blauw;

Los melkzuur op in water, voeg de anilineblauw toe, schud en filtreer de oplossing. De oplossing moet in koelkast bewaard worden.

Coupes (20-30 µm dik) 24 uur in oplossing. Spoelen in ethanol 5 tot 60 seconden, dan in water. Inbedden kan in glycerol.

Werking:

Kleurt melamine- en formaldehydesharsen. Celwanden (verzadigd met harsen) kleuren donkerblauw, andere terwijl andere delen lichtblauw kleuren.

3. Acidin-red Chrysiodin (Peek et al. 1972)

Recept & gebruik

0.5 gr Acridinred;
0.5 gr Chrysiodin;
10 ml. 5% Ammonium-aluminiumsulfaat oplossing;
1.0 ml azijnzuur (acetic acid);
100 ml gedestilleerd water.

Eerst de Ammonium-aluminiumsulfaat oplossen in water, daarna de rest toevoegen. Drie minuten kleuren met Acridinred-Chrysiodin

Werking:

Kleurt olie-achtige inhoudsstoffen en lignine rood-oranje. Bij witrot aantasting verandert oranje in rood.

4. Acridin-orange (Pechmann 1972, Kleist & Seehann 1997; Aufsess et al. 1968)

Recept & gebruik

Acridin-orange (0.01 (0.1, 0.5 – 1)% oplossing in gedestilleerd water, pH 8 – 10)

Coupes kleuren voor 5-10 minuten in de oplossing; uitspoelen bufferoplossing (pH 8-10), uitspoelen met aqua dest gaat ook (SHR). Bekijken met fluorescentie microscoop.

Werking:

Acridinorange kleurt gelignificeerde celwanden geel / groen, afhankelijk van concentratie (hoog wordt het oranje) en van het gebruikte filter van de fluorescentie microscoop. Witrot aantasting kan in een zeer vroeg stadium herkend worden, kleur verandert naar bruin / rood. Ook voor rood streperigheid (*Stereum*) in vuren. Verlies aan de eigen blauwe fluorescentie van hout maakt al in een vroeg stadium lignine afbraak zichtbaar echter weinig betrouwbaar, beter is om deze kleurstof te gebruiken.

5. Safranine (Pechmann 1972).

Recept & gebruik

1 gr safranine;
100 ml 50% alcohol (ethanol).
Los de safranine op in de alcohol.
Geen specifieke kleuringstijd, 5-10 minuten is voldoende. Uitspoelen in water.

Werking:

Kleurt lignine rood, geeft mate van lignificeringen en delignificering weer.

6. Acridin-red Chrysiodin / Astrablauw

Recept & gebruik

Acridin-red Chrysiodin (zie terug);

Astrablauw (zie terug);

Kleur eerst 5 minuten met Astrablauw voor, spoel met gedestilleerd water, kleur hierna 3 minuten met Acridinred Chrysiodin en weer spoelen.

Werking

Acridin-red Chrysiodin kleurt olieachtige inhoudsstoffen en lignine oranje / rood. Bij witrot aantasting verandert de kleur naar rood. Astrablauw kleurt delen met cellulose zonder lignine blauw.

7. Fast-green

Recept & gebruik

1 gr fast-green;

100 ml 70% alcohol (ethanol);

Los fast-green op in ethanol.

Coupes 15 minuten kleuren (ervaring SHR) en uitspoelen in water.

Werking

Kleurt cellulose, indicator voor delignificatie (witrot). Plaatsen met bacteriële aantasting worden donkerder groen gekleurd. Reageert pas bij sterke schimmelaantasting.

8. Safranine/Astrablauw (Pechmann 1972)

Recept & gebruik

150 mg Astrablauw;

40 mg Safranine;

2 ml ijsazijn (zuiver azijnzuur);

100 ml gedestilleerd water.

Verdun ijsazijn met gedestilleerd water en los de kleurstoffen hierin oplossing op.

Coupes 10 minuten kleuren, uitspoelen in water (ervaring SHR).

Werking

Voor Safranine en Astrablauw zie terug. Door de contrasterende werking van rood en blauw ontstaat er een duidelijkere beeld met name geschikt voor witrot aantasting.

9. Basacrylrot-Brilliantrot (Rapp-reactie) (Rapp. & Behrmann 1998)

Recept & gebruik

10 mg Basacryl-Brilliantrot (=diamantfuchsin);

100 mg Astrablauw;

100 ml gedestilleerd water;

Minimaal 10 minuten kleuren (ervaring SHR), uitspoelen met water.

Werking

Basacryl Brilliantrot kleurt lignine. Astrablauw kleurt cellulose: gezond weefsel zwak roze; niet gelignificeerd weefsel: blauw; bruinrot: donker roze; witrot: blauw – violet; softrot: resudial celwand materiaal rond caverne: zacht roze, hyfe: blauw; sterke softrot en Tb: blauw.

Een snelle methode voor een dubbele kleuring, ook geschikt voor de fluorescentie microscoop.

10. Trypanblue in Lactophenol (Nilsson & Singh 1984)

Recept & gebruik

Lactophenol: oplossing van 100 ml van gelijke delen melkzuur, glycerine en gedestilleerd water en 2.5 gram phenol.

0.1% oplossing van Trypanblue in Lactophenol.

Coupes 5-10 minuten kleuren (ervaring SHR). Niet uitspoelen.

Werking

Individuele bacteriën kleuren blauw. CB zichtbaar als kleine ronde individuele cellen.

11. Sudan IV

Recept & gebruik

25 gr Sudan IV;

350 ml 96% alcohol (ethanol);

150 ml gedestilleerd water.

Verwarm de alcohol, los hierin Sudan IV op, voeg hierna het water toe.

Coupes 5-10 minuten kleuren, uitspoelen met aqua dest.

Werking:

Vettige inhoudstoffen worden aangekleurd.

12. Picrin Analin blauw

Recept & gebruik

Kant en klaar te koop.

Coupe in oplossing, oplossing tot kookpunt verwarmen.

Werking

Hyfen kleuren blauw, sterk aangetast hout kleur blauw, niet aangetast hout kleurt groen, geschikt voor witrot en bacteriële aantasting.

1. Acridine orange Aufsess et al. (1968); Kutscha & mcormond (1972)

Recept & gebruik

0,01% tot 1% in Aqua dest.

Ervaring SHR kleuren voor 10 –15 minuten in 0.01% oplossing en vervolgens even lang spoelen in water; De kleuring geeft de beste resultaten wanneer de coupes in water bekeken worden, alcohol heeft een sterk uitlogend effect.

Werking

Gelignificeerd weefsel wordt geel-groen tot oranje (eigen ervaring met vuren, grenen, beuk, en populier). Kleuring is afhankelijk van de concentratie. Bij lage concentraties is het verhoude weefsel meer groen en bij hogere concentraties meer geel-oranje. Parenchym en parenchym inhoud en harskanalen worden oranje tot soms rood omdat ze meer kleurstof opnemen dan het gelignificeerde weefsel. Weefsel met veel lignine ziet er groenachtig uit. Reactiehout: G-layer en trekhout wordt donkerder. In drukhout wordt de gelaagdheid zichtbaar met een groenere S2 laag. Lignine afbraak (door witrot) veroorzaakt een verkleuring van de S2 naar rood of bruin.

Spectrale waarde Excitation at 470nm (blue), fluorescentie emissie at 530-650nm, dus een grote spreiding van geel –groen tot oranje tot rood.

Oppassen Acridine orange is mogelijk mutageen.

BIJLAGE II

Vragen

Gebruik gegevens onderzoek op postcode identificatie toegestaan?	Ja*	Nee*
Prikgegevens palen met prikapparaat aanwezig?	Ja*	Nee*

Indien de eerste twee vragen met "ja" zijn beantwoord ga dan verder met de volgende vragen.
Deze vragen zoveel mogelijk invullen (lees eerst toelichting op de vragen; bij blijvende onduidelijkheid gaarne contact met Wareco Amsterdam).

Postcode project					
Type fundering					
Palen getrokken	Ja*	Nee*			
Aantal geïnspecteerde palen in onderzoek	Stuks				
Diameter palen	A: mm	B: mm	C: mm	D: mm	
Prikgegevens palen	A: mm	B: mm	C: mm	D: mm	
Niveau prikgegevens beneden paalkop	A: mm	B: mm	C: mm	D: mm	
Meetapparaat					
Nulmeting meetapparaat	mm				
Prikgegevens overig funderingshout	mm				
Laboratoriumonderzoek houtsoort palen	Ja*	Nee*			
Laboratoriumonderzoek overig funderingshout	Ja*	Nee*			
Houtsoort palen					
Houtsoort overige houten onderdelen					
Paallengte	A: m	B: m	C: m	D: m	
bron gegeven:					
Bouwjaar heiwerk					
Schadebeeld o.b.v. laboratorium palen	Schimmel *	Bacteriën *	Anders t.w.		
bacteriënkweek uitgevoerd:	Ja*	Nee*			
Schadebeeld o.b.v. laboratorium overig funderingshout	Schimmel *	Bacteriën *	Anders t.w.		
Schadebeeld o.b.v. visuele waarneming inspectie palen	Geen*	Aangetast *			
Schadebeeld o.b.v. visuele waarneming inspectie overige hout	Geen*	Aangetast *			
Bodemmateriaal rond funderingshout en paalkop	Zand*	Veen*	Klei *	Anders t.w.	
Grondwaterstand t.o.v. funderingshout	m				
Oorzaak aantasting (conclusie onderzoek)					

* doorhalen wat niet van toepassing is

T oelichting bij de vragen

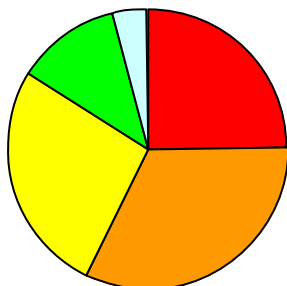
3. type fundering; onderscheid in de navolgende typen is gewenst: Rotterdamse, Amsterdamse, betonopzetters (met lengteopgave), anders t.w.
4. palen getrokken; aangeven hoeveel palen getrokken zijn. Als er palen getrokken zijn, hierna vervolgens uitsluitend de paalkopgegevens weergeven; nadere info wordt in een latere fase separaat opgevraagd.
5. aantal palen in onderzoek; binnen een project kan onderzoek bestaan uit inspecties van veel palen. Bij deze vraag het totaal van de onderzochte palen aangeven. Verzocht wordt om een representatieve selectie van maximaal vier palen binnen een project aan te geven.
6. diameter palen; diameter van de verschillende palen A, B, C en D in mm aangeven.
7. prikgegevens palen; gemiddelde meetwaarden per paal in mm aangeven.
8. niveau prikgegevens beneden paalkop; in mm beneden de kop van de paal.
9. meetapparaat; naam dan wel omschrijving van het apparaat aangeven.
10. nulmeting meetapparaat; dit is de meting van het apparaat in goed, niet aangetast hout
11. prikgegevens overig funderingshout; deze prikgegevens van het overige funderingshout (kesp, vloerhout e.d.) in mm aangeven.
12. laboratoriumonderzoek houtsoort palen; aangeven of dit wel of niet is uitgevoerd.
13. laboratoriumonderzoek overig funderingshout; aangeven of dit wel of niet is uitgevoerd.
14. houtsoort palen; bij lab onderzoek is dit de uitslag; bij geen lab onderzoek kan de interpretatie van de inspecteur worden opgegeven.
15. houtsoort overige houten onderdelen; zie vraag 15.
16. paallengte; aangeven in meters en waar het gegeven verkregen is, bijvoorbeeld archief, bodemopbouw, getrokken paal, en dergelijke.
17. leeftijd heiwerk; jaar van aanbrengen heiwerk vermelden plus bronvermelding.
18. schadebeeld o.b.v. laboratorium onderzoek palen; onderscheid tussen schimmel en bacterien en aangeven of bacteriekweek heeft plaatsgevonden.
19. schadebeeld o.b.v. laboratorium overig funderingshout; zie vraag 18.
20. schadebeeld o.b.v. visuele waarneming inspectie palen; hier de interpretatie van de inspecteur: Bijvoorbeeld geen zichtbare gebreken aan de paal, paalkop zichtbaar aangetast.
21. schadebeeld o.b.v. visuele waarneming inspectie overige hout; zie vraag 20.
22. bodemmateriaal rond funderingshout en paalkop; uit inspectierapport alleen het materiaal direct om het funderingshout opgeven; bijvoorbeeld klei, veen, zand.
23. grondwaterstand t.o.v. funderingshout; het verschil in niveau in meter aangeven; negatief verschil is droogstand.
24. oorzaak aantasting (conclusie onderzoek); hier het eindoordeel van het onderzoek met betrekking tot de schade oorzaak. Dus niet de eindconclusie met betrekking tot het functioneren van de fundering van het betreffende pand.

Bijlage III

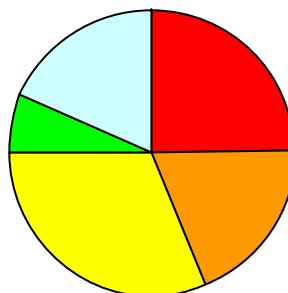
Bacteriële aantasting van palen, ongeacht de houtsoort

postcode gebied	plaats	aantasting					aantal
		zeer ernstig	ernstig	matig	licht	geen	
10	Amsterdam	25%	32%	27%	12%	4%	350
14	Purmerend	25%	19%	31%	6%	19%	16
15	Zaandam	8%	21%	42%	25%	3%	585
20	Haarlem	44%	27%	23%	5%	0%	921
25	Den Haag	13%	25%	44%	6%	13%	32
26	Delft	0%	25%	25%	25%	25%	4
27	Waddinxveen	13%	17%	28%	37%	4%	75
28	Gouda	21%	26%	31%	20%	2%	290
29	Nieuw Lekkerland	30%	50%	0%	20%	0%	10
30	Rotterdam	6%	0%	6%	44%	44%	16
33	Dordrecht	15%	27%	35%	23%	0%	48
36	Maarsen	0%	0%	0%	25%	75%	4
69	Diemen	25%	75%	0%	0%	0%	4
11	Amstelveen	0%	0%	0%	100%	0%	4
23	Leiden	0%	0%	0%	0%	100%	2
Eindtotaal	Nederland	27%	26%	30%	15%	3%	2384

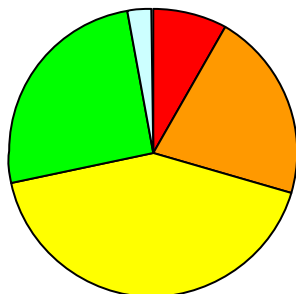
Amsterdam, 350 onderzocht



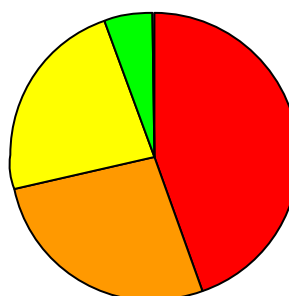
Purmerend, 16 onderzocht



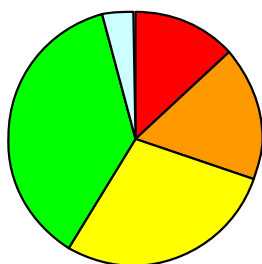
Zaandam, 585 onderzocht



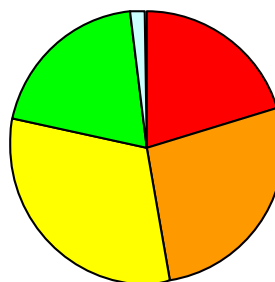
Haarlem, 921 onderzocht



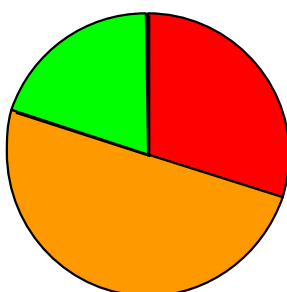
Waddinxveen, 75 onderzocht



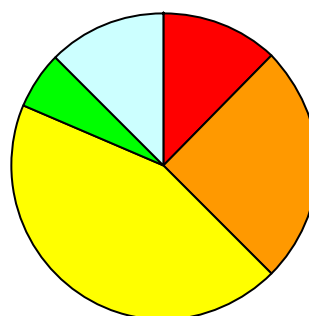
Gouda, 290 onderzocht



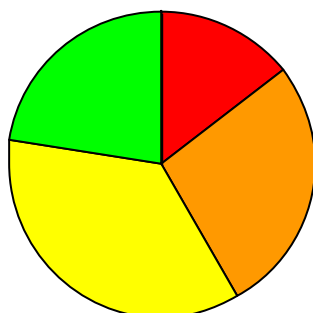
Nieuw Lekkerland, 10 onderzocht



Den Haag, 32 onderzocht



Dordrecht, 48 onderzocht



Nederland, 2384 onderzocht

