

Renere teknologi til undgåelse af biologisk vækst på murværk, tegl- og Betontage

- Udvikling og afprøvning af biologiske testmetoder

Charlotte Frambøl, Helge Hansen, Jens Østergaard,
Anne Pia Koch og Tommy Jacobsen
Teknologisk Institut

Line Balschmidt og Ulrik Søchting
Københavns Universitet

Miljøstyrelsen vil, når lejligheden gives, offentliggøre rapporter og indlæg vedrørende forsknings- og udviklingsprojekter inden for miljøsektoren, finansieret af Miljøstyrelsens undersøgelsesbevilling.

Det skal bemærkes, at en sådan offentliggørelse ikke nødvendigvis betyder, at det pågældende indlæg giver udtryk for Miljøstyrelsens synspunkter.

Offentliggørelsen betyder imidlertid, at Miljøstyrelsen finder, at indholdet udgør et væsentligt indlæg i debatten omkring den danske miljøpolitik.

Indhold

INDHOLD	3
FORORD	7
SAMMENFATNING OG KONKLUSIONER	9
BAGGRUND FOR PROJEKTETS DELFASE 3 – ”TESTMETODER”	9
FORMÅL	9
AFGRÆNSNING OG ANGREBSVINKEL	9
SAMMENFATNING	10
<i>Udvikling af testmetode</i>	11
<i>Afprøvning af testmetode</i>	11
<i>Kvalitetskontrol af afrensning</i>	12
<i>Testmetode til mekanisk rensning</i>	12
RESULTATER AF DELFASEN: ”UDVIKLING OG AFPRØVNING AF BIOLOGISKE TESTMETODER”	13
DISKUSSION	14
KONKLUSION	14
SUMMARY AND CONCLUSIONS	15
BACKGROUND FOR PHASE 3 OF THE PROJECT – TEST METHODS	15
SCOPE	15
DEFINITION AND APPROACH	15
SUMMARY	16
<i>Development of test method</i>	16
<i>Evaluation of the test method</i>	17
<i>Quality control of cleaning</i>	17
<i>Test method for mechanical cleaning</i>	18
RESULTS FROM PHASE 3	18
DISCUSSION	19
CONCLUSIONS	19
1 INDLEDNING	21
1.1 BAGGRUND	21
1.2 AFGRÆNSNING	21
1.3 KILDER	22
2 FORMÅL	23
3 MÅLGRUPPE	25
4 BIOLOGISK VÆKST OG PRØVNING	27
4.1 INDLEDNING	27
4.2 DEFINITION AF BIOLOGISK PRØVNING	27
4.3 ORGANISMER TIL PRØVNING	28
5 AKTIVITETER	29
5.1 INDLEDNING	29
5.2 EKSISTERENDE STANDARDER	29
5.3 STANDARDISERINGSGRUPPER	29
5.4 NATIONALE OG INTERNATIONALE KONTAKTER	30
5.5 LITTERATURUNDERSØGELSE	30

5.6	UDKAST TIL STANDARD TIL LABORATORIEPRØVNING	30
5.7	LABORATORIEPRØVNING	30
5.8	ANDEN PRØVNING	30
6	BAGGRUND	31
6.1	RELEVANTE RESULTATER AF LITTERATURSØGNING OG ERFARINGER FRA KUNDEOPGAVER	31
6.2	RELEVANTE RESULTATER AF KORTLÆGNINGSFASEN	31
6.2.1	<i>Kemiske midler</i>	31
6.2.2	<i>Mekaniske metoder</i>	32
6.2.3	<i>Midler og metoder til forebyggelse af biologisk vækst</i>	32
6.2.4	<i>Behov for dokumenteret afprøvning</i>	33
7	EKSISTERENDE BESKREVNE METODER	35
7.1	INDLEDNING	35
7.2	TESTMETODER	35
7.2.1	<i>Metoder med alger</i>	35
7.2.2	<i>Metoder med mosser</i>	36
7.3	KONKLUSION	36
8	LABORATORIETEST	38
8.1	INDLEDNING	38
8.2	ALGEDYRKNING	38
8.2.1	<i>Algekulturer</i>	38
8.2.2	<i>Kultursamlinger</i>	39
8.2.3	<i>Dyrkningsbetingelser</i>	39
8.3	MÅLING AF PH UNDER DYRKNING SAMT PH'S EFFEKT PÅ ALGER	40
8.3.1	<i>pH udvikling under dyrkning</i>	40
8.3.2	<i>pH-påvirkning af alger under dyrkning</i>	41
8.4	BIOLOGISK LABORATORIETEST	42
8.4.1	<i>Baggrund - Grant & Bravery's "Vermiculite-bed technique" (1981)</i>	42
8.4.2	<i>Metode til laboratorietest af "midler" til fjernelse/bekæmpelse af algevækst</i>	43
8.4.3	<i>Test af "produkter" til forebyggelse af algevækst</i>	44
8.4.4	<i>Test af "materialers" naturlige evne til at modstå algevækst</i>	45
8.5	KARAKTERISERING AF MATERIALEPARAMETRE – ACCELLERERET ÆLDNING	46
8.6	DISKUSSION	47
8.7	KONKLUSION	48
9	KOMBINERET LABORATORIETEST OG FELTPRØVNING	50
9.1	INDLEDNING	50
9.2	MEKANISK RENSNING MED/UDEN FORUDGÅENDE KEMISK BEHANDLING	51
9.3	METODE TIL TEST AF MEKANISK RENSNING	52
9.4	DISKUSSION	54
9.5	KONKLUSION	54
10	METODER TIL KVALITETSKONTROL AF RENSEMIDLER/-METODERS EFFEKT	56
10.1	INDLEDNING	56
10.2	BIOLOGISK KVALITETSKONTROL	56
10.3	METODER TIL KVALITETSKONTROL	57
10.3.1	<i>Aftryksplader</i>	57
10.3.2	<i>MycoMeter metoden</i>	58
10.4	AFPRØVNING AF METODER TIL KVALITETSKONTROL	59

10.4.1	Metode til kvalitetskontrol af afrensning på algebegroet overflade	59
10.4.2	Metode til kvalitetskontrol af afrensning på lavbevokset overflade	60
10.5	DISKUSSION	62
10.6	KONKLUSION	62
11	TEST AF UDVALGTE MIDLER, PRODUKTER, MATERIALER OG METODER IHT. DE UDVIKLEDE METODER	64
11.1	INDLEDNING	64
11.2	LABORATORIETEST	64
11.2.1	Test af midler til rensning af bevoksninger iht. standardmetode bilag 2, Del A	64
11.2.2	Test af imprægneringsmidler iht. standardmetode bilag 2, Del B	66
11.3	AFPRØVNING AF METODE TIL TEST AF MEKANISK RENSNING	66
11.3.1	Hedvandsrensning af kalciumsilikatplader inficeret i laboratorium med alger	67
11.3.2	Kemisk behandling med og uden efterfølgende hedvandsrensning af naturligt inficerede tagsten	70
11.4	DISKUSSION	73
11.5	KONKLUSION	74
12	REFERENCER	77

Bilag 1: Oversigt over testmetoder

Bilag 2: Testmetode

Bilag 3: Resultatopgørelse vedr. identifikation af skimmelsvampe på sålbænk

Forord

Denne delrapport beskriver 3. fase af projektet: Renere Teknologi til undgåelse af biologisk vækst på murværk, tegl- og betontage. Projektet blev bevilget af Miljøstyrelsen og blev gennemført af Teknologisk Institut.

Projektet var opdelt i 4 faser:

- 1. fase omfattede en kortlægning af metoder til forebyggelse og bekæmpelse af biologisk vækst i konstruktionens brugsfase/vedligeholdelsesfase.
- 2. fase omhandlede undersøgelser af forekomst af biologisk vækst og dens virkning på materialer.
- 3. fase omfattede udvikling og afprøvning af metoder til test af metoder og midler til forebyggelse og bekæmpelse af biologisk vækst.
- 4. fase omfattede oplæg til handlingsplaner for renere teknologiløsninger og udarbejdelse af slutrapport.

Projektet har givet følgende konkrete resultater:

- En aktuel oversigt over hvilke metoder og kemiske midler, der anvendes til forebyggelse og fjernelse af biologisk vækst, samt i hvilken udstrækning de enkelte metoder og midler anvendes.
- En kortlægning af forekomsterne af biologisk vækst på murværk, tegl- og betontage. Herunder blev der foretaget identifikation af de organismer, som i praksis groede på materialerne. Endvidere blev parametre, der har betydning for forekomst og omfang af den biologiske vækst, kortlagt. Afrapporteringen af dette forløb indeholder beskrivelser af de væsentligste typer biologisk vækst bl.a. vha. farveillustrationer.
- En metode til test af midler og metoder til forebyggelse og bekæmpelse af biologisk vækst.
- En beskrivelse af de muligheder, der er i de enkelte livscyklusfaser for renere teknologiløsninger.

Projektet blev fulgt af en følgegruppe bestående af:

- Pia Ølgaard Nielsen og Inge Vibeke Hansen, Miljøstyrelsen
- Dan C. Møller, Lafarge Braas Dansk Tag A/S
- Kurt Degn, A/S Randers Tegl
- Lars Christian Bentzon, Optiroc A/S
- Tommy Bisgaard, Kalk- og Teglværksforeningen af 1893
- Tim Padfield, Nationalmuseet
- Christian Bolding, Carl Bro as
- Allan Søstrøm, Boligselskabet Præstehaven
- Tommy B. Jacobsen, Teknologisk Institut, Beton
- Anne Pia Koch, Teknologisk Institut, Bioteknik
- Jens Østergaard, Helge Hansen og Charlotte K. Frambøl, Teknologisk Institut, Murværk

Sammenfatning og konklusioner

Baggrund for projektets del fase 3 – "Testmetoder"

Der har ikke været tradition for at dokumentere effekten af kemiske rensningsmidler, overflademidler eller metoder til forebyggelse og bekæmpelse af bevoksninger på udvendige bygningsflader. Denne delfase omhandler denne problemstilling. Projektet var afgrænset til at omhandle murværk, tegl og betontage. I delfase 1 er det bl.a. undersøgt hvilke midler og metoder, der anvendes til afrensning og behandling, og i delfase 2 er det bl.a. undersøgt hvilke organismer, der rent faktisk gror på disse materialer. Denne delfase har taget udgangspunkt i ønsket om at kunne afprøve midler og metoder under kontrollerede forhold og derved få et realistisk billede af effekten af et givet middel eller en metode.

Formål

Formålet med projektfasen "Testmetoder" var at:

udvikle en laboratoriemetode til test af midler og metoder til forebyggelse og bekæmpelse af bevoksninger på murværk, tegl- og betontage, der kan vise virkningen dels på relevante typer af biologisk vækst, dels på relevante fysiske parametre hos materialerne.

Følgende overordnede program var lagt:

- Det undersøges, om der findes prøvningsmetoder beskrevet i allerede eksisterende standarder eller i litteraturen, som kan være relevante for formålet
- Der udarbejdes et forslag til en standardiseret prøvningsmetode, som kan gennemføres i laboratorium
- Den udarbejdede standard afprøves og tilpasses i laboratorieforsøg
- På baggrund af den eksisterende viden om laboratorie- og feltprøvning og de indhøstede erfaringer fra projektet udarbejdes et udkast til en prøvningsmetode, som kan anvendes til test af f.eks. mekanisk rensning.
- I forbindelse med ovenstående udvikles en metode til hurtig kontrol af vækst, der kan anvendes ved feltprøvning, in-situ prøvning og kvalitetskontrol.

Afgrænsning og angrebsvinkel

I projektet er betegnelsen "biologisk vækst" anvendt som en fællesbetegnelse for:

- Bakterier
- Alger
- Svampe
- Laver
- Mosser

Højere planter og facadebeplantninger var ikke omfattet af projektet.

Projektet omfatter alene de organismer, der kan vokse på de nedenfor nævnte materialer i Danmark:

- Murværksmaterialer inkl.:
 - teglsten
 - kalksandsten
 - natursten
 - muremørtel
 - pudsmørtel
 - kalkede murværksoverflader
 - malede murværksoverflader
- Tegltagsten
- Betontagsten

Der blev dog især fokuseret på teglsten, tegltagsten og betontagsten.

I projektet blev der skelnet mellem følgende faser i livscyklus for murværk og tage:

1. Udvinning af råvarer
2. Produktion
3. Konstruktion
4. Opførelse/ Udførelse
5. Brugsfase/vedligeholdelsesfase
6. Nedrivning – genanvendelse

Projektets tredje fase: "Testmetoder", var afgrænset til at omfatte:

- Undersøgelse af eksisterende prøvningsmetoder
- Udvikling, beskrivelse og afprøvning af en metode til laboratorietest med alger som testorganisme
- Udkast til en metode til afprøvning af rensemetoder

Endvidere blev mulighederne for test in-situ drøftet, og der er givet et eksempel på en metode til hurtig kontrol af algevækst, der kan anvendes ved prøvning og kvalitetskontrol.

Sammenfatning

Det er ønskeligt, at der findes metoder til dokumentation af midlers bekæmpende/forebyggende/rensende effekt overfor bevoksninger samt at forskellige materials naturlige modstandsdygtighed overfor etablering af bevoksning kan testes.

Der er derfor foretaget en grundig undersøgelse af, hvilke relevante testmetoder, der findes beskrevet og afprøvet. Egentlige standarder findes ikke, men der er flere steder i Danmark og udlandet gennemført ad hoc prøvninger og forsøg, som dels er beskrevet i litteraturen og dels i kommercielle rapporter. Disse informationer er samlet og kategoriseret i en oversigt, se bilag 1. De enkelte metoder findes ikke beskrevet tilstrækkelig grundigt i kildematerialet til, at de uden videre kan anvendes som standarder. Men informationerne kan anvendes som et idekatalog ved valg og videreudvikling af testmetoder til vurdering af materials naturlige varighed og forebyggende/bekæmpende effekt af midler og produkter ved udendørs eksponering.

Udvikling af testmetode

I projektet er der arbejdet med videreudvikling og afprøvning af en laboratoriemetode, som på grundlag af projektarbejdet er beskrevet i sædvanlig prøvningsstandard format. Den detaljerede metodebeskrivelse for ovennævnte testmetode findes i bilag 2. Udgangspunktet var en metode beskrevet af Grant & Bravery (1981). Metoden er blevet videreudviklet på nogle punkter, så den bl.a. kan dække flere prøvningsformål, og forenklet på andre, bl.a. ved at vælge en monokultur af grønalger, i stedet for at arbejde med blandingskulturer.

Udfra Teknologisk Instituts kendskab til prøvning og de informationer om forekomst af bevoksninger, materialeegenskaber med videre, der er fremkommet i projektføreløbet er der foretaget valg af primær testorganisme nemlig grønalgen *Stichococcus bacillaris* Nägeli, som er meget almindelig udbredt og let at dyrke og opformere i laboratorium. Faciliteter til dyrkning af alger er etableret. En række forhold omkring optimering af dyrkningsbetingelser er undersøgt og afprøvet. Herunder pH's indflydelse på alger og vice versa. Herved er det konstateret, at algen trives bedst ved pH over 7, og at der foregår en vekslende påvirkning af pH i mediet bl.a. afhængig af tid og næringsindhold i mediet.

Der er afprøvet forskellige relevante testmaterialer, teglmursten, betonfliser og et plademateriale, som underlag for algevækst. Materialets overfladestruktur og porøsitet har stor betydning for vækstens udvikling generelt og materialefargen har betydning for, hvor sikkert den visuelle registrering kan gennemføres. Med de erfaringer, der er draget udfra de gennemførte forsøg, foreslås en cellulosefiberarmeret kalciumsilikatplade som det primære testmateriale. På dette materiale kan alger dyrkes ensartet og repeterbart under konstante laboratorieforhold og væksten er synlig og dermed let at registrere visuelt. Såvel prøvningsmetode som dyrkningsfaciliteter er afprøvet og fungerer iht. det beskrevne.

Afprøvning af testmetode

Med henblik på at afprøve testmetodens duelighed til forskellige formål og eventuelt foretage yderligere tilpasning af metodebeskrivelsen er der foretaget begrænset prøvning af udvalgte midler, produkter og materialer. Afprøvningsne bør derfor primært betragtes som en test af metoden og ikke som en afprøvning af de specifikke midler, produkter og materialer. Metodens egnethed er testet med henblik på at dække følgende formål:

- Prøvning af midler til bekæmpelse eller rensning af murværk, tegl- og betontage
- Prøvning af midler til forebyggelse af etablering af bevoksninger
- Prøvning af materialers modstandsdygtighed overfor etablering af bevoksninger

To udvalgte rensmidler er afprøvet efter producentens anvisninger. Forsøget har vist, at det kan lade sig gøre at producere ensartede resultater i parallelle emner, og at det kan lade sig gøre at dokumentere forskelle mellem forskellige produkter.

Der er foretaget en mindre afprøvning af en hydrofobierende imprægnering. Formålet med afprøvningen var at teste, om man ved brug af metoden kan påvise forskelle i vækst, når en afgørende materialeparameter påvirkes. Ved

afprøvningen er de behandlede prøveplader ikke blevet udsat for relevant ældning efter behandling. Ved afprøvning af specifikke produkter til forebyggelse af bevoksning skal det understreges, at det er væsentligt, at materialerne efter behandling med midlet udsættes for en relevant accelereret ældning.

Der er anvendt forskellige ubehandlede materialer som "kontrol" i prøvningen af rensmidler, og på den måde er det demonstreret dels, at det valgte basismateriale - cellulosefiberarmeret kalciumsilikatplade – er et godt testmateriale, som giver kraftig vækst på relativ kort tid efter podning, men også at der er forskel på, hvor hurtigt og hvor kraftigt andre materialer bliver begroet. Laboriemetoden skønnes derfor egnet til prøvning f.eks. i forbindelse med udvikling af produktparametre, der vedrører materialeoverfladen.

Kvalitetskontrol af afrensning

Ovennævnte forsøg leder naturligt tanken hen på muligheder for in situ afprøvning og kvalitetskontrol af afrensning i praksis. Med udgangspunkt i metoder til undersøgelse af skimmelforekomst på indvendige overflader er der foretaget nogle mindre forsøg med brug af aftryksplader og MycoMetermetode.

Aftryksplader, indeholder et specifikt dyrkningsmedium, hvorpå man kan dyrke de organismer, der afsættes i form af sporer eller mikrodele på pladen, når den trykkes mod en overflade, hvor der er bevoksning på. Hvis medium og dyrkningsforhold er rigtig for organismene, kan man på denne måde undersøge, om der er vækst eller mulighed for vækst, også selvom det ikke umiddelbart er synligt på materialet. Ved MycoMeter metoden, registreres vækst direkte ved en enzymatisk reaktion specifik for skimmelsvampe.

Både aftryksplader og MycoMeter-test er afprøvet i et mindre forsøg med kemisk afrensning af algebevokset murværk og betonsålbænk med blandet bevoksning af alger, skimmelsvampe og laver. Aftryksplader blev anvendt i forbindelse med et forsøg med hedvandsrensning af algebevoksede materialer. Forsøgene har vist, at aftryksplader med specifikt alge- eller svampemedium tilsyneladende kan anvendes til kvalitetskontrol af afrensning af plane overflader bevoksede med alger eller skimmelsvampe. Metoden vil også kunne anvendes i laboratorie- og feltforsøg samt i praksis ved afprøvning i forbindelse med udvikling af rensmetoder og -midler. Aftryksplader kan ikke anvendes til lavbevoksning eller mosser. MycoMeter metoden er ikke velegnet overhovedet i den afprøvede form. En videre udvikling og afprøvning af metoderne er dog nødvendig for endelig dokumentation af metodernes egnethed.

Testmetode til mekanisk rensning

En metode til afprøvning af mekanisk rensning er beskrevet og afprøvet. Afprøvningen blev udført med et udstyr til hedvandsrensning med få udvalgte procesparametre. En mindre serie af forskellige materialer, kalciumsilikatplader, tegltagsten af forskellig type og betontagsten blev testet. Pladematerialet var podet med alger i laboratorium, mens de øvrige materialer var naturligt bevoksede. Materialerne blev rensset og overfladen blev undersøgt før og efter rensning både for evt. skadevirkning af rensningen og for bevoksninger. Efter forsøget blev kalciumsilikatpladerne re-eksponeret i laboratorium, mens tagstensmaterialerne blev hængt udendørs på stativ med 45 graders hældning. Efter 6 mdr. blev materialerne registreret visuelt og med lup for evt. begroning. Der sås kraftig algevækst på alle røde tegltagsten og kun lidt vækst af

laver. På betontagsten og kalciumsilikatplader var der stort set ingen vækst. Felteksponeeringen fortsætter.

Ved hjælp af denne eller lignende test kan forskellige procesparametre og udstyr afprøves på forskellige relevante materialer. Da afprøvningen samtidig har afsløret, at der ved mekanisk rensning kan være risiko for at skade materialeoverfladen, forekommer det af stor betydning at få metoderne afprøvet. Det har været overraskende at se hvor hurtigt nogle materialer bliver bevokset igen ved udendørs felteksponeering. Metoden bør dog afprøves og tilpasses yderligere og beskrives til en egentlig standard.

Resultater af del fasen: "Udvikling og afprøvning af biologiske testmetoder"

Generelt har arbejdet med delfasen dokumenteret behovet for at gennemføre effektivitetsvurdering på et realistisk grundlag af de produkter og metoder, der markedsføres. Der skønnes endvidere at være behov for at vurdere risikoen for ændring af materialernes egenskaber ved brug af midler og metoder.

De konkrete resultater af delfasen er, at der nu foreligger:

- En oversigt over hvilke testmetoder, der har været anvendt tidligere, dels baseret på litteraturundersøgelser, dels baseret på gennemførte prøvninger rapporteret og dokumenteret til enkeltfirmaer
- En gennemprøvet standard til afprøvning af rensmidler, overflademidler og materialer, som er beskrevet og afprøvet på udvalgte produkter og materialer. Variationer over prøvningsmetoden er ligeledes afprøvet, og det er beskrevet hvilke tillæg, der kan tages i anvendelse ved aftale om prøvningsforløb med en individuel producent.
- I forbindelse med ovennævnte er der etableret og afprøvet faciliteter til laboratorieprøvning med mulighed for inkubering ved kunstigt lys og konstant temperatur og fugtighed. Der er foretaget indledende dyrkninger af monokultur af grønalge med henblik på optimering af dyrkningsforhold og i den forbindelse er det ligeledes afprøvet, hvordan pH påvirker alger, og hvordan alger påvirker pH i omgivende medium.
- En metode til prøvning af mekanisk rensning er beskrevet og afprøvet, men vil kræve videre undersøgelse og afprøvning med henblik på at sikre et veldokumenteret resultat.
- En metode, der kan anvendes til kvalitetskontrol af algeafrensning eller til dokumentation ved prøvning af mekanisk rensning er ligeledes afprøvet og beskrevet.

Der er hermed skabt grundlag for at tilbyde producenter af rensmidler, malingsproducenter mv. samt udførende rensfirmaer og producenter af materialer til udendørs eksponering et prøvningsprogram til dokumentation af effekt med henblik på forebyggelse og bekæmpelse af bevoksninger på udendørs eksponerede materialer eller til dokumentation af et givet materiales modstandsdygtighed overfor etablering af bevoksninger.

Diskussion

Det var projektets formål at udvikle en laboratoriemetode til test af midler og metoder til forebyggelse og bekæmpelse af bevoksninger på murværk, tegl- og betontage, der kunne vise virkningen dels af relevante typer af biologisk vækst, dels på relevante fysiske parametre hos materialerne.

Vi har i projektet valgt at fokusere på laboratorieprøvning med enkeltkultur af grønalger fremfor mere tidskrævende feltprøvninger. Det ideelle vil være at kombinere flere biologiske prøvningsmetoder og inkludere ældningsprocedurer og undersøgelse af materialeparametre. I hvert enkelt tilfælde må der selvfølgelig tages stilling til, hvordan et prøvningsprogram bedst kan sammenstilles. Projektet har givet det fornødne erfaringsgrundlag for at sammensætte og gennemføre et prøvningsprogram, idet mange forskellige parametre er afprøvet i mindre skala.

Der er ligeledes sat fokus på og åbnet for videreudvikling af et kvalitetssikringskoncept til påvisning af effekten af afrensning i praksis. Da projektets resultater samtidig har vist, at materialernes konstruktive levetid ikke bliver væsentlig forkortet i forhold til det forventede ved bevoksning af forskellige organismer, er der skabt grundlag for at udvise stor forsigtighed med bevidst at påvirke materialerne ved afrensning, overfladebehandling osv. uden at have dokumenteret, at der derved kan opnås en forbedring på sigt og ikke blot en kortvarig – måske mindre end 6 mdr's - renere udseende. I den forbindelse skal det dog understreges, at afrensning forud for overfladebehandling, hvor god vedhæftning er afgørende, er en særlig problemstilling.

Konklusion

På baggrund af arbejdet med udvikling og afprøvning af testmetoder og de erfaringer, der er gjort i projektet som helhed og i delfasen om testmetoder, kan vi konkludere følgende:

Der savnes veldokumenterede kemiske rensmidler, som er effektivt afprøvet til formålet: Afrensning af bevoksninger på mur, tegl- og betontage. Faciliteter og metoder til biologisk laboratorieprøvning eksisterer, og der er mulighed for i samarbejde med producenter at tilpasse prøvninger efter formål og behov. Det er ligeledes muligt at undersøge midlernes effekt på materialeparametre.

Der savnes ligeledes dokumentation af midler til overfladebehandling. Her bør inddrages materialeundersøgelser og ældning i forbindelse med biologisk prøvning.

Endvidere er der mulighed for sammenlignende prøvning af materialers naturlige modstandsdygtighed overfor begroning både ved laboratorieprøvning og ved udendørs felteksponering, hvor synlig bevoksning af laver og alger tilsyneladende kan etableres på 6 mdr. på materialer, der er ældet og/eller skadet.

Prøvningerne kan anvendes både i forbindelse med dokumentation af enkeltprodukter, men også i kombination og ved udvikling af nye materialer, midler og metoder.

Summary and conclusions

Background for phase 3 of the project – Test methods

In phase one of the project, agents and methods used for cleaning were investigated, and phase two examined the organisms actually living on the surfaces of buildings. In this phase we wanted to test the effect of agents and methods under controlled conditions, primarily because there is no tradition for documenting the effect of chemical cleaning agents, surface agents or methods to prevent or control biological growth on outdoor surfaces of buildings. The project was limited to masonry, clay, and concrete tiles.

Scope

The aim of this phase of the project was to develop a laboratory method to test agents and techniques used to prevent or control biological growth on bricks, clay, and concrete tiles. Both the effect of different types of biological growth and the physical parameters of the materials were included.

The following work programme was made:

- A literature review to investigate whether existing tests may be relevant in connection with the current test.
- Preparation of a standard laboratory test method to test agents and products.
- Testing the draft standard and adjustment in the laboratory.
- A draft method for testing mechanical cleaning on the basis of existing knowledge and the results from this project.
- Development of a technique for quick examination of biological growth. This technique may be used in connection with field-testing, *in-situ* testing, and quality control.

Definition and approach

In the project the term “biological growth” was used to cover growth of:

- Bacteria
- Algae
- Fungi
- Lichens
- Mosses

Higher plants such as facade plantings were not included in this project.

The project only includes organisms that can grow in Denmark on the materials mentioned below:

- Masonry materials including
 - bricks
 - calcium silicate bricks
 - granite/gneiss
 - masonry mortar

- rendering mortar
- whitewashed masonry surfaces
- painted masonry surfaces
- Clay tiles
- Concrete tiles

Emphasis was on bricks, clay and concrete tiles.

The project distinguished between the following life cycle phases for masonry and roofs:

- Extraction of raw materials
- Production of building materials
- Design
- Construction/execution
- Use/maintenance
- Demolition – recycling/reuse

Summary

It is desirable to develop methods for documentation of agents' abilities to prevent and control biological growth. Also the resistance of different materials to biological growth may be tested.

Therefore a literature review of excising methods was conducted. Official standards do not exist, but in several countries, including Denmark, tests and projects have been described in the literature and in commercial reports. This information was collected and organised (see appendix 1). None of the methods in the literature were described in sufficient detail that they could be used as a standard. On the other hand the information may act as inspiration when choosing and developing methods. For example to evaluate materials' resistance to deterioration or the controlling effect of agents in outdoor exposure.

Development of test method

In this project a method described by Grant & Bravery (1981) was used as a starting point to develop and test a new method. The original method was changed in several ways, e.g. expanded to cover several purposes, and simplified by using a monoculture of green algae instead of a mixed culture.

The new method was described using the format for standard tests.

The primary test organism, *Stichococcus bacillaris* Nägeli, was chosen on the basis of knowledge at the Danish Technological Institute (DTI) and the results obtained during this project. *S. bacillaris* commonly occurs on building materials and is easy to culture under laboratory conditions. Facilities to culture algae were established and several growth conditions were optimised. For example *S. bacillaris* grows best when pH is above 7, and pH in the growth medium is influenced by nutrients in the medium and the age of the culture.

Several materials were tested as a surface for algal growth: bricks, concrete, and a slab material. The surface structure and the porosity of the material are very important for the development of algal growth.

The colour of the material is important when evaluating the growth visually. Among the materials tested, the cellulose reinforced calcium silicate slab gave reproducible uniform growth, which was easy to register visually. Therefore, this material was suggested as the primary test material.

Evaluation of the test method

In order to test the method for different applications, and if necessary make corrections, a limited study of selected agents and materials was performed. This was done to test the method and cannot be viewed as a test of the agents and materials involved.

The method was tested with the following aims:

- To test agents to maintain or clean masonry, tile, and concrete roofs.
- To test agents to prevent establishment of biological growth.
- To test the resistance of materials to biological growth.

Two cleaning agents were tested according to the manufacturer's protocol. The experiment showed that it was possible to produce uniform results on replicate items and that it was possible to distinguish between the different products.

Small-scale testing of a hydrophobic impregnate was carried out. The scope of the test was to investigate whether the method could track changes in biological growth caused by a physical change in the material. The test items were not artificially aged. It is important to note that relevant artificial ageing must be conducted when testing agents to prevent biological growth on materials.

Different untreated materials were used as control when testing the cleaning agents. In this way it was demonstrated that the chosen primary test slab, a cellulose-reinforced calcium silicate slab, supports good growth of algae in a relatively short time. It was also shown that there was a large variation in the amount of growth and how quickly it was established on different materials.

Thus, this method was well suited to test, e.g. product parameters concerning the surface of the material.

Quality control of cleaning

On the basis on the above experiment, *in-situ* testing and testing of techniques for quality control of cleaning were carried out. Using the techniques used at the DTI for detection and identification of fungi in indoor environments, small-scale experiments were conducted using Rodac plates containing specific media for different groups of organisms (algae and fungi).

The MycoMeter test, which is specific for fungi, was also used. Rodac plates are pressed against the surface in question so spores or fine parts of the organisms present are deposited on the plates. The plates are incubated and depending on the specificity of the medium, fungi or algae will grow. In this way it is possible to test organisms present on a surface, even though they are not visible. The MycoMeter-test is based on an enzymatic reaction specific to fungi.

Both techniques were tested in small-scale experiments with chemical cleaning of masonry and concrete sills with biological growth comprising a mixture of algae, fungi, and lichens. The experiments showed that Rodac plates containing a specific medium might be used to control the quality of cleaning of plane surfaces containing biological growth of algae and fungi. The technique may be used in laboratory testing, field-testing and in practical testing of new cleaning methods or agents. Rodac plates are not suitable for growth of lichens or mosses. Further testing is needed to document the usefulness of this technique.

The MycoMeter-test was not appropriate for this purpose.

Test method for mechanical cleaning

A method for testing mechanical cleaning was described and tested. Calcium silicate slabs, different clay tiles, and concrete tiles were cleaned using a hot-water treatment. The slab material was injected with algae in the laboratory, while the biological growth on the other materials was established naturally.

The surface of the materials was examined before and after cleaning in order to detect possible damage to the materials and the effect of the cleaning procedure. After the experiment the slab material was re-injected in the laboratory, while the tiles were placed outdoors at a 45° angle. After six months biological growth was recorded visually. All red tiles had large amounts of algal growth and minor amounts of lichens. On concrete tiles and the slab material no growth was recorded. The field experiment continues.

Results from phase 3

This part of the project has documented the need to perform evaluations of the effect of the methods and products on the market. Evaluation of the risk of changing the properties of the materials when using these products and methods is also required.

The results of phase 3 consist of:

- An overview of previous test methods.
- A standard for examination of cleaning agents, surface agents, and materials described and tested on selected products and materials. Also variations of the standard have been described and tested. These variations may be used to determine the actual test procedure for, e.g. a producer of an agent.
- In connection with the above, standard facilities for laboratory testing have been established, including incubation with artificial light, constant temperature and moisture. Growth of monocultures of green algae has been performed to optimise the growth conditions.
- A method for testing mechanical cleaning has been described and tested. Further documentation is needed.
- A technique for either quality control of cleaning or to document the testing of mechanical cleaning was described and tested.

With this basis it is possible to offer, e.g. producers of cleaning agents and paints, cleaning companies or producers of materials exposed to outdoor conditions a program for validation of their products' effect on preventing or

controlling biological growth on outdoor exposed materials. It is also possible to document the resistance of a material to biological growth.

Discussion

In this project focus was on laboratory testing using a monoculture of a green algae, instead of more time-consuming field tests. Ideally several biological test procedures, ageing procedures, and investigations of parameters of the materials should be combined. In each case the optimal test program must be put together. This project gives the basis for combining and performing a test program.

The project also initiated the development of a concept for quality assurance of cleaning of biological growth. The results from this project showed that the durability of materials is not shortened compared to the expected durability when growths of different organisms occur. Therefore care should be taken when treating materials with cleaning procedures, surface treatments, etc. without documentation for a long-term improvement and not just a short-term (maybe less than six months) cleaner appearance.

Conclusions

On the basis of the experience obtained from this phase and the project, we can conclude:

- There is a lack of well-documented chemical cleaning agents, whose effect has been tested when cleaning biological growth on masonry, clay, and concrete tiles.
- Facilities and methods for biological laboratory testing exist, and it is possible to adjust the tests in accordance with the needs of the producer.
- It is also possible to test the agents' effect on different parameters of the materials.
- There is a lack of documentation of surface-treatment agents. Examinations of the materials and artificial ageing must be included in the biological testing.
- Finally it is possible to compare materials' resistance to biological growth in laboratory tests and outdoors field tests. Visible growth of lichens and algae can be established in six months on aged or damaged materials. These tests can be used as documentation of single products or when developing new agents, methods, or materials.

1 Indledning

1.1 Baggrund

Forskellige metoder og midler anvendes til forebyggelse og bekæmpelse af biologisk vækst på murværk, beton og tage. Midlers og metoders effektivitet er ikke dokumenteret efter ensartede retningslinjer, og rådgivere har derfor ingen mulighed for at vurdere, hvad der virker bedst. Andre hensyn end effektivitet kan være væsentlige, som f.eks. midlers og metoders virkning på materialerne på kort og langt sigt. Endvidere er de miljø- og arbejdsmiljømæssige aspekter væsentlige.

Forudsætningen for at kunne vurdere effektiviteten af midler og metoder er, at der fra et anerkendt prøvningslaboratorium kan tilbydes en uvildig prøvning, som kan dokumentere effektiviteten på et sammenligneligt grundlag og med resultater, som ligger tæt på de resultater, man kan se ved praktisk anvendelse. En sådan prøvning kan både være en ren laboratorieprøvning, en accelereret feltprøvning og en længerevarende feltprøvning eller en kombination af disse.

Forespørgsler om metoder og midler til bekæmpelse af vækst på murværksmaterialer, tegl- og betonkonstruktioner udgør en væsentlig del af henvendelserne til Teknologisk Institut, Murværk, Beton og Bioteknik.

Projektet var en naturlig fortsættelse af projekterne:

- "Renere Teknologi i Tegl- og Mørtelbranchen", ref. M. 128-0772
- "Undersøgelse af 2-Deoxy-D-glycose som aktivstof i bekæmpelsesmidler til byggematerialer, del 2, Midler til bekæmpelse af biokorrosion af bygningssfacader – en litteraturgennemgang.

1.2 Afgrænsning

I projektet anvendtes betegnelsen "biologisk vækst" som en fællesbetegnelse for

- Bakterier
- Alger
- Svampe
- Laver
- Mosser

Højere planter og facadebeplantninger var ikke omfattet af projektet.

Projektet omfattede alene de organismer, der kan vokse på de nedenfor nævnte materialer i Danmark:

- Murværksmaterialer inkl.:
 - teglsten
 - kalksandsten
 - natursten
 - muremørtel
 - pudsmørtel

- kalkede murværksoverflader
- malede murværksoverflader
- tegltagsten
- betontagsten

Der blev dog især fokuseret på teglsten, tegltagsten og betontagsten.

I projektet blev der skelnet mellem følgende faser i livscyklus for murværk og tage:

1. Udvinning af råvarer
2. Produktion
3. Konstruktion
4. Opførelse/ Udførelse
5. Brugsfase/vedligeholdelsesfase
6. Nedrivning – genanvendelse

Projektets tredje fase: "Testmetoder", var afgrænset til at omfatte:

- undersøgelse af eksisterende metoder
- udvikling og afprøvning af en metode til laboratorietest med alger som testorganisme
- udkast til en metode til feltprøvning

Endvidere blev mulighederne for test in-situ drøftet, og der er givet et eksempel på en metode til hurtig kontrol af algevækst, der kan anvendes ved prøvning og kvalitetskontrol.

1.3 Kilder

Oplysninger er indhentet fra:

- leverandører/producenter af midler
- producenter af murværks- og tagmaterialer
- rensfirmaer
- byggemarkeder o.lign.
- relevante myndigheder og institutioner
- internationale kontakter

Oplysningerne er indhentet ved brug af:

- erfaringsopsamling fra tidligere kundeopgaver
- søgning i litteratur og på internettet
- relevante standardiseringsorganer og grupper

2 Formål

Formålet med fasen var at:

udvikle en laboratiemetode til test af midler og metoder til forebyggelse og bekæmpelse af bevoksninger på murværk, tegl- og betontage, der kan vise virkningen dels på relevante typer af biologisk vækst, dels på relevante fysiske parametre hos materialerne.

Følgende overordnede program var lagt:

- Det undersøges, om der findes prøvningsmetoder beskrevet i allerede eksisterende standarder eller i litteraturen, som kan være relevante for formålet
- Der udarbejdes et forslag til en standardiseret prøvningsmetode, som kan gennemføres i laboratorium
- Den udarbejdede standard afprøves og tilpasses i laboratorieforsøg
- På baggrund af den eksisterende viden om laboratorie- og feltprøvning og de indhøstede erfaringer fra projektet udarbejdes et udkast til en prøvningsmetode, som kan anvendes til test af f.eks. mekanisk rensning.
- I forbindelse med ovenstående udvikles en metode til hurtig kontrol af vækst, der kan anvendes ved feltafprøvning, in-situ prøvning og kvalitetskontrol.

3 Målgruppe

Projektet henvender sig til

- myndigheder
- producenter af midler og metoder
- forhandlere af midler og metoder
- udførende håndværksfirmaer
- laboratorier
- rådgivere
- bygherrer
- boligselskaber
- amter og kommuner

og andre, der ønsker kendskab til, hvordan man kan dokumentere effekten af midler og metoder til bekæmpelse eller forebyggelse af biologisk vækst ved uvildig prøvning.

4 Biologisk vækst og prøvning

4.1 Indledning

Biologisk vækst anvendt som generel betegnelse i denne rapport omfatter alle de organismer, der kan vokse på tegltagsten, betontagsten, teglsten og mørtel i Danmark. Det er et miljø, der er stærkt udsat for vejr og vind med store udsving i temperatur og fugtighed. Det er også et miljø, som biologisk set må betegnes som meget næringsfattigt og til en hvis grad kalkrigt.

Organismerne, der er knyttet til det miljø, som dette projekt handler om, hører til følgende grupper: bakterier, alger, svampe, laver, mosser, andre sporeplanter og højere planter. Der er foretaget undersøgelser af, hvilke arter, der kan findes på murværk, tegl- og betontagsten, og der er udarbejdet et katalog over disse med titlen "Bevoksning på murværk, tegl- og betontage". Dette katalog kan fremover anvendes ved undersøgelser til bestemmelse af begroninger. Endvidere findes beskrivelser af organismerne i delrapporten "Undersøgelse af forekomster", kapitel 7. Afsnittet her handler derfor udelukkende om biologiske testorganismer.

Et godt kendskab til hvilke vækster, der kan vokse på materialerne i praksis, samt et grundigt materialekendskab er forudsætningen for at kunne udvikle en prøvning, hvorved materialers, produkters og metoders evne til at modvirke eller bekæmpe etablering og vækst af de uønskede organismer, kan testes. De eksisterende midler og metoder til forebyggelse og bekæmpelse af bevoksninger er blevet kortlagt i delfase 1, og i delfase 2 er der foretaget undersøgelser af bevoksninger i relation til materialeegenskaber både ved undersøgelser af bygninger og i laboratorium. Disse undersøgelser danner baggrund for 3. fase, som omhandler udvikling og afprøvning af testmetoder.

4.2 Definition af biologisk prøvning

Ved biologisk materiale- og produktprøvning forstås:

- Prøvning af et materiale og/eller et produkt hver for sig eller i kombination overfor en eller flere organismer med henblik på at vurdere materialets eller produktets evne til at forebygge etablering og eventuel skadevirkning af organismerne eller bekæmpe (eventuelt dræbe) allerede etablerede organismer på et materiale eller i et produkt.
- En prøvning skal kunne gentages med samme resultat indenfor en veldefineret usikkerhedsramme.
- En prøvning skal indeholde et element af sammenligning til referencemateriale eller -produkt.
- En prøvning skal indeholde et sæt variable, således at produktets eller materialets ydeevne beskrives bedst muligt, for kemiske midler kan det være en relevant række af koncentrationer af produktet; for mekanisk rensning kan det være en relevant serie af procesparametre.

En prøvning, der skal anvendes som dokumentation overfor myndigheder eller kunder, har størst værdi, hvis den er foretaget på et uvildigt grundlag af folk med høj faglig kompetence og kvalitetskontrol, f.eks. et laboratorium akkrediteret af DANAK.

4.3 Organismer til prøvning

Ved biologisk prøvning kan man vælge mellem, at lave forsøg i laboratorium under fuldt kontrollerede forhold og feltprøvning i jord, luft eller vandeksponering under en eller anden form, hvor vejrligets indflydelse spiller ind i alle tilfælde. Med et klima som det danske vil en udendørs prøvning ofte tage flere år, fordi vækstsæsonen er kort sammenlignet med f.eks. tropisk klima. Ofte er industrien imidlertid interesseret i kortvarige prøvninger, såkaldt accelererede prøvninger, som kan give et hurtigt resultat. Det betyder, at man må vælge laboratorieforhold eller feltprøvning under varmere himmelstrøg.

Man kan skabe et kontrolleret indemiljø tilpasset alle organismer. Principielt kan man altså lave en laboratorieprøvning med både bakterier, alger, svampe, laver, mosser, andre sporeplanter samt højere planter, dog er der nogle organismer, der er nemmere at håndtere end andre. Typisk omtales midler i handlen til forebyggelse og bekæmpelse af begroning på udvendige overflader som algemidler. Bakterier er noget man forbinder med desinfektion og hygiejne. Svampemidler er enten til bekæmpelse af trænedbrydende svampe eller til skimmelsvampe på træ. Når der tales om mosmidler, tænker man på græsplæner. Det var derfor naturligt at arbejde med alger i denne sammenhæng, og det er vigtigt, at såvel producent som kunde kan identificere sig med mål og hensigt for en given prøvning. Resultatet skal jo ofte anvendes både til offentlig godkendelse og til markedsføring.

Baseret på den erfaring laboratoriet har, er der stor sandsynlighed for, at kemiske midler, der virker effektivt på alger, også virker på skimmelsvampe og på laver, der er en blanding af svamp og alge. Et bredspektret middel baseret på f.eks. benzalkoniumklorid, anvendes også til desinfektion af bakterier. Det betyder dog ikke, at alle algemidler også virker på bakterier. Mosser vil i mange tilfælde kunne fjernes manuelt eller mekanisk, men det er også muligt at teste midlers effekt over for mosser, se kap. 7 og bilag 1.

I kapitel 7 samt i bilag 1 er der redegjort for, hvilke relevante test, der findes. I kapitel 8, 9, 10 og 11 findes beskrivelser af de prøvninger, der er udviklet og afprøvet i projekforløbet.

5 Aktiviteter

5.1 Indledning

I det følgende gennemgås kort de aktiviteter, der er gennemført i forbindelse med denne fase.

5.2 Eksisterende standarder

Standarder til biologisk prøvning af bekæmpelsesmidler er kendt, f.eks. når det gælder prøvning af effektiviteten af midler til forebyggelse af angreb af trædelæggende svampe og insekter. Også indenfor malingsindustrien anvendes biologisk prøvning til f.eks. dokumentation af holdbarhed af maling og effektivitet til at modstå angreb af skimmelsvampe og alger. Andre standardprøvninger kendes f.eks. indenfor fødevarerindustrien, hvor det især er skimmelsvampe og bakterier, der er testorganismer. Til dokumentation af træbeskyttelsesmidlers effekt til forebyggelse af og bekæmpelse af biologiske angreb anvendes prøvninger både i laboratorium, på feltareal, in situ samt kombinationer heraf.

Biotekniks laboratorium er akkrediteret af DANAK iht. den internationale standard ISO 17025 (tidl. den europæiske norm EN 45001) til at udføre biologisk materiale- og produktprøvning. I samarbejde med Teknologisk Institut, Træteknik udføres også feltprøvninger.

Der er foretaget en undersøgelse af hvilke standarder, der allerede foreligger, som kan være relevante i denne sammenhæng. Der findes to store standard databaser nemlig www.DS.dk og www.ASTM.org. Desuden er søgt i svenske og tyske standard databaser.

5.3 Standardiseringsgrupper

Indenfor standardisering af biologisk prøvning findes forskellige arbejdsgrupper, der arbejder med at udvikle nye standarder og revidere eksisterende standarder, så de tilpasses brugen og den udvikling i midler og metoder til forebyggelse og bekæmpelse af biologisk nedbrydning/bevoksning, der løbende finder sted. Disse grupper kan være indenfor CEN eller andre isolerede brancherelaterede grupper. Medlemmerne er ofte specialister fra forskellige anerkendte prøvningslaboratorier og produktspecialister fra industriens udviklingslaboratorier.

Der er foretaget et rundspørge til forskellige standardiseringsudvalg og sekretariater med henblik på at høre hvilket arbejde, der eventuelt er i gang, som kunne være relevant for dette projekt.

Det drejer sig om CEN og IBRG – International Biodeterioration Research Group – Paints working group, Algicidal paints project og IRG – International Research Group on Wood Preservation.

5.4 Nationale og internationale kontakter

Alger og mosser kan også volde problemer i gartnerier, dels ved at gro på drivhusene men også ved at skade planterne. Vi har derfor kontaktet Statens Jordbrugsforskning, afdeling for plantebeskyttelse for at høre hvilke metoder, de anvender til dokumentation af effektiviteten af midler til forebyggelse/bekæmpelse af algevækst mm. De har ingen rutinemæssig prøvning, men har foretaget enkelte prøvninger primært i drivhus. Desuden er Miljøstyrelsens arkiv konsulteret med henblik på at se, hvilken dokumentation, der forelå på godkendte produkter til bekæmpelse af bevoksninger på materialer.

På Københavns Universitet, Botanisk Institut findes en afdeling, der arbejder med forskning indenfor alger, og der er faciliteter til og viden om dyrkning af alger, men de foretager ikke materiale- og produktprøvning. Denne afdeling har vi kontaktet forud for etablering af instituttets faciliteter til algeprøvning.

Repræsentanter fra TNO Building and Construction research, Dep. For Material Science, Delft, Holland var på studiebesøg på Teknologisk Institut, hvor de fortalte om et lignende projektarbejde, hvor de ligeledes arbejder med dyrkning af alger.

Endvidere har vi kontaktet Building Research Establishment, Centre for Timber Technology and Construction, Watford i England med henblik på at udveksle erfaringer vedrørende prøvning med alger. Med henblik på at sikre leverance af standardalge til prøvning er UKNCC – Culture Collections of Algae and Protozoa, Ambleside, England kontaktet og har leveret algekultur.

5.5 Litteraturundersøgelse

Relevant litteratur er søgt via tekniske biblioteker og internetsøgning. På bl.a. den baggrund er der udarbejdet en oversigt over testmetoder, se bilag 1.

5.6 Udkast til standard til laboratorieprøvning

Et udkast til en standardiseret ”testmetode for bestemmelse af den bekæmpende/beskyttende effekt af midler mod biologisk vækst” er udarbejdet på baggrund af litteratur-undersøgelsen, anden information samt de erfaringer, der allerede forelå i Bioteknik, se bilag 2.

5.7 Laboratorieprøvning

Standardtesten er afprøvet i laboratorieforsøg og justeret i henhold til de erfaringer, der er opnået, kap. 8 og 11. Et forslag til en accelereret og forenklet blandet laboratorie/ feltprøvning er udarbejdet og afprøvet på hedvandsrensning i mindre skala, kap. 9.

5.8 Anden prøvning

Der er udviklet og afprøvet en metode til dokumentation af effekt af mekanisk rensning og kemisk rensning ved laboratorie- og feltprøvning kap. 10. Endvidere er der afprøvet en metode til kvalitetskontrol af algeafrensning.

6 Baggrund

6.1 Relevante resultater af litteratursøgning og erfaringer fra kundeopgaver

Alger er valgt som testorganisme til laboratorieprøvning ud fra såvel generelle krav til en testorganisme som mere specifikke krav. Desuden omtales midler til bekæmpelse af bevoksninger på murværk, tegltagsten og beton oftest som algemidler.

En testorganisme skal kunne trives i laboratorium under vel beskrevne forhold og kunne vokse naturligt og i videst muligt omfang uhæmmet. En laboratorieprøvning skal være reproducerbar på det givne testlaboratorium og andre kvalificerede laboratorier skal kunne udføre testen efter en vel beskrevet standardmetode. Desuden er det hensigtsmæssigt, at en laboratorieprøvning ikke varer længere end max. 6 mdr.

Specifikke krav er, at testorganismen skal kunne vokse på et standardiseret medium, der enten er et kunstigt næringsmedium f.eks. et flydende kunstigt medium, et fast agarmedium eller et testmateriale, der tilnærmet ligner de(t) materiale(r), hvorpå produktet skal anvendes.

Højere planter, mosser og laver er enten meget langsomt voksende eller vanskelige at dyrke i laboratorium. Svampe findes ikke i samme udstrækning som alger synlige udbredte på murværksmaterialer. Alger derimod er meget udbredte og kan dyrkes i laboratorium under kontrollerede forhold, og resultaterne kan genskabes. Prøvningsresultater opnås på kortere tid end 6 mdr. Alger er også af andre laboratorier valgt som testorganisme. Den eksisterende viden om bakteriers betydning er endnu ringe, og derfor er bakterier som testorganismer valgt fra. Desuden er de usynlige i praksis.

6.2 Relevante resultater af kortlægningsfasen

6.2.1 Kemiske midler

Kortlægning af markedet har vist, at der anvendes en lang række forskellige kemiske midler til rensning af biologisk vækst på murværk, tegl- og betontage.

De kemiske midler kan inddeles i følgende hovedgrupper:

- Midler indeholdende kvarternære ammoniumforbindelser
- Midler indeholdende hypochlorit
- Midler indeholdende organiske fedtsyrer og sæber (salte af organiske fedtsyrer)
- Midler indeholdende uorganiske eller organiske syrer
- Midler indeholdende uorganiske baser
- Diverse andre midler

Kortlægningen har bekræftet, at en lang række af de mest anvendte midler ikke kan anvendes i overensstemmelse med gældende miljølovgivning. De få

midler, der kan anvendes i overensstemmelse med lovgivningen er forholdsvis uafprøvede af branchen. Der er generelt ingen eller ringe dokumentation af effekten af de enkelte midler fra producentens side, hvilket der ganske vist heller ikke stilles krav om fra myndighedernes side.

Alle de nævnte kemiske midler, som er væsker, samt eventuelt nye kombinationer i væske eller pastaform vil kunne afprøves i laboratorium såvel som i feltprøvning eller kombination heraf. Effektivitetstest vil kunne suppleres med forudgående kunstig ældning eller udvaskning efter allerede beskrevne standardmetoder eller tilpasset formålet.

For de kemiske midler gælder, at de med enkelte undtagelser generelt anvendes på samtlige materiale- og konstruktionstyper omfattet af projektet. De kemiske midler anvendes af både private husejere, boligselskaber og professionelle firmaer. De professionelle firmaer anvender dog ofte en kombination af kemisk middel og mekanisk metode.

6.2.2 Mekaniske metoder

Af mekaniske metoder ses følgende anvendt:

- Blæserensning, våd
- Blæserensning, lavtryk
- Højstryksrensning 250-700 bar
- Højtryksspuling
- Højtryksspuling med varmt vand / hedvandsrensning / damprensning
- Udkradsning af fuger, børstning med stålbørste o.lign.

Af de mekaniske metoder er det særligt hedvandsrensning og lavtryksblæserensning, som anvendes. De mekaniske metoder anvendes ofte i kombination med et af de kemiske midler.

Anvendelse af mekaniske metoder kræver udstyr, der fylder og bedst kan anvendes på større flader. Metoderne er derfor ikke velegnede til afprøvning i laboratorieregi, men bør derimod testes i feltprøvning eller en kombination heraf. Hvor metoderne anvendes i kombination med et kemisk bekæmpelsesmiddel bør dette være testet i laboratorium, før prøvning af kombinationen igangsættes.

For de mekaniske metoder gælder, at de primært anvendes af professionelle rensfirmaer, dog findes der også mindre højtryksrensere til privat brug. Forskellige former for højtryksmetoder er set anvendt på samtlige materiale- og konstruktionstyper omfattet af projektet. Blæsemetoder ses kun anvendt på murværkskonstruktioner og ikke på tage.

6.2.3 Midler og metoder til forebyggelse af biologisk vækst

De forebyggende midler og metoder anvendes generelt kun af professionelle firmaer. Midlerne til forebyggelse kan inddeles i følgende hovedgrupper:

- Imprægneringsmidler
- Forseglingsmidler
- Maling

Midler til imprægnering er mest anvendt. Der skelnes imellem følgende typer af imprægneringsmidler:

- Monosilantype

- Oligomersilantype
- Siloxantype (oligomer)
- Silikoneharpikstype (polymer)

Professionelle rensfirmaer anbefaler typisk en imprægnering af lodret murværk efter afrensning af biologisk vækst. Imprægnering af tage er tilsyneladende også ved at blive mere almindeligt.

Forsegling af murværk og tage ses kun anvendt i praksis i mindre udstrækning. En del af de listede produkter er forholdsvis nye på markedet, og erfaringerne er derfor begrænsede.

Maling anvendes ikke i praksis med det formål at forebygge biologisk vækst men derimod for at skabe en vandafvisende overflade eller ændre kulør. Forebyggelse mod biologisk vækst er dog ønsket ved maling på murværk, tegltagsten og beton, fordi malingslaget kan skades af den biologiske vækst. Mange malinger indeholder foruden konserverende stoffer også komponenter, der forebygger biologisk vækst. De typer af maling, der markedsføres med en effekt overfor biologisk vækst, er tilsat et biocid og/eller tilsat komponenter, der påvirker konstruktionens fugtforhold. De samme biocider og/eller komponenter findes også ofte i hydrofoberende midler – såkaldte imprægneringsmidler.

Midler til forebyggelse af biologisk vækst vil kunne testes ved en biologisk prøvning efter samme princip som bekæmpelsesmidler testes. Laboratorietests kan også her kombineres med feltprøvning. Feltprøvning vil i højere grad kunne afsløre effekten på længere sigt på den rette kombination af middel, materiale og vejrligs påvirkning. Feltprøvning vil typisk strække sig over 1 – 5 år.

6.2.4 Behov for dokumenteret afprøvning

Kortlægningsfasen har skabt et overblik over, hvilke midler og metoder, der anvendes på markedet til forebyggelse og bekæmpelse af bevoksninger på facader og tage. Desuden har kortlægningsfasen afsløret en uvished hos brugerne om, hvorvidt de mekaniske metoder i nogle situationer er tilstrækkelige uden kombination af kemisk middel. Denne uvished resulterer i, at de fleste professionelle firmaer kombinerer de mekaniske metoder med et kemisk bekæmpelsesmiddel.

Der er generelt ingen uvildig dokumentation af effekten af de på markedet værende midler og metoder, og der findes heller ingen fælles anerkendte standardiserede testmetoder til uvildig dokumentation af effekten af de enkelte rensmidler og

–metoder. Følgende spørgsmål bør bl.a. stilles:

- Hvor ren er en given overflade efter rensning? Her er det særlig interessant om de biologiske organismer inklusiv eventuelle spredningsenheder (diasporer) er fjernet eller, om levedygtige diasporer blot er blevet spredt ud over hele fladen og dermed er parat til en ny kolonisering.
- Hvor ren kan overfladen blive?
- Skader rensmetoden eventuelt materialet?
- Hvor lang holdbarhed har behandlingen?

Ved biologisk prøvning vil man kunne dokumentere effekten af såvel et kemisk rensmiddel som en mekanisk rensning eller en kombination heraf. End-

videre kan man evt. supplere med en simpel metode til kvalitetskontrol af rensningens effekt, som let og enkelt kunne udføres efter hver større rensningsopgave. Herigennem kan man sikre maksimal udbytte af en given rensning.

7 Eksisterende beskrevne metoder

7.1 Indledning

Forskellige metoder til afprøvning af kemiske midlers effekt til bekæmpelse eller forebyggelse af biologisk vækst på murværk, tegltagsten og beton samt andre materialer findes beskrevet i litteraturen og i flere rapporter fra Teknologisk Institut samt fra Statens Jordbrugsforskning. Der ses ingen beskrivelse af prøvning af mekaniske rensemetoder eller kombination af kemisk- og mekanisk rensning.

Metoderne kan inddeles efter anvendt testorganisme:

- Alger
- Levermosser
- Mosser

Eller efter hvilken eksponering, der er anvendt:

- Laboratorium med kontrolleret klima
- Uopvarmet drivhus
- Friland

I det følgende vil de overordnede principper for metoderne blive omtalt. En mere detaljeret beskrivelse - i den udstrækning de er fundet beskrevet i kilde-materialet - findes i bilag 1, som er et review med beskrivelse af de enkelte metoder. En del af metoderne er mangelfuldt beskrevet og kan ikke uden metodeudvikling og yderligere beskrivelse anvendes til prøvning. De er alligevel medtaget for at informere bredt om muligheder for afprøvning og inspirere til fremtidig metodeudvikling og sammensætning af prøvningsprogrammer, der er tilpasset formålet med den enkelte prøvning.

7.2 Testmetoder

7.2.1 Metoder med alger

Alger er et udbredt problem på murværk, tegl- og betontagsten samt andre materialer eksponeret udendørs. Alger kan dyrkes under laboratorieforhold, og det er derfor nærliggende at anvende grønalger til prøvning. I et laboratorium kan man skabe ensartede og dokumenterede klimaforhold, hvilket medfører, at en given test kan gentages under samme forhold. Algetest udføres ofte i Petriskåle, som er klare plasticskåle 9 cm i diam. Et algenæringsmedium hældes i skålene, som derefter podes med alger. Midlet, der ønskes testet, kan enten hældes direkte i mediet, eller påføres et lille stykke filtrerpapir, som lægges på substratet eller det kan påføres i en stribe på overfladen eller på hele overfladen. Forskellige midler og koncentrationer kan testes overfor monokulturer af forskellige alger eller overfor en blandingskultur.

De alger, der ses anvendt er nævnt nedenfor:

Stichococcus sp.

Ankistrodesmus braunii

Selenastrum capricornutum
Gloeocapsa alpicola
Nostoc commune
Pleurococcus sp
Stichococcus bacillaris
Trentepohlia aurea
Klebsormidium subtilissimum
Chlorococcum sp
Phoridium sp
Chlamydomonas sp

I tidligere forsøg, udført af Teknologisk Institut, Bioteknik, er der anvendt kulturer, som er rekvireret fra Botanisk Institut, Københavns Universitet, af algerne:

- *Stichococcus bacillaris* K-0150
- *Trebouxia sp.* K-0161
- *Desmococcus viridis* K-0092

Resultatet opgøres gerne over nogle dage i form af registreret hæmning af vækst eller misfarvning af alger fra grøn til brun.

7.2.2 Metoder med mosser

Midler, der anvendes til fjernelse af algevækst, kan også tænkes at have en effekt overfor mosser. Der er da også beskrevet testmetoder, hvorefter kemiske midler kan afprøves overfor henholdsvis levermos (*Marchantia polymorpha*) og mos. I virkeligheden er der da tale om ukrudtsbekæmpelse og dermed en anden lovgivning.

Levermos er ikke fundet i vores undersøgelse på murværk, tegl- og betontagsten. Levermos gror typisk på meget fugtige steder f.eks. i gartnerier omkring planter i potter i drivhuse. Det hæmmer væksten af planterne og er derfor uønsket. Der er beskrevet test i uopvarmet drivhus, hvor veludviklede levermosplanter, *Marchantia polymorpha*, dyrkes i potter, vandes med et kemisk middel, hvorefter procent dødelighed (mortalitet) registreres i forhold til kontrolpotter, der er vandet med vand. *Marchantia* kan også dyrkes på samme måde som alger i laboratorium på et kunstigt substrat (soil algae agar) under kontrollerede klimaforhold med lys. Levermosset sprøjtes med et kemisk middel, der skal afprøves, og væksthæmning registreres.

Mosarterne *Bryum capillare* og *Leptobryum pyriforme* har også været anvendt som testorganismer i henholdsvis uopvarmet drivhus og vækstkammer. Principperne er de samme som ovenfor beskrevet. Mosset dyrkes i potter til fuld dækning, vandes med henholdsvis kemisk middel, rent vand og vand indstillet til pH svarende til det kemiske middels pH, og væksthæmning/mortalitet registreres.

7.3 Konklusion

Litteraturstudier, henvendelser til andre prøvningsinstitutter samt undersøgelser i arkiver har resulteret i udarbejdelsen af et "Review over metoder til test af kemiske midlers effekt til bekæmpelse eller forebyggelse af biologisk vækst på murværk, tegltagsten og beton samt andre materialer", bilag 1. Oversigten kan være inspiration til fremtidig udvikling af metoder og sammensætning af

prøvningsprogrammer, der opfylder producenters, myndigheders og forbrugers ønske om dokumentation af effekt og/eller varighed.

8 Laboratorietest

8.1 Indledning

Et af formålene med denne delfase har været at udvikle eller tilpasse en laboratoriemetode til prøvning af kemiske midler og produkter til forebyggelse og bekæmpelse af bevoksninger på murværk, tegl- og betontage. Endvidere skal testen kunne anvendes til påvisning af materialers naturlige modstandsdygtighed over for bevoksninger. På baggrund af litteraturundersøgelser, gennemgang af standard databaser samt tidligere laboratorieerfaringer blev det besluttet at beskrive og afprøve en laboratorietest. Derudover er der foretaget en række undersøgelser med henblik på at skabe et bedre grundlag for metoden. Metoden er beskrevet som standard i bilag 2. Metoden er anvendt til test af udvalgte rensedmidler, et produkt til imprægnering samt et udvalg af forskellige materialer, og resultaterne heraf er beskrevet i kap. 11.

8.2 Algedyrkning

8.2.1 Algekulturer

Til testmetoden er valgt en monokultur af en almindeligt forekommende grønalge, *Stichococcus bacillaris*. Algen *Apatococcus lobatus* vil også være velegnet. Begge er derfor beskrevet nedenfor:

Stichococcus Nägeli 1849

Cellerne er enkelte, parvise eller i fæcellede kæder, der let adskilles. Cellerne er cylindriske, rette eller let buede med afrundede eller afskårne celle-ender. De kan også være kortere til næsten kugleformede. Cellevæggen er tynd. Forplantning sker kun ved vegetativ celledeling eller fragmentering af de korte kæder. Der findes ca. 30 arter beskrevet heraf 8 jord-, luft- og lavalger.

- *Stichococcus bacillaris* Nägeli 1849 s.l.

På agar danner den et lysgrønt til gulgrønt lag af forslimede, korte kæder bestående af 2-10 celler, som let falder fra hinanden. Cellerne er cylindriske mere eller mindre rette med afrundede eller afskårne ender.

Den er en af de mest almindelige luft- og jordalger, på jord og sten, på blomster, træer og ved - også på kvælstofforurene steder. Kosmopolitisk udbredt, dvs. den findes udbredt i hele verden.

Apatococcus Brand 1925 em. Geitler 1942.

Celler i mere eller mindre kubiske "pakker". Cellevæggene let fortykkede.

- *Apatococcus lobatus* (Chordat) J.B.Petersen 1928

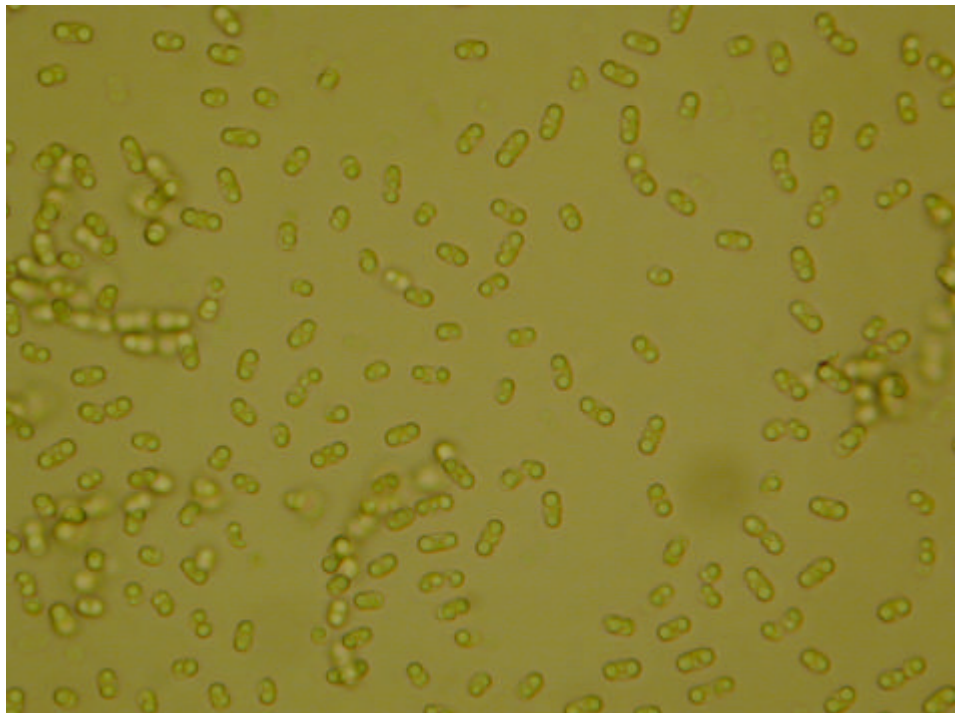
Den er en af de mest almindelige luftalger men er også beskrevet som jordalge. Den vokser på træ, ved, murværk, sten mv. Den er kosmopolit.

8.2.2 Kultursamlinger

Der findes få større algekultursamlinger i verden, hvorfra man kan rekvirere alger i kultur. En af disse samlinger hedder:

UKNCC
Culture collections of Algae and Protozoa (Freshwater)
Institute of Freshwater Ecology
The Ferry House, Far Sawrey,
Ambleside, Cumbria LA22 0LP
Tel: +44 15394 42468
Fax: +44 15394 46914

Herfra er rekvireret en kultur af: *Stichococcus bacillaris* Nägeli 1849 s.l., Kultur 379/1A.



Figur 8.1 Grønalge (*Stichococcus bacillaris* Nägeli)

8.2.3 Dyrkningsbetingelser

Forudsætningen for at dyrke alger er, egnet lys og temperatur foruden næring. For de fleste alger vil et diffust lys ved et nordvendt vindue og stuetemperatur (20°C) være egnet. Til forsøgene her er der fremstillet lyspaneler med hver 6 lysstofrør af typen Radium NL 18W/30 Warmton. Lysintensiteten er målt med luxmeter af typen Testo545 til i gns. 1,5 klux, og algerne eksponeres for lys 24 timer i døgnet.

Medium til opformering:

Som medium til opformering af alger er anvendt et færdigkøbt medium fra SIGMA Chemical CC: Bold modified basal freshwater nutrient solution (50X), opbevares ved 2-8°C og anvendes i en koncentration på 20ml/l. Et tilsvarende medium Bold Solution, kaldet BS, som indeholder jordekstrakt og vigtige næringssalte, kan laves som følger:

- 30-100 ml autoklaveret jordekstrakt
- 250 mg NaNO₃
- 25 mg CaCl₂ * 2H₂O
- 75 mg MgSO₄ * 7H₂O
- 175 mg KH₂PO₄
- 25 mg NaCl
- 1 korn FeCl₃ * 6H₂O
- til 1000 ml demineraliseret, autoklaveret vand.

Algekulturen opformerer på BS eller BS-agar i petriskåle ved 20°C under lystofrør med hvidt lys (minimum 20 timer pr. døgn, men gerne hele døgnet). Opformeringsstiden viste sig at være ca. 10 døgn.

Eksposering/inkubering:

I laboratorietests kan betingelserne under inkubering gøres ensartede mht. temperatur, fugtighed og lys. Herved sikres maksimal mulighed for at gentagelse af samme forsøg giver samme resultat.

8.3 Måling af pH under dyrkning samt pH's effekt på alger

Der er behov for at undersøge algens følsomhed overfor pH dels med det formål, at algerne kan dyrkes under optimale forhold i laboratorium, dels for at få et indtryk af algers følsomhed overfor pH generelt i praksis. Desuden blev det undersøgt, om alger ved dyrkning i flydende kultur ændrer pH i dyrkningsmediet. Derfor gennemførtes to mindre forsøg på *Stichococcus bacillaris*.

8.3.1 pH udvikling under dyrkning

Formål:

At teste om alger dyrket i kultur i laboratorium ændrer pH i mediet over tid ved almindelige vækstvilkår (20°C og 1,5 klux i 24 timer/dg) i et næringsrigt medium (BS) og i et næringsfattigt (demineraliseret vand).

Materialer:

Stichococcus bacillaris 379/1A
 Glaskolber
 BS medium
 Næringsfattigt medium
 pH-meter af typen Methrom 744 pH meter

Metode:

Fra algekultur i BS udtages 10 ml kultur, som overføres til 100 ml BS medium og 10 ml algekultur overføres til 100 ml demineraliseret, autoklaveret vand. Der opsættes 6 kolber. Der måles pH før tilsætning af alger og umiddelbart efter. Herefter måles pH udviklingen med jævne mellemrum. Kolben kasseres efter måling af hensyn til risiko for kontaminering ved målingen.

Resultatopgørelse:

Målinger af pH foretaget på kulturer (*Stichococcus bacillaris*) i BS-opløsning, der har stået længe i laboratoriet viser følgende:

Dyrkning i 1 mdr: pH 6,72
 Dyrkning i 2 mdr: pH 8,20
 Dyrkning i 4 mdr: pH 8,09

Tabel 8.1 pH udvikling ved dyrkning af grønalg

Tid	Demineraliseret vand	BS
Rent medium	8,00	5,50
Umiddelbart efter podning	8,70	5,35
1 uge	7,16	6,00
2 uger	7,38	6,02
3 uger	8,30	6,21
4 uger	8,70	6,37

8.3.2 pH-påvirkning af alger under dyrkning

Formål:

At teste reaktionen på alger i kultur ved påvirkning med syrer og baser.

Materialer:

Stichococcus bacillaris 379/1A

Glaskolber

BS medium

Syre (HCL; 0,1 M og 1M)

Base (NAOH; 0,1M og 1M)

pH-meter af typen Methrom 744 pH-meter

Spektrofotometer

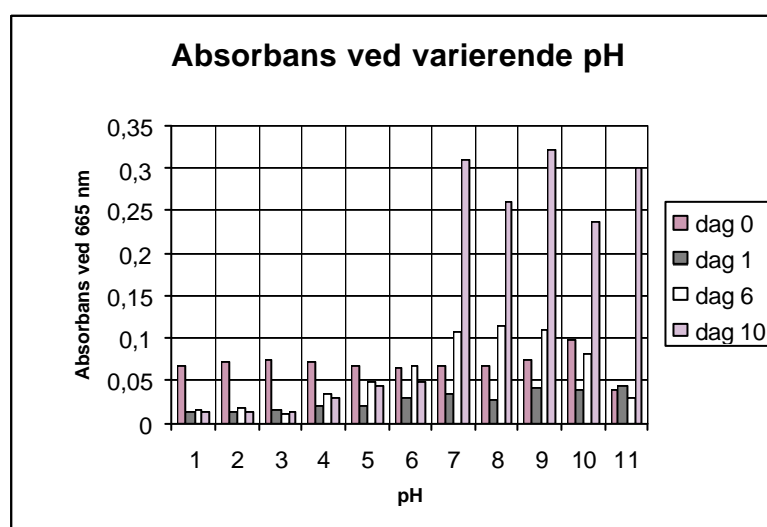
Metode:

Grønalg dyrkes op i kolbe(r) med BS-medium. pH måling af mediet har vist pH på 5,5. En god tæt algesuspension mixes godt og deles i 11 portioner. Der foretages baggrundsanalyse på Chlorofyl A, som er det dominerende chlorofyl i grønalg, ved spektrofotometer. Suspensionens pH indstilles i intervaller mellem ca. 2 og 12.

Der måles igen ved spektrofotometer og derefter med døgn mellemrum over en periode på 10 døgn. Algesuspensionen bliver brun, når algerne dør.

Resultatopgørelse:

Nedenfor er resultaterne af målinger af absorbans ved forskellig pH afbildet i søjlediagram.



8.4 Biologisk laboratorietest

Laboratorietesten, som er detaljeret beskrevet som en standardtest i bilag 2, tager udgangspunkt i en metode udviklet af Grant & Bravery i 1981 men er tilpasset yderligere. Metoden er udviklet med henblik på at opfylde tre formål, nemlig at teste:

- Midler til fjernelse af algevækst
- Produkter til forebyggelse af algevækst
- Materialers naturlige evne til at modstå algevækst

Der er gennemført en række test af udvalgte midler, produkter og materialer efter den beskrevne metode primært med henblik på at afprøve testmetoden. Resultaterne heraf er beskrevet i kap. 11.

8.4.1 Baggrund - Grant & Bravery's "Vermiculite-bed technique" (1981)

Metoden er beskrevet i Bilag 1 pkt 1.2.9. Formålet var at skabe en test til måling af biociders effekt, hvor naturlige byggematerialer kunne indgå sådan, at samspillet mellem substrat, organisme og biocid var sikret.

Princippet er en lukket beholder i klar plast som fyldes med opfugtet vermiculit. Herpå lægges prøveemner af natursten (sandsten og limsten) og specialfremstillede, neutraliserede mørtelbrikker, som er tilskåret, så de passer til beholderen. Testemnerne podes med alger, som vokser ud. Biocid påføres med pensel. Effekten ses efter 4 dage, men udviklingen følges og registreres over flere uger. Ny algesuspension påføres for at undersøge resteffekten af biocidet.

Grant and Bravery anvender en blandet algesuspension af algerne: *Ankistrodesmus braunii*, *Selenastrum capricornutum*, *Stichococcus sp.* og *Trebouxia sp.* Testen udføres under kontrollerede klimaforhold ved 25°C og 2,5 klux.

Metoden revideres senere. Her anvendes en anden blandingskultur bestående af algerne *Gloeocapsa alpicola*, *Nostoc commune*, *Pleurococcus sp.*, *Stichococcus bacillaris* og *Trentepohlia aurea*. Materialet asbest-cement inddrages. Dyrkningstemperaturen nedsættes fra 25 til 18°C ved 2,5 klux i 16/8 timer dag/nat skifte. Efter behandling med biocid inkuberes emnerne i 12 uger med re-inokulering efter 4 og 8 uger. Dvs. midlet skal ikke blot dræbe den etablerede vækst men også modstå ny massiv infektion. Resultatopgørelsen sker ved at vurdere algernes dækning af testemnet efter en procent-skala.

Nedenfor beskrives de forsøg, der er udført, og som danner grundlag for en standardmetode, som er detaljeret beskrevet i bilag 2.

I modsætning til Grant og Bravery, afsnit 8.3, har vi valgt at anvende en monokultur af alger, og vi har valgt et plant, cellulosefiberarmeret kalciumsilikat plademateriale, som er praktisk anvendeligt i laboratorium, og hvor algerne vokser godt og er synlige. Endvidere er metoden beskrevet så detaljeret, at den principielt kan udgøre en standard, der kan udføres af alle tilsvarende laboratorier, se bilag 2.

8.4.2 Metode til laboratorietest af "midler" til fjernelse/bekæmpelse af algevækst

Forudsætninger:

Forudsætningen for at teste et middel til fjernelse/bekæmpelse af alger er, at det kan gøres på emner, der er massivt bevokset med alger under kontrollerede forhold.

Valg af materialer:

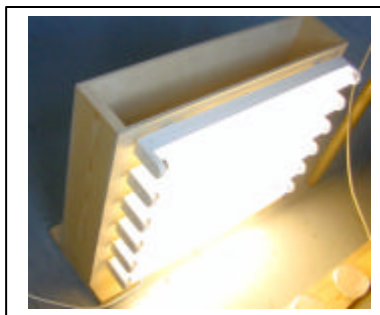
Til testbeholder er valgt plastkasser 30 x 22 x 7 cm, som er klare, så lys kan trænge igennem og med låg, så fugtigheden holdes på et højt niveau. I bunden af kassen lægges vermiculit, som er et inert granulat, der kan opfugtes til vandmætning og derved skabe et fugtigt klima i kassen. Testen kan udføres med en monokultur af en enkelt grønalge eller med en blandingskultur af flere grønalger. I projektet her er der arbejdet med en kultur af *Stichococcus bacillaris* 379/1A.

Test af midlers effektivitet til at fjerne eller bekæmpe algevækst må udføres på et materiale, der er massivt bevokset med alger. Der bør anvendes et standard plademateriale eventuelt suppleret med et/flere andre materialer efter rekvi-rentens ønske. Materialet skal simulere praksis bedst muligt. Materialet bør være sådan, at der på rimelig tid kan opnås massiv vækst af alger efter podning og dyrkning under ovenfor beskrevne laboratorieforhold. Samtidig skal materialet være let at skaffe og tildanne, og det skal være plant og homogent. Valget er faldet på et cellulosefiberarmeret kalcium-silikatbaseret plademateriale, kaldet Masterclad. Materialet har en vandoptagelse på 33 rum% eller 20% v/v. pH er ved modtagelse af pladematerialet målt til 11,1 og densiteten er 1609 kg/m³.

Midler kan også testes med andre materialer som underlag for algevækst, f.eks. træ eller andre pladematerialer. Et materiale er dog kun egnet til denne test, hvis det kan blive massivt bevokset i laboratoriet under kontrollerede forhold. Det må dog anbefales, at prøvninger altid gennemføres med Masterclad eller et tilsvarende produkt som reference. Fordelen ved at medtage det samme referencemateriale ved hver prøvning, der gennemføres, er, at resultaterne fra referencematerialet kan opsamles og på sigt give et billede af metodens stabilitet og validitet.

Metode:

Plastkasser aftørres grundigt med sprit (70% laboratoriesprit) for at fjerne eventuelle urenheder og desinficere overfladen. Herefter lægges et lag vermiculit i bunden. En passende mængde til den anvendte størrelse af plastkasse er 180 g vermiculit, som tilsættes 500 g demineraliseret vand og autoklaveres ved 120°C i 20 min, hvorefter det overføres til plastkasser.



Figur 8.3 Laboratorieopstilling med simuleret dagslys til dyrkning af alger

Alle testmaterialer autoklaveres ved 120°C i 20 min. Efter afkøling dyppes materialerne på 1 side i algesuspension i BS opløsning i vand. Materialerne nedlægges derefter på den våde vermiculit, låg lægges på, og kasserne inkuberes ved 20°C og i gennemsnit 1,5 klux.

Vækst registreres løbende, og der mellemvandes med 2 ml algesuspension i 4 ml BS-opløsning 1 gang pr. uge. Når væksten er massiv efter 2-3 uger behandles med rensmiddel efter leverandørens anvisning. Alle midler og kontrolvæsker påføres i en mængde svarende til 150 ml pr m² med mindre andet er aftalt med rekvirenten. Kontrol udføres med rent vand og med vand indstillet til samme pH som midlet, der skal testes, hvis pH afviger fra 7. Dette gøres af hensyn til at kunne skelne mellem en effekt af pH alene og effekt af midlets indholdsstoffer.

Resultatopgørelse:

Resultatopgørelse kan ske visuelt eller i mikroskop ved at anvende følgende skala, som er set anvendt i flere andre test, se bilag 1.

Vurderingsskala:

0 = Ingen vækst

1 = Ringe vækst – 0-25% dækning eller 1-10 kolonier

2 = Moderat vækst – 26-50% dækning eller 11-50 kolonier

3 = Kraftig vækst – 51-75% dækning eller 50 – flere kolonier

4 = Massiv vækst – 76-100% dækning ikke muligt at tælle

Vækst/mortalitet kan også registreres ved brug af aftryksplader, se kap. 10, efter ca. 4 ugers eksponering. Emnerne fotoregistreres før og efter behandling med middel.

8.4.3 Test af "produkter" til forebyggelse af algevækst

Forudsætninger:

Forudsætningen for at teste den forebyggende effekt af et produkt er, at produktet kan påføres et materiale, som alene uden overfladebehandling kan blive bevokset med alger. Produkter til forebyggelse af algevækst kan f.eks. være imprægneringsmidler eller andre overfladebehandlingsmidler.

Valg af materialer:

Til testbeholder er, som i foregående metode, valgt klare plastkasser 30 x 22 x 7 cm med låg. I bunden af kassen lægges som ovenfor beskrevet vermiculit. Testen kan udføres med en monokultur af en enkelt grønalge eller med en blandingskultur af flere grønalger. Her er der arbejdet med en kultur af *Stichococcus bacillaris* 379/1A.

Samme standardmateriale, som ovenfor beskrevet (Masterclad), eller tilsvarende materiale kan anvendes som underlag for produktet.

Produkter kan også testes med andre materialer som underlag for algevækst, f.eks. træ eller andre pladematerialer. Et materiale er dog kun egnet til denne test, hvis det kan blive massivt bevokset i laboratoriet under kontrollerede forhold. Det må dog anbefales, at prøvninger altid gennemføres med Masterclad eller et tilsvarende produkt som reference. Fordelen ved at medtage det samme referencemateriale ved hver prøvning, der gennemføres, er at resultaterne fra referencematerialet kan opsamles og på sigt give et billede af metodens stabilitet og validitet.

Metode:

Der bør foreligge et produktblad eller produktinformation fra rekvirenten, der indeholder oplysninger om indholdsstoffer, eventuel fixeringstid eller tørretid, eventuel afdunstning fra produktet. Som hovedregel må pladerne påføres produktet min. 3 dage før testen går i gang. Midlet påføres på alle flader med pensel 2 gange med ca. 3 timers mellemrum, så mætning indtræder.

Halvdelen af emnerne udsættes for relevant ældning. Efter ældning klargøres alle prøveemner til påføring af algesuspension i BS opløsning i forholdet 2 ml suspension i 4 ml BS-opløsning.

Materialerne nedlægges i afsprittede plastkasser på vandmættet vermiculit og inkuberes ved 20°C og ca. 1,5 klux. Vækst registreres løbende, og der mellemandes med algesuspension i vand (2 ml alger til 4 ml BS) 1 gang pr. uge.

Produktets effekt på relevante materialeparametre testes.

Resultatopgørelse:

Resultatopgørelse kan ske som ovenfor beskrevet, se 8.4.2.

8.4.4 Test af "materialers" naturlige evne til at modstå algevækst**Forudsætninger:**

Forudsætningen for at teste et materiales naturlige evne til at modstå algevækst i en laboratorieprøvning er at materialets overflade har en karakter og en farve, så algevæksten er synlig eller hvis ikke den er synlig, da kan opfanges på en aftryksplade. For murværksmaterialer er det vigtigt at materialet er fuldt afhærdet og har været udsat for relevant ældning inden prøvning gennemføres.

Valg af materialer:

Til testbeholder er som i foregående metode valgt klare plastkasser 30 x 22 x 7 cm med låg. I bunden af kassen lægges som ovenfor beskrevet vermiculit. På denne bund lægges de forskellige materialer, der skal testes. Testen kan udføres med en monokultur af en enkelt grønalge eller med en blandingskultur af flere grønalger.

Samme standardmateriale som ovenfor beskrevet (Masterclad) eller tilsvarende materiale kan anvendes som reference for materialet, så det sikres at den podede kultur er aktiv.

Metode:

Materialerne tildannes i passende størrelse, så de kan være i plastkasserne. Der kan afviges fra den tidligere beskrevne størrelse på testemner.

Det er vigtigt at materialerne udsættes for en relevant ældningsprocedure som ovenfor nævnt, sådan at testen gennemføres med såvel ikke ældede som ældede materialer, se i øvrigt afsnit 8.5.

Prøveemner – ældede og ikke ældede – samt referenceemner klargøres til påføring af algesuspension i BS opløsning i forholdet 2 ml suspension i 4 ml BS-opløsning.

Materialerne nedlægges i afsprittede plastkasser på vandmættet vermiculit og inkuberes ved 20°C og ca. 1,5 klux. Vækst registreres løbende, og der mellemandes med algesuspension i vand (2 ml alger til 4 ml BS) 1 gang pr. uge.

Resultatopgørelse:

Resultatopgørelse kan ske som ovenfor beskrevet.

8.5 Karakterisering af materialeparametre – accelereret ældning

Ved bekæmpelse af biologisk vækst skelnes mellem:

1. Kemiske midler/biocider
2. Mekaniske metoder
3. Kombinationer af kemiske midler og mekaniske metoder

Ved forebyggelse af biologisk vækst kan der skelnes mellem:

1. Midler, der indeholder biocider
2. Midler, der påvirker de materialeparametre, der har betydning for vækstens livsbetingelser (f.eks. imprægneringsmidler)
3. Ændringer i produktet, der har betydning for vækstens livsbetingelser (f.eks. ændrede valg af råmaterialer, ændrede produktionsprocesser mv.)

Uanset om der er tale om bekæmpelse eller forebyggelse vil det ud over at gennemføre den biologiske laboratorietest også i de fleste tilfælde være særdeles væsentligt at gennemføre en karakterisering af materialeparametrene før og efter behandling eller før og efter optimering af byggematerialet.

På baggrund af kendskab til:

- Midlets kemiske sammensætning /indholdsstoffer
- Metodens udførelse
- Optimering af produktet

vurderes hvilke af følgende materialeparametre, der påvirkes:

- pH
- Porøsitet
- Densitet
- Vandoptagelse
- Minutsugning
- Fordampningshastighed
- Næringsstoffer
- Overfladens ruhed
- Overfladespænding

De relevante materialeparametre før og efter behandling med midlet fastlægges.

For at kunne opnå en reel bedømmelse af midlets/metodens/produktændringens virkning vil det i de fleste tilfælde være relevant at udsætte de behandlede prøveemner for en relevant ældning.

Hvilken ældning, der er relevant, skal vurderes i de aktuelle tilfælde, afhængig af det anvendelsesområde, som midlet eller produktet tiltænkes. Følgende former for accelereret ældning udført i laboratorium vil ofte være relevant at overveje:

- Udvaskning f.eks. iht. EN 84: Træbeskyttelse. Accelereret ældning af imprægneret træ inden biologisk prøvning. Udvaskning.
- Accelereret carbonisering, f.eks. i en 3% CO₂-atmosfære
- Efterligning af sollysets påvirkning f.eks. iht. ISO 4892-2; Plastics – Methods of exposure to laboratory light sources – Part 2: Xenon-arc sources.

- Efterligning af påvirkning fra sollys, kondens og vandpåsprøjtning f.eks. iht. ASTM G53-96 Standard Practice for Operating Light- and water-Exposure Apparatus (Fluorescent UV-condensation Type) for exposure of Nonmetallic Materials.
- Påvirkning af sur regn mv.

Den anvendte procedure for ældning skal beskrives detaljeret i testrapporten og referencematerialet skal udsættes for tilsvarende ældning.

Udover ovennævnte tests kan det være relevant at foretage enkelte yderligere tests med henblik på vurdering af evt. risici for skade på materialet (jf. kap. 12). En individuel vurdering af hvilke tests, der er relevante må gennemføres i den enkelte situation. Der kan være tale om analyse af opløselige salte, frostbestandighed mv.

8.6 Diskussion

Som beskrevet i kapitel 7 findes der forskellige metoder til laboratorieprøvning, hvor der anvendes alger eller mosser. I projektet er der arbejdet med grønalger, da algevækst synes mere udbredt end mosvækst i praksis. Der er arbejdet med en monokultur, for at sikre ensartet vækst og opnå specifik erfaring vedrørende dyrkning af den valgte art, som er grønalgen *Stichococcus bacillaris*. Denne alge er meget almindelig på mange forskellige materialer. Den er let at dyrke og opformere, og den er let at sprede ud på materialet. Det er vigtigt, at udsprede teknikken sikrer, at algesuspensionen bliver spredt over hele fladen.

Der er etableret dyrkningsfaciliteter, og forskellige forhold vedrørende dyrkning er undersøgt. Algen påvirker pH i dyrkningsmediet ved dyrkning under laboratorieforhold. Resultatet viser, at ved dyrkning i næringsrigt medium ændres pH i basisk retning over tid fra mediets pH på 5,5, men at udviklingen tilsyneladende standser ved pH omkring 8. I næringsfattigt medium - demineraliseret, autoklaveret vand, med pH 8,00 - ændres pH i sur retning på 1-2 uger, hvorefter pH igen stiger til omkring 8-9.

Ved påvirkning af alger med base stiger absorptionsen ganske kraftigt efter 10 dage, hvilket er tegn på, at algerne trives godt. Ved pH fra 2-7 påvirkes absorptionsen ikke væsentligt i de 10 dage forsøget varede. Det vil sige, at algerne ikke trives i et surt miljø.

Det er tydeligt, at pH påvirker algerne men også, at algerne selv påvirker pH, og at pH på mellem 7 og 8 og derover foretrækkes. Der henvises i øvrigt til delrapport 2, kap. 8 afsnit 8.2.

Der er udviklet og beskrevet en metode til laboratorieprøvning af midler, produkter og materialer overfor algevækst. Metoden tager udgangspunkt i Grant & Bravery's metode (1981) og er beskrevet i detaljer og videreudviklet på visse punkter svarende til en egentlig prøvningsstandard, bilag 2. Metoden er blevet 3-delt, så den kan dække prøvning af materialers egen modstandsdygtighed mod algevækst såvel som prøvning af midler og produkter til forebyggelse og bekæmpelse. Metoden er afprøvet til de forskellige formål primært med henblik på at teste dens egnethed og eventuelt justere detaljer i beskrivelsen men er også anvendt med det formål at teste få udvalgte produkter og materialer. Disse forsøg er beskrevet i kapitel 11.

Der er ikke beskrevet detaljerede ældningsprocedurer. Ældningsprocedurer findes allerede beskrevet i forskellige standarder. Relevante ældningsprocedurer bør fastlægges på baggrund af producentens angivelser af anvendelsesområde herunder materialetyper/konstruktionstyper, ønsket eller påstået ydeevne, langtidseffekt m.v.

Med den erfaring, der nu er opnået og de faciliteter, der er etableret, er det muligt at sammensætte prøvningsprogrammer, både med udgangspunkt i standardtesten, bilag 2, og med inspiration i oversigten, bilag 1. Med gennemførelsen af en prøvning kan effekten af rensmidler og forebyggende midler dokumenteres. Prøvninger kan således anvendes både i forbindelse med udvikling af nye produkter eller til dokumentation af eksisterende produkter. Endvidere kan materialers egen modstandsevne testes ved disse metoder. Det kan f.eks. være i forbindelse med udvikling af materialeparametre, eksperimenteren med overfladeruhed osv.

8.7 Konklusion

Med henblik på at udvikle og beskrive en laboratorietest til afprøvning af midlers forebyggende eller bekæmpende effekt eller materialers modstandsdugtighed over for bevoksning af murværksmaterialer, tegl- og betontagsten er der foretaget følgende:

Der er valgt en testorganisme nemlig grønalgen *Stichococcus bacillaris* Nägeli og leverandøren er UKNCC Culture Collections of Algae and Protozoa i England. Faciliteter til dyrkning af alger er etableret på Teknologisk Institut. Algen er dyrket og forskellige dyrkningsbetingelser er undersøgt herunder pH-udvikling under dyrkning og pH's påvirkning på algen. På baggrund af litteraturundersøgelser er der udvalgt et forlæg til en testmetode, som er blevet beskrevet som en 3-delt standardtestmetode, bilag 2. Metoden er afprøvet på forskellige måder, kap. 11, med det formål at verificere metodens egnethed og samtidig foretage en afprøvning af udvalgte materialer og produkter.

Metoden er beskrevet, så den nu dækker følgende formål:

- Laboratorietest af midler til fjernelse/bekæmpelse af algevækst
- Laboratorietest af produkter til forebyggelse af algevækst
- Laboratorietest af materialers naturlige evne til at modstå algevækst

Den biologiske prøvning bør i visse situationer suppleres med materiale tekniske undersøgelser samt ældningsprocedurer, som iværksættes før biologisk prøvning.

Der er ikke beskrevet detaljerede ældningsprocedurer. Ældningsprocedurer findes allerede beskrevet i forskellige standarder. Relevante ældningsprocedurer bør fastlægges på baggrund af producentens angivelser af anvendelsesområde herunder materialetyper/konstruktionstyper, ønsket eller påstået ydeevne, langtidseffekt m.v.

Prøvning efter de her beskrevne metoder kan anvendes som dokumentation af effektiviteten af et bekæmpelsesmiddel ved søgning om godkendelse iht. de eksisterende love og bekendtgørelser om bekæmpelsesmidler. Endvidere kan prøvningsresultater anvendes som dokumentation af produktkvaliteten overfor forbrugerne.

9 Kombineret laboratorietest og feltprøvning

9.1 Indledning

Ved feltprøvning forstås prøvninger på standardiserede prøveemner udsat for en naturlig eksponering på udendørs feltarealer efter ensartede retningslinjer. Delelementer af laboratoriebearbejdning eller eksponering kan indgå i en feltprøvning. Feltprøvning er således praksisnær eller en mellemting mellem den rene laboratorieprøvning og prøvning in-situ på etablerede bygninger. Feltprøvning udføres ofte på grundlag af standardiserede prøveemner, som behandles og eksponeres på en ensartet måde i et uforstyrret akkrediteret prøvningsareal.

Man kan ikke skabe naturlige vækstforhold i et laboratorium, derfor er det ofte forbundet med stor usikkerhed at konkludere fra laboratorietests til virkeligheden. I laboratoriet arbejder man ofte med monokulturer eller en kunstig sammensætning af flere slægter indenfor samme biologiske klasse, f.eks. grønalger. Den succesion af organismer, der finder sted under naturlige forhold, kan heller ikke genskabes i laboratorium. Alligevel tjener laboratorieforsøg et godt formål, idet de er reproducerbare, de er ofte hurtige at gennemføre og giver anvendelige resultater ved sammenlignende tests. Derfor er laboratorieprøvning også særlig velegnet til screening af forskellige variable som f.eks. produktsammensætninger, aktivstoffer, koncentrationer og påføringsmetoder. Endvidere kan laboratorieprøvning anvendes til dokumentation af forebyggende eller bekæmpende midlers effektivitet. Laboratorieprøvning er ikke egnet til dokumentation af metoder til mekanisk rensning.

Feltprøvninger er ofte vanskelige at reproducere, og de tager længere tid at gennemføre. Ved feltprøvning kan lokale forhold og årstidsvariationer mm. medføre vanskelighed ved generel tolkning af resultater. Alligevel regnes feltprøvning nok for den ultimative, mest informative måde at afprøve materialer og produkter på, når man er nået til vejs ende i udvikling af middel og metode og ved hjælp af laboratoriescreening har fundet frem til de relevante midler, koncentrationer, procesparametre osv.

Der er ikke fundet beskrivelser i litteraturen af metoder til feltprøvning af midler og metoder til forebyggelse eller bekæmpelse af bevoksning på murværk, tegl- og betontage. Umiddelbart vil det mest realistiske være at foretage afprøvning på standardiserede emner, som eksponeres svarende til praksis i forskellige eksponeringsscenarier og inficeres naturligt. Dette vil kræve en meget langvarig eksponering på antagelig minimum 5 år. Ved projektets start blev en helt ny og uskadt tegltagsten udlagt på et udendørs areal med meget kraftig lavvækst på træer og sten. Det tog ca. 5 år før der kunne spores betydende vækst af alger og laver på stenen.

En accelereret udgave heraf kunne være at pøde materiale i laboratorium med renkulturer af en eller flere alger, og derefter eksponere prøvematerialet uden-

dørs i forsøgsareal. Registrering bør ske en gang årligt efter en vurderingsskala, som angivet under laboratorieforsøg samt ved fotoregistrering.

Man kan således teste såvel materialer, produkter til forebyggende og bekæmpende behandling samt metoder til rensning (forudsat, at bevoksning er etableret) og flere kombinationer heraf.

9.2 Mekanisk rensning med/uden forudgående kemisk behandling

Mekanisk rensning af begroning på murværk, tegl- og betontage og kombination af mekanisk rensning med kemisk rensning er beskrevet i delrapport 1. Der findes ingen objektiv dokumentation af metodernes effekt på bevoksninger, og der foretages ingen kvalitetskontrol ved afrensningen. Der findes ligeledes ingen dokumentation af risikoen for at skade forskellige materials overfladestruktur. Procesparametre fastsættes altså mere eller mindre ud fra et "trial and error" princip, og justeringer foretages på grundlag af indhøstede erfaringer fra praksis. Ved at udføre objektive tests kunne en række procesparametre og kombinationer af processer og kemiske midler afprøves, og de bedste kombinationer udvælges på et objektivt grundlag. Sådanne prøvninger kunne anvendes helt fremme ved udvikling og tilpasning af selve udstyret og fastlæggelse af procesparametre.

Nogle vigtige faktorer, der kan motivere dokumentation af udstyr og metode, kan være følgende:

- Et ønske fra forbrugerside om garanti
- Højnelse af kvaliteten
- Klager over manglende effekt
- Klager over materialeskader
- Et konkurrenceaspekt

Forudsætningerne kunne være, at det er relativt billigt at få udført en uvildig test, og at det ikke tager for lang tid. Desuden skal testmetoderne være dokumenterede og beskrevne.

Dokumentationen kan fx indeholde følgende:

- Beskrivelse af udstyr/middel og metode samt evt. procesparametre
- Egnethed på forskellige materialer
- Effekt overfor forskellige bevoksninger
- Risiko for følgeskader
- Vedligeholdelsesinterval
- Andre parametre

Blandes den mekaniske rensning med et kemisk rensmiddel eller bekæmpelsesmiddel, bør det være middelleverandørens ansvar at få midlet dokumenteret og godkendt. Metode hertil er beskrevet i kap. 8. Men rensfirmaet, eller udstyrsproducenten, kan have en interesse i at få midlet testet i en for firmaet relevant kombination med udstyr og metode.

I det følgende er beskrevet en metode til afprøvning af mekanisk rensning, som kan kombineres med anvendelse af et kemisk middel forud for den mekaniske rensning. I kapitel 10 er beskrevet metoder til, hvordan kvalitetskon-

trol muligvis kan foretages. I kapitel 11 er den her skitserede metode afprøvet i praksis.

9.3 Metode til test af mekanisk rensning

Forudsætninger:

Forudsætning for gennemførelse af en test af effekten af mekanisk rensning er, at der kan skaffes et ensartet prøvemateriale. Herudover skal testen kunne gennemføres med udstyr, der kan beskrives og rensningsproceduren skal være så vel beskrevet, som muligt.

Materialer:

Der bør arbejdes med følgende:

- Naturligt inficerede prøveemner af samme materiale, hvor eksponeringsforhold og eksponeringstid er kendt
- Materialer, der er inficerede under kontrollerede forhold i laboratorium iht. beskrivelse i kap. 8 for test af midler. Der kan anvendes et cellulosefiberarmeret kalciumsilikatbaseret plademateriale med en emnestørrelse på f.eks. 12 x 20 x 0,6 cm.

Metode:

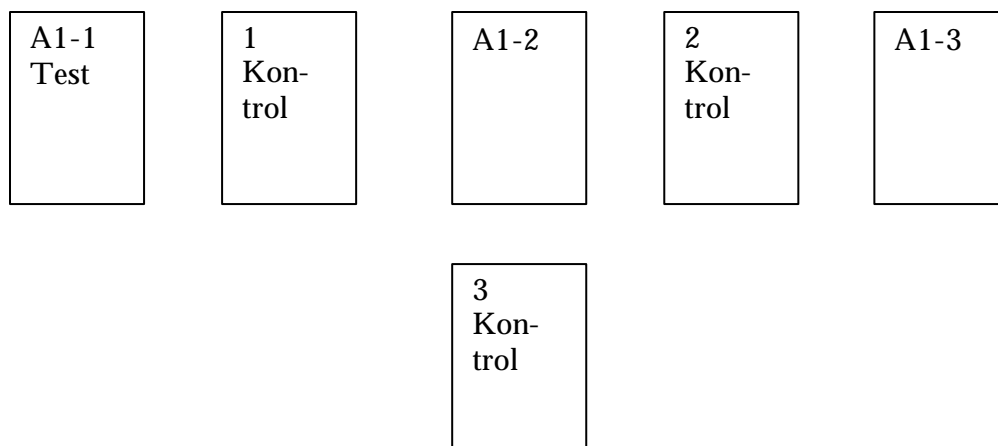
Nedenfor er skitseret en oversigt over en forsøgsplan for test af mekanisk rensning. Planen kan varieres efter ønske fra rekvirenten og formålet med testen.

Tabel 9.1 Oversigt over forsøgsplan til test af hedvandsrensning.

Temperatur variable	Tryk variable	Antal test plader med alger	Antal kontrolplader uden alger
A	1	3	3
B	1	3	3
A	2	3	3
B	2	3	3
Rene plader til forureningskontrol nær testplader			3
Rene plader til forureningskontrol langt fra testplader			3

De inficerede materialer ophænges på en sådan måde, at udstyret til mekanisk rensning kan anvendes optimalt, det vil i reglen sige vertikalt med afstand i mellem parallelle emner og stor afstand imellem emner, der skal behandles på forskellig måde, så resultatet ikke blandes.

Ophængningen bør ske med minimum afstand på 5 cm efter et fast mønster, som kan se ud som her skitseret:



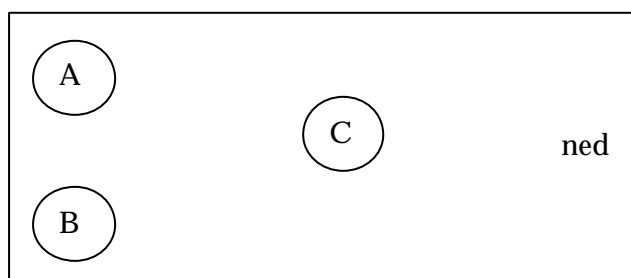
Figur 9.1 Skematisk forsøgsopstilling.

Alle variable, som f.eks. tryk, temperatur, vandkvalitet, forudgående kemisk behandling og lign. skal være fastlagt før forsøgets start.

Før forsøgets start skal der være en registrering af bevoksningernes udbredelse og intensitet. For naturligt inficerede materialer bør der være en artsidentifikation før afrensning. Hertil kan anvendes katalog over "Bevoksning på murværk, tegl- og betontage. Der kan eventuelt foretages en registrering af vækst på aftryksplader. Denne metode, som er nærmere beskrevet i kapitel 10.3, kan dog kun anvendes på alger.

Efter rensning foretages en registrering af eventuelle tilbageværende organismer. Materialer, der var bevokset med alger, kan registreres ved brug af aftryksplader. Materialer, der var bevokset med anden vækst, kan undersøges i mikroskop efter rensning. Herefter kan prøveemnerne reeksponeres enten udendørs på feltopstilling eller for laboratorieinficerede plader i laboratorium under samme vilkår. Når eksponeringen er afsluttet registreres væksten igen.

På nedenstående figur er vist et eksempel på placering af aftryk.



Figur 9.2 Skematisk placering af aftryk taget på plader. Pladestørrelse 12 x 20 x 0,6 cm.
A: Umiddelbart efter opsætning udendørs før rensning
B: Umiddelbart efter rensning og før reeksponering i laboratorium
C: Efter reeksponering i laboratorium i 15 dage

Resultatopgørelse:

Resultatopgørelse sker som beskrevet:

- Før mekanisk rensning
- Umiddelbart efter rensning
- 2- 4 uger efter reeksponering i laboratorium
- Minimum 6 mdr. efter reeksponering udendørs

Følgende vurderingsskala kan anvendes for aftryksplader.

0 = Ingen vækst

1 = Ring vækst – 0-25% dækning eller 1-10 kolonier

2 = Moderat vækst – 26-50% dækning eller 11-50 kolonier

3 = Kraftig vækst – 51-75% dækning eller 50 – flere kolonier

4 = Massiv vækst – 76-100% dækning ikke muligt at tælle

9.4 Diskussion

Der er udviklet og beskrevet en metode til test af mekanisk rensning på laboratorieinficerede pladematerialer og naturligt inficerede materialer. Testen kan kombineres med forudgående kemisk behandling.

Testmetoden, som beskrevet ovenfor, er afprøvet med en tilfældig valgt metode til mekanisk rensning og med både laboratorieinficerede plader og naturligt inficerede røde tegltagsten med vækst af grønalger, se kap. 11. Formålet var at verificere metodens egnethed og samtidig foretage en afprøvning.

Mekanisk rensning kan påvirke materialeoverfladen. Det viste sig i praksis ved de gennemførte forsøg, beskrevet i kapitel 11, at pladematerialet blev kraftigt opfugtet og fløjsagtigt i overfladen og tegltagstenene blev hullede, idet løst materiale i overfladen blev fjernet under rensningen. Efter udendørs reeksponering i 6 mdr. er det lykkedes at påvise vækst af både alger, laver og mosser. Det har dog ikke været muligt at lave en grundigere og længerevarende undersøgelse af forskellige metodeparametre. Testmetoden kunne også tænkes kombineret med forudgående kunstig ældning af materialer, men dette beskrives ikke i indeværende projekt.

9.5 Konklusion

Kombineret laboratorietest og feltprøvning som ovenfor beskrevet kan anvendes som dokumentation af effektiviteten af mekanisk rensning af bevoksede materialer.

Det må anbefales så vidt muligt at anvende naturligt inficerede materialer, der anvendes i praksis, og kun anvende laboratorieinficeret plademateriale, som reference. Ønskes den mekaniske rensning i praksis anvendt sammen med et bekæmpelsesmiddel kan dette testes separat iht. metoden beskrevet i bilag 2 og i kombination med den mekaniske rensning.

Ved mekanisk rensning kan materialeoverfladen beskadiges, hvilket antagelig kan føre til, at materialeoverfladen er mindre modstandsdygtig end før rensning overfor etablering af bevoksninger.

Erfaringen viser netop, at det er overordentlig vigtigt forud for prøvningen og efterfølgende at lave en grundig registrering af overfladens beskaffenhed. Dette kan nemmest ske ved en systematisk fotoregistrering gerne suppleret med mikrofotografering.

Det må endvidere anbefales, at reeksponere testmaterialerne efter rensning - på et udendørs feltareal for naturligt inficerede emner og i laboratorium eller udendørs for laboratorieinficerede testmaterialer - med henblik på at registrere, hvor hurtigt ny vækst etablerer sig efter rensningen.

Ved en kontrolleret prøvning kan der både laves metodeudvikling og/eller -justering og endvidere skaffes dokumentation for rensningens effekt under givne forhold.

10 Metoder til kvalitetskontrol af rensmidler/-metoders effekt

10.1 Indledning

I projektets fase 2 er der stillet spørgsmål ved, om man ved visse former for afrensning kan gøre problemet værre i stedet for at forbedre situationen. Det kan f.eks. ske ved, at begroinger med alger og laver ved rensningen findeles og spredes således, at hele fladen efter rensning er inficeret med materiale, der kan spire til nye angreb. Det kan også tænkes, at visse metoder og midler, eller kombinationer heraf kan skade materialets overflade. Disse forhold kan bedst afklares ved afprøvning i praksis – en såkaldt in-situ test. Herved forstås en afprøvning af middel eller metode eller en kombination heraf på relevante materialer ved udendørs eksponering og naturlig infektion.

Midler og metoder til bekæmpelse af eksisterende bevoksning vil mest realistisk kunne afprøves ved in-situ forsøg på eksisterende bygninger, hvor bevoksningen er veletableret på det tidspunkt, hvor man ønsker en afprøvning foretaget. Ved en sådan test vil man have en naturlig bevoksning bestående af flere organismegrupper men også ofte nogle ukendte faktorer samt en større variation over et prøvningsareal.

In-situ test vil kun kunne gennemføres efter forudgående skriftlig aftale med en bygningsejer. Bygningsejeren skal i den forbindelse gøres opmærksom på risikoen for varige skader på materialet og for varige misfarvninger eller uensartede skader på materialeoverfladerne ved eventuel anvendelse af flere forskellige metoder på samme tagflade eller facade. Endvidere vil der være behov for udvikling af en non-destruktiv metode til evaluering af effekten af de enkelte metoder med mindre materialet er egnet til udskiftning eller anden form for reovering efter tilendebragt afprøvning.

Deraf opstod ideen om, at man bør udvikle en metode til kvalitetskontrol af rensningen/behandlingen. Sådanne metoder findes f.eks. til kvalitetskontrol af afrensning af skimmelangreb på indvendige overflader i bygninger.

Der blev udført nogle indledende forsøg, som er rapporteret nedenfor.

10.2 Biologisk kvalitetskontrol

Formålet med at udvikle en metode til kvalitetskontrol er:

- At få en metode, der kan anvendes til vurdering af den biologiske effekt ved udvikling og optimering af eksisterende såvel som nye midler og metoder til afrensning af bevoksninger på murværk, tegl- og betontage
- At kunne anvende samme metode til kvalitetskontrol in-situ af den individuelle afrensning og derved sikre, at rensningen er gennemført i tilstrækkelig grad og omfang

Der er anvendt to principper, som også finder anvendelse ved test af skimmel-svampevækst på indvendige overflader, nemlig aftryksplader (A), såkaldte Rodac-plader og MycoMeter metoden (B).

10.3 Metoder til kvalitetskontrol

10.3.1 Aftryksplader

Formål:

At undersøge om aftryksplader er anvendelige til registrering af vækst på plane udendørs eksponerede overflader.

Materialer:

Petri-skåle, diam. 6 cm
V8 medium og BS medium

Metode:



Figur 10.1 Rodac-plader anvendt til test af vækst før og efter afrensning af muret facade med alge-bevoksning

Aftryksplader blev fremstillet med henholdsvis et svampemedium kaldet V8 og et algemedium BS-agar (beskrevet i kap. 8).

Aftryksplader eller såkaldte Rodac-plader, består af små plastskåle med en diameter på 6 cm. Agaren står lidt op over skålens kant. Når låget løftes, kan mediets overflade presses let mod den flade, man ønsker at teste. Eventuelle alger eller svampe på overfladen vil da overføres til mediet. Låget påsættes, og skålen mærkes, hvorefter den inkuberes i laboratorium.

BS-kontaktplader blev inkuberet ved 20°C og eksponeret med lys 13 timer i døgnet for dyrkning af alger.

Ved aflæsning af plader med algevækst blev følgende evalueringsskala anvendt:

- 0 = Ingen vækst
- 1 = Ringe vækst – 0-25% dækning eller 1-10 kolonier
- 2 = Moderat vækst – 26-50% dækning eller 11-50 kolonier
- 3 = Kraftig vækst – 51-75% dækning eller 50 – flere kolonier
- 4 = Massiv vækst – 76-100% dækning ikke muligt at tælle

V8-kontaktplader blev sat i varmeskab ved 26°C for dyrkning af skimmelsvampe. Efter inkubering i 4 til 5 døgn blev pladerne aflæst, og organismene identificeret.

Resultaterne dækker alene over den cirkel med diameter 6 cm, hvorpå pladen er trykket af.

10.3.2 MycoMeter metoden

Formål:

At teste om MycoMeter metoden kan anvendes til at registrere vækst på facader og tage udendørs.

Materialer:

MycoMeter testkit
Testudstyr

Metode:



Figur 10.2 Materialer til MycoMeter-test samt Rodac-plade på sålbænk med bevoksning af bl.a. laver.

MycoMeter metoden er en testmetode til måling af biologisk aktivitet. Testen er baseret på detektion og kvantificering af et enzym, som findes i både mycelium og sporer hos alle skimmelsvampe. Der er anvendt en ny forbedret analysemetode. Ved besigtigelsen påsættes en mærkat, der afgrænser et areal på 9cm². Inden for dette areal stryges med en vatpind dyppet i en væske. Vatpin-

den hjemtages til laboratorium, og den enzymmængde, der er afsat på vatpinden, kan nu analyseres.

Analyseresultater inddeles i 3 kategorier:

- A. MycoMetertal ≤ 25 . Skimmelsvampeniveauet er ikke over normalt baggrunds niveau.
- B. MycoMetertal $> 25, \leq 450$. Skimmelsvampeniveauet er over normalt baggrunds niveau.
- C. MycoMetertal > 450 . Massiv vækst af skimmelsvampe.

10.4 Afprøvning af metoder til kvalitetskontrol

Både aftryksplader og MycoMeter-testen er afprøvet i praksis. Aftryksplader med specifikt algemedium er afprøvet på algebevokset murværk. Aftryksplader med svampemedium er afprøvet på en lavbevokset sålbænk, hvorpå MycoMeter-testen også er afprøvet.

10.4.1 Metode til kvalitetskontrol af afrensning på algebegroet overflade

Formål:

At afprøve om aftryksplader kan anvendes til test af afrensning af algebegroet murværk.

Materialer:

Prøvefelt: Teknologisk Institut, Gregersensvej, 2630 Taastrup
- rød teglstensfacade mod nord bevokset med grønalger
Rodac-plader med algemedium (BS-medium)
Rensemiddel: Benzalconiumchlorid kaldet BAC

Metode:

Prøvefladerne blev afrenset med rent vand og børste og med BAC i vand (100 ml BAC til 1 l vand). Der blev afrenset med grov børste indtil overfladen virkede "ren". Der blev taget prøver før afrensning og efter afrensning efter nedenstående plan:

Tabel 10.1. Oversigt over forsøgsplan med aftryk på algebegroet murværk.

Algebevoksn.	Før rensning	Efter rensning m. vand	Efter rensning m. BAC
BS-plader	4 plader	4 plader	4 plader

Efter 5 døgns inkubering v. 20°C blev BS-kontaktplader aflæst, og de enkelte kolonier blev talt og identificeret. Alge kolonier/celler blev mikroskopert, og algernes udbredelse/dækningsgrad blev vurderet.

Resultatopgørelse:

Resultatet er opgjort ved bug af vurderingsskalaen beskrevet under afsnit 10.3.1.

Prøverne er udtaget på overflade af røde mursten udendørs.

Af tabellen fremgår det, at væksten er reduceret kraftigt efter rensning med BAC, men at rent vand alene ikke er tilstrækkeligt.

Tabel 10.2 Resultat af aftryk før og efter rensning af algebegroet murværk.

Plade nr.	Før rensning	Efter rensning m. vand	Efter rensning m. BAC
1	4 – massiv vækst		
2	4 – massiv vækst		
3	4 – massiv vækst		
4	4 – massiv vækst		
5		3 – kraftig vækst	
6		3 – kraftig vækst	
7		2 – moderat vækst	
8		2 – moderat vækst	
9			0-1 – ingen til ringe vækst
10			0-1 – ingen til ringe vækst
11			0-1 – ingen til ringe vækst
12			0-1 – ingen til ringe vækst

10.4.2 Metode til kvalitetskontrol af afrensning på lavbevokset overflade

Formål:

At afprøve om aftryksplader med to forskellige medier og MycoMeter-test kan anvendes til test af afrensning af bevokset sålbænk domineret af lavvækst.

Materialer:

Prøvefelt: Teknologisk Institut, Gregersensvej, 2630 Taastrup
 - støbt betonsålbænk, sydvendt.
 Rodac-plader med BS-medium
 Rodac-plader med V8 medium
 MycoMeter-test materialer

Metoder:

Prøvefladerne blev afrenset med rent vand og børste og med BAC i vand (100 ml BAC til 1 l vand). Der blev afrenset med grov børste indtil overfladen virkede ”ren”. Der blev taget prøver før og efter afrensning efter nedenstående plan:

Tabel 10.3 Oversigt over forsøgsplan med aftryk og MycoMeter test af lavbevokset sålbænk.

Lav	Før rensning	Efter rensning m. vand	Efter rensning m. BAC
MycoMeter	2 (prøve 1 og 2)	2 (prøve 3 og 4)	2 (prøve 5 og 6)

V8-plader	4	4	4
BS-plader	3	-	-

Da laver er en symbiose af både svampe og alger blev både BS-mediet, som er et algemedium, og V8-mediet, som er et svampemedium, afprøvet. Efter 5 døgn inkubering v. hhv. 20°C og 26°C blev BS-kontaktplader og V8-kontaktplader aflæst, og de enkelte kolonier blev talt og identificeret. Alge kolonier/celler blev mikroskopert og algernes udbredelse/dækningsgrad blev vurderet.

Resultatopgørelse:

Identifikation af organismer er foretaget ved lysmikroskopi af aftryksplader, bilag 3. Der er konstateret en bred sammensætning af 12 forskellige skimmel-svampe på sålbænken før afrensning. Efter afrensning med vand genfindes 7 af disse i næsten samme mængde. Efter afrensning med BAC genfindes kun 4 arter i ringe mængde. Kontaktplader (rodacplader) med svampemediet V8-agar tilsat antibiotika. Aftryk udtaget på overfladen af beton-sålbænke.

Tabel 10.4 Resultat af aftryk med V-8 plader før og efter rensning af lavbevokset sålbænk

Plade nr.	Før rensning	Efter rensning m. vand	Efter rensning m. BAC
1	Moderat		
2	Moderat		
3	Moderat		
4	Moderat		
5		Moderat	
6		Moderat	
7		Moderat	
8		Moderat	
9			Ringe
10			Ringe
11			Ringe
12			Ringe

Vækst: 1-10 kolonier = ringe, 11-50 = moderat, >50 = massiv

Tabel 10.5 Resultat af aftryk med BS plader før og efter rensning af lavbevokset sålbænk

Plade nr.	Før afrensning
1	1 - ringe vækst
2	1 - ringe vækst
3	1 - ringe vækst

Tabel 10.6 Resultat af MycoMeter-test før og efter rensning af lavbevokset sålbænk

Prøve nr.	MycoMetertal - vækst skøn
1. Sålbænk før afrensning	C - 522 - massiv vækst
2. Sålbænk før afrensning	B - 105 - moderat
3. Sålbænk efter afrensning med vand	B - 199 - moderat
4. Sålbænk efter afrensning med vand	B - 325 - moderat
3. Sålbænk efter afrensning med BAC	C - 634 - massiv vækst
4. Sålbænk efter afrensning med BAC	B - 50 - ringe

Kat. A: MycoMeter-tal <25 Normal niveau

Kat. B: 25 < MycoMeter-tal >450 Over normalniveau, sporer, sjældnere vækst

10.5 Diskussion

Aftryksplader med algemedium (BS-agar) synes særdeles velegnet til kvalitetskontrol af afrensning af plane overflader bevoksede med alger. Hvis ikke der forefindes en plan overflade på 6 cm i diameter kan mindre plader fremstilles. Metoden vil kunne anvendes både i laboratorieforsøg, feltforsøg og in-situ afprøvning ved udvikling af rensemetoder og -midler og vil også kunne bruges til kvalitetskontrol af afrensning i praksis.

Aftryksplader med svampemediet V8 anvendt på lavbevokset sålbænk er måske ikke umiddelbart anvendeligt til test af lavbegroning i den forstand, at det jo ikke er laver, der gror frem på pladen. Men prøverne viser – ikke overraskende – at der findes en masse sporer og antagelig også vækst af skimmelsvampe, som forekommer almindeligt i udeluften, og som naturligt aflejres overalt. Det viser også tydeligt, at det afprøvede rensmiddel (BAC) har en effekt både ved at nedsætte antallet af svampearter og antallet af kolonier, der forekommer på pladerne efter afrensning. Aftrykket er taget efter, at den behandlede flade er blevet overfladetør, så det forventes ikke, at der efterfølgende har været en stor koncentration af BAC overført til mediet, som derved yderligere kunne hæmme svampevækst. Afrensning med vand alene ser ud til at fjerne visse svampe, f.eks. *Acremonium*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Trichosporon pullulans*, *Ulocladium*, til gengæld opnås samlet flere kolonier. I gennemsnit fandtes 27 kolonier før afrensning, 38 kolonier efter afrensning med vand og kun 6 kolonier efter afrensning med BAC, som indeholder benzalkoniumklorid, der har en biocid effekt.

Selvom testen ikke er omfattende bekræfter resultaterne måske tesen om, at en mekanisk afrensning alene kan medvirke til at fjerne nogle organismer og sprede andre. Yderligere undersøgelser er dog påkrævet.

Aftryksplader med algemedium afprøvet på sålbænke med lavbegroning før afrensning viser ikke overraskende, at det er svært at fange algerne, som er indesluttet i laverne. Den ringe dækningsgrad på 0-25% må snarere tages som udtryk for, at almindeligt forekommende luftalger har afsat sig på sålbænken, og dermed kan aflæses på vores aftryksplader.

MycoMeter-test er ikke umiddelbart anvendelig til kvalitetskontrol af afrensning på murværk, tegl og beton. Siden testen blev gennemført har producenten dog videreudviklet metoden, således at der nu foretages en filtrering af prøvevæsken, som analyseres, hvilket betyder, at partikler og uklarheder filtreres fra, hvilket måske vil kunne give mere entydige resultater.

10.6 Konklusion

Der er forsøgt udviklet og afprøvet metoder til kvalitetskontrol af rensmidler/-metoders effekt. Formålet var, at metoderne skulle kunne anvendes både ved udvikling og afprøvning af midler og metoder til bekæmpelse/rensning af bevoksninger, men også i praksis ved f.eks. mekanisk rensning in situ.

To systemer er afprøvet. 1. Aftryksplader med et specifikt dyrkningsmedium, som trykkes af mod en overflade, der er bevokset eller renses. Eventuelle organismer eller spredningsenheder sætter sig på pladen, som henstår i klimarum i

laboratorium nogle dage, hvorefter de fremvoksede organismer kan tælles og identificeres. 2. En kvantitativ enzymtest specifikt rettet mod skimmelsvampe, som kan anvendes til at vurdere, om der er skimmelvækst på en overflade, og hvor kraftig væksten er.

Aftryksplader med et algespecifikt dyrkningsmedium forventes at kunne anvendes til kvalitetskontrol ved afrensning af algebevoksninger. Aftryksplader med et svampespecifikt medium forventes at kunne anvendes til kvalitetskontrol ved afrensning af svampevækst. Aftryksplader kan ikke anvendes ved lavbevoksning. MycoMeter-testen er alene anvendelig til kvalitetskontrol ved afrensning af svampevækst.

En videre udvikling og afprøvning af metoderne er nødvendig for endeligt at afklare, om disse metoder kan anvendes ved kvalitetskontrol af afrensning in-situ.

11 Test af udvalgte midler, produkter, materialer og metoder iht. de udviklede metoder

11.1 Indledning

Med henblik på at afprøve og tilpasse de prøvningsmetoder, der er beskrevet i kap. 8 er der foretaget nogle prøvninger, hvor henholdsvis effekten af midler til rensning og et produkt til imprægnering er blevet afprøvet i laboratorium på forskellige materialer. Endvidere er effekten af mekanisk rensning blevet testet på laboratorieinficerede pladematerialer og på naturligt inficerede røde tegltagsten iht. metode i kap. 9.

11.2 Laboratorietest

11.2.1 Test af midler til rensning af bevoksninger iht. standardmetode bilag 2, Del A

Formål:

At anvende standardmetoden beskrevet i kap. 8 og bilag 2, Del A, til test af udvalgte midler til rensning af bevoksninger på murværk, tegl og betontage. Midlerne er testet på et udvalg af forskellige materialer.

Materialer:

- Rensemiddel:
 - FS klar til brug opl. i sprayflaske, rækkeevne 750ml til 5 m²
 - BAC 10% anvendes i 10% vandig opløsning; rækkeevne 0,1-0,2 l/m²
- Testemner:
 - Kalciumsilikatplader (KS-plader) 10 x 10 x 0,6 cm
 - Teglsten, gule og røde, skåret så oprindelige endeflader er anvendt til opadvendt prøveflade. Prøverne havde størrelsen 5 x 10 x ca.2 cm
 - Betonfliser tilskåret til 10 x 10 x 2,5 cm
- Algekultur:
 - Stichococcus bacillaris 376/1A

Forsøget er i øvrigt udført som beskrevet i bilag 2, del A.

Metode:



Figur 11.1 Materialer til laboratorietest, fra venstre – teglsten, betonfliser og kalciumsilikatplader før behandling

Procedure beskrevet i standard bilag 2, Del A er fulgt. Når væksten på de inokulerede testemner var massiv efter 2-3 uger blev emnerne behandlet med rensmiddel efter leverandørens anvisning. FS blev leveret i færdig brugsløsning i sprayflaske. BAC 10% fortyndet i forholdet 100ml BAC:900 ml vand. Alle midler og kontrolvæsker er påført svarende til 150 ml pr m². pH er målt på brugskoncentrationen.

Kontrol er udført med rent vand og med vand indstillet til samme pH som midler.

Vækst/mortalitet er registreret i mikroskop og ved aftryksplader, se kap. 10, efter ca. 4 ugers eksponering. Emnerne er endvidere fotoregistreret før og efter behandling med algemiddel.

Resultatopgørelse:

FS: pH = 9,46

BAC: pH = 8,00

Kontrol A: Vand tilsat NaOH 1M til pH 9,46

Kontrol B: Autoklaveret demineraliseret vand, pH 8.

Tabel 11.1 Resultat af test af rensmidler.

Nr.	Materiale	Behandling	Vækst før behandl.	Vækst efter behandl.
1	KS-plade	BAC	Massiv	Ingen
2	KS-plade	BAC	Massiv	Ingen
3	KS-plade	BAC	Massiv	Ingen
4	KS-plade	FS	Massiv	Massiv
5	KS-plade	FS	Massiv	Kraftig
6	KS-plade	FS	Massiv	Massiv
7	KS-plade	Kontrol B	Massiv	Kraftig
8	KS-plade	Kontrol B	Massiv	Kraftig
9	KS-plade	Kontrol B	Massiv	Massiv
10	KS-plade	Kontrol A	Massiv	Kraftig
11	KS-plade	Kontrol A	Massiv	Kraftig
12	KS-plade	Kontrol A	Massiv	Kraftig
13	KS-plade	Vand	Massiv	Kraftig
14	KS-plade	Vand	Massiv	Kraftig
15	KS-plade	Vand	Massiv	Massiv
16	Rød tegl	FS	Massiv	Kraftig
17	Rød tegl	FS	Massiv	Kraftig
18	Rød tegl	FS	Massiv	Kraftig
19	Rød tegl	Vand	Massiv	Kraftig
20	Rød tegl	Vand	Massiv	Kraftig
21	Rød tegl	Vand	Massiv	Kraftig
22	Gul tegl	FS	Massiv	Moderat
23	Gul tegl	FS	Massiv	Moderat
24	Gul tegl	FS	Massiv	Moderat
25	Gul tegl	Vand	Massiv	Massiv
26	Gul tegl	Vand	Massiv	Massiv
27	Gul tegl	Vand	Massiv	Massiv
28	Beton	FS	Ingen vækst	-
29	Beton	FS	Ingen vækst	-
30	Beton	FS	Ingen vækst	-
31	Beton	Vand	Ingen vækst	-
32	Beton	Vand	Ingen vækst	-
33	Beton	Vand	Ingen vækst	-

Vurderingsskala: som beskrevet i afsnit 8.4.2.

11.2.2 Test af imprægneringsmidler iht. standardmetode bilag 2, Del B

Formål:

At anvende standardmetoden beskrevet i kap. 8 og bilag 2, del B til test af udvalgte imprægneringsmidler med det formål at undersøge, om testmetoden er tilstrækkelig følsom til at påvise forskelle i algevækst på et materiale med og uden imprægnering.

Materialer:

- Imprægneringsmiddel
- Testemner:
 - Kalciumsilikatplader (KS-plader) 10 x 10 x 10,6 cm
- Algekultur:
 - *Stichococcus bacillaris* 379/1A

Metode:

- Pladerne er påført imprægneringsmidlet min. 3 dage før testen gik i gang. Midlet blev påført på alle flader med pensel 2 gange med ca. 3 timers mellemrum, så mætning indtrådte
 - Et ekstra prøveemne er imprægneret på samme måde og henstod 3 dage. Denne plade blev anvendt til at kontrollere, om imprægneringen var virkningsfuld, både ved at dryppe vand på overfladen (vandet skal blive stående som en vanddråbe) og ved at knække pladen og dryppe vand på brudfladen (også herfra skal vandet gerne perle af for at der har været ordentlig indtrængning af imprægneringen)
 - Halvdelen af emnerne blev udsat for udvaskning ved nedlægning i vandbad 9 dage med udskiftning af vand hver 3. dag
- Forsøget er i øvrigt udført som beskrevet i bilag 2, del B.

Resultatopgørelse:

Tabel 11.2 Resultat af test af imprægneringsmidler.

Nr	Materiale	Impr.	Udvaskning	Registrering af vækst
				Tid 5 uger
1	Kalcium-silikatplade	+	Uden	Ingen vækst
2		+	Uden	Ingen vækst
3		+	Uden	Ingen vækst
4		+	Med	Ingen vækst
5		+	Med	Ringvækst
6		+	Med	Ingen vækst
7		- vand	Uden	Massiv vækst
8		- vand	Uden	Massiv vækst
9		- vand	Uden	Massiv vækst
10		- vand	Med	Massiv vækst
11		- vand	Med	Massiv vækst
12		- vand	Med	Massiv vækst

11.3 Afprøvning af metode til test af mekanisk rensning

Forsøg med afrensning af vækst ved hedvandsrensning er udført på hhv. algebevoksede, kalciumsilikatplader, på alge- og lavbevoksede tegltagsten samt på

lavbevoksede betontagsten. Afrensningen blev udført på Teknologisk Institut, Murværk med professionelt anlæg af en professionel anlægsoperatør.

Der er udført forsøg ved følgende kombinationer af tryk og temperatur:

- 95°C, 110 bar
- 95°C, 70 bar
- 65°C, 110 bar
- 65°C, 70 bar

Vandet, der anvendtes, var demineraliseret vand. På tegtagsten blev der udført forsøg med kombination af kemisk middel og hedvandsrensning.

11.3.1 Hedvandsrensning af kalciumsilikatplader inficeret i laboratorium med alger

Formål:

At teste effekten af hedvandsrensning på laboratorieinficerede kalciumsilikatplade-plader.

Baggrund:

I dette forsøg blev 12 x 20 cm store plader inficeret i laboratorium med grøn-alger. Når algerne var dyrket frem til massiv vækst på pladerne, blev de eksponeret udendørs lodret ophængt på hegn, og der blev foretaget en afrensning af hele fladen.

Da afrensningen var foretaget, blev pladerne nedtaget og bragt tilbage på laboratoriet, hvor de blev fotoregistreret og inkuberet under samme forhold som før for genopdyrkning af de alger, som måtte være tilbage på pladerne efter rensning. Det var dermed muligt at evaluere rensningens kvalitet. Denne prøvning blev suppleret med kvalitetskontrol ved brug af aftryksplader med algemedium før og efter afrensning.

Materialer:

- Kalciumsilikatplader: 12 x 20 cm
- Algekultur af *Stichococcus bacillaris* 379/1A
- Aftryksplader med BS-agar
- Renseudstyr

Metode:

Det er beskrevet i kapitel 8 samt i bilag 2, Del A, hvordan alger dyrkes i laboratorium, og hvordan pladematerialer kan inficeres.

Kalciumsilikatplader blev autoklaveret ved 120°C i 20 min.

Pladerne blev inficeret på 1 side ved udpladning af algesuspension i BS-opløsning.

Pladerne blev lagt horisontalt i plastbokse på vandmættet vermiculit og eksponeret i lys (24 timer i døgnet), indtil væksten kunne karakteriseres som massiv.



Figur 11.2 Kalciumsilikatplader til forsøg med hedvandsrensning.

Ved den mekaniske rensning blev anvendt 2 forskellige tryk og to forskellige temperaturer. Antallet af parallelle emner var 3.

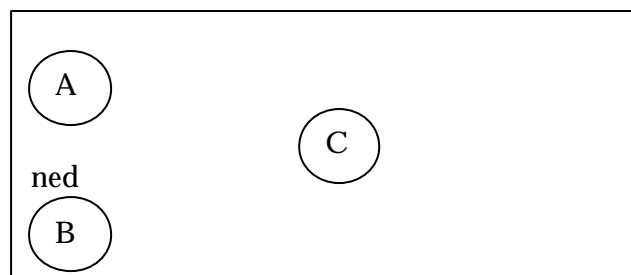
Når algevæksten på testpladerne 1-12 var massiv blev pladerne ophængt udendørs på hegn sammen med kontrolplader, og der blev foretaget hedvandsrensning efter givne definerede parametre.

Ophængningen blev foretaget med minimum afstand på 5 cm efter et fast mønster, som beskrevet i kap. 9. Desuden blev der ophængt et sæt á 3 plader til kontrol af luftforurening, som blev rensset på samme måde som ovenfor samt et tilsvarende sæt, der ikke blev rensset. Disse plader blev ophængt, så de ikke fik sprøjt fra de algebegroede plader ved rensning, og de hængte i lige så lang tid som de øvrige.

Hele feltet blev rensset. Kontrolpladerne blev undersøgt for, hvor meget infektion, der kan ske til rene plader ved rensning.

Når afrensning var foretaget blev kalciumsilikatpladerne igen lagt ned i rene plastkasser på ny autoklaveret vermiculit og eksponeret som før med henblik på at fremprovokere vækst. De blev sprøjtet med 12 ml BS-opløsning under eksponeringen med samme interval som ved opdyrkningen.

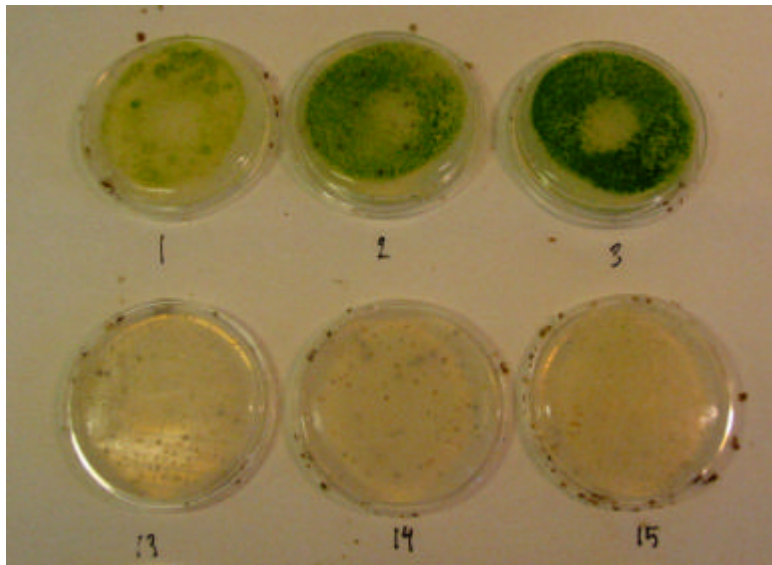
Før og efter afrensning blev der taget aftryk med BS-algemedium til sikring af en objektiv evaluering gennem hele testproceduren. Metoden er beskrevet i kapitel 10.



Figur 11.3 Skematisk placering af aftryk taget på plader. Pladestørrelse 12 x 20 x 0,6 cm.



Figur 11.4 Forsøgsopstilling med hedvandsafrensning på Teknologisk Institut, Murværk.



Figur 11.5 Rodac-plader anvendt til test af vækst før og efter afrensning af Kalciumsilikatplader

Der blev udtaget aftryk umiddelbart efter opsætning udendørs før rensning (A), umiddelbart efter rensning og før reeksponering i laboratorium (B) og efter reeksponering i laboratorium i 15 dage (C).

Resultatopgørelse-kalciumsilikatpladeplader:

Tabel 11.4 Resultat af forsøg med mekanisk rensning af kalciumsilikatplader.

Temp.	Tryk	Plader nr.	Evaluering gn.sn. Rene kontrol (K)		
			A – før	B – efter	C – efter 15 dg.
95°C	110 bar	1	Massiv	Ingen	Ingen
		2	Massiv	Ingen	Ingen
		3	Massiv	Ingen	Ingen
65°C	110 bar	4	Massiv	Ingen	Moderat
		5	Massiv	Ingen	Moderat
		6	Massiv	Ingen	Ringe
95°C	70 bar	7	Massiv	Ingen	Kraftig
		8	Massiv	Ingen	Moderat
		9	Massiv	Ingen	Kraftig
65°C	70 bar	10	Massiv	Ringe	Massiv
		11	Massiv	Ingen	Kraftig
		12	Massiv	Ingen	Moderat
95°C	110 bar	13 - K	Ingen	Ingen	Ringe
		14 - K	Ingen	Ingen	Ringe
		15 - K	Ingen	Ringe	Kraftig
65°C	110 bar	16 - K	Ingen	Ingen	Ringe
		17 - K	Ingen	Ingen	Ringe
		18 - K	Ingen	Ingen	Ringe
95°C	70 bar	19 - K	Ingen	Ingen	Ringe
		20 - K	Ingen	Ingen	Ingen
		21 - K	Ingen	Ingen	Ringe
65°C	70 bar	22 - K	Ingen	Ingen	Moderat
		23 - K	Ingen	Ringe	Ringe
		24 - K	Ringe	Ingen	Ingen
65°C	70 bar	25 - K	Ingen	Ingen	Moderat
		26 - K	Ingen	Ingen	Massiv
		27 - K	Ingen	Ingen	Kraftig
-	-	28 - K	Ingen	Ingen	Ringe
		29 - K	Ingen	Ingen	Ringe

Vurderingsskala:

0 = Ingen vækst

1 = Ringe vækst – 0-25% dækning eller 1-10 kolonier

2 = Moderat vækst – 26-50% dækning eller 11-50 kolonier

3 = Kraftig vækst – 51-75% dækning eller 50 – flere kolonier

4 = Massiv vækst – 76-100% dækning ikke muligt at tælle

11.3.2 Kemisk behandling med og uden efterfølgende hedvandsrensning af naturligt inficerede tagsten

Formål:

At teste hedvandsrensning på naturligt inficerede tagsten af tegl og beton med og uden forudgående kemisk behandling.

Materialer:

10 røde tegltagsten med algebegroning
2 tegltagsten med lavbegroning
1 betontagsten med lavbegroning
2 tegltagsten uden begroning som kontrol

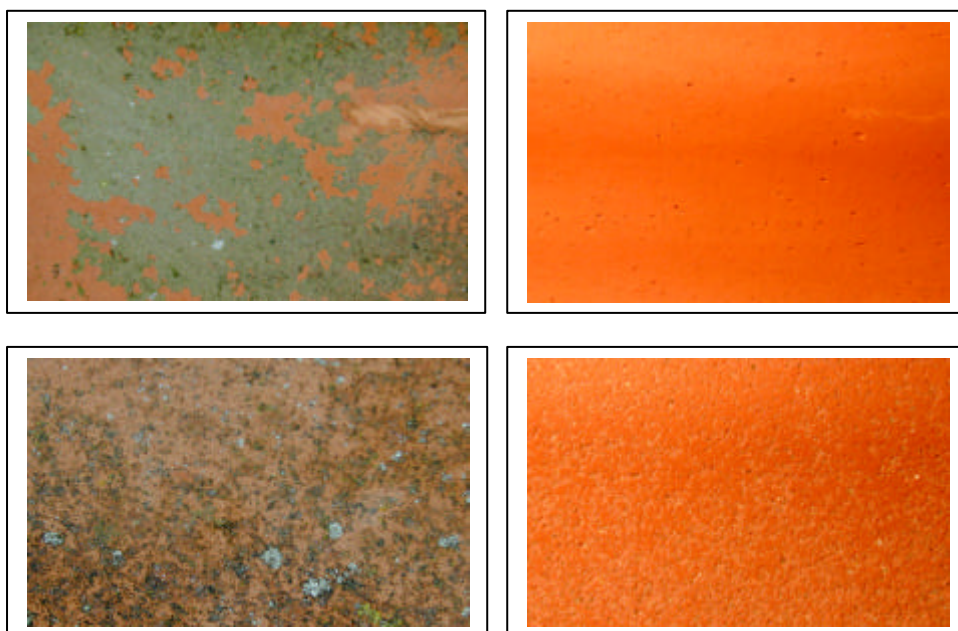
Kemisk behandling blev foretaget med FS på sprayflaske iht. producentens anvisning.

Metode:

Tagstenene har været eksponeret i praksis og var naturligt inficerede. Nogle tagsten blev behandlet med FS. Ifølge leverandørens brugsanvisninger skal produktet sprøjtes direkte på algerne. Døde alger kan så efter få dage fjernes ved at skrubbe med en børste eller kost, men dette er dog ofte ikke nødvendigt, da regnen vil skylle dem væk, jf. producenten.

Hedvandsrensning blev foretaget som beskrevet ovenfor. Tagstenene blev mærket og fotoregistreret inden opsætning og efter rensning på samme sted. Efter fotoregistrering ophængtes tagstenene med 45 graders hældning på stativ over jord på Teknologisk Instituts feltareal i Taastrup sammen med 4 stk. rene kalciumsilikat plader.

Derudover er der udført følgende orienterende forsøg med produktet: En rød algebevokset tegltagsten samt en rød lavbevokset tegltagsten er sprøjtet gentagne gange med midlet. Stenene er efterfølgende henlagt ved stuetemperatur uden yderligere behandlinger.



Figur 11.6 Tagsten før og efter rensning. Øverste række tegltagsten. Nederste række betontagsten.

Resultatopgørelse-tagsten:

Tabel 11.5 Resultat af hedvandsrensning af tagsten med eller uden forudgående kemisk behandling med FS.

Nr.	Tryk	Temp.	FS	Vækst	Registrering af algevækst ved aftryk med BS-plader efter rensning	
					A - før	B - efter
1	95°C	110 Bar	Uden	Alger	Moderat	Ingen
2	95°C	70 Bar	Uden	Alger	Moderat	Ingen
3	65°C	110 Bar	Uden	Alger	Moderat	Ingen
4	65°C	70 Bar	Uden	Alger	Moderat	Ingen
5	95°C	110 Bar	Med	Alger	Ringe	Ingen
6	95°C	70 Bar	Med	Alger	Ringe	Ingen
7	65°C	110 Bar	Med	Alger	Ringe	Ingen
8	65°C	70 Bar	Med	Alger	Ingen	Ingen
9	-	-	Med	Alger	Ingen	Ingen
10	-	-	Uden	Alger	Ingen	Ingen
11		110 Bar	Uden	Lav	-	-
12		70 Bar	Med	Lav	-	-
13*	65°C	110 Bar	Uden	Lav	-	-
51.2	65°C	110 Bar	Uden	Uden	-	-
52.1	65°C	110 Bar	Uden	Uden	-	-

* betontagsten. Øvrige emner er tegl.

Ved et lille orienterende forsøg med brug af FS uden efterfølgende hedvandsrensning er følgende konstateret: Først efter ca. 2 uger var der begyndende tegn på, at væksten begyndte at dø. Efter yderligere 1 uge var væksten forsat overvejende grøn. Forsøg på afvaskning ved forsigtig spuling med vand og blød klud resulterede blot i udtværing af algerne. Overfladen var meget fedtet. Om dette skyldtes algerne eller midlet kunne ikke vurderes. Se i øvrigt skema ovenfor.



Figur 11.7 Feltspånering af testemner efter hedvandsrensning.

Registrering af tagsten efter 6 mdrs. eksponering:

Registreringen er foretaget visuelt og med lup med forstørrelse på 10 gange.

Sten 1-9 er røde tegltagsten af samme mærke, som har været eksponeret på tagflade, og som før afrensning var stærkt og jævnt begroet med alger. Efter rensning var stenene visuelt rene men med mange små huller. Efter 6 mdrs. eksponering på feltareal er der jævnt udbredt algevækst med kraftig vækst i hullerne og visuelt mest synlig grønalgevækst i "dalen". Desuden er der spredt vækst af lavarten *Melaniella exasperatula*.

Sten 11 er en gul tegltagsten. Der er kun ringe forekomst af alger på overfladen, og overfladen er mindre skadet end sten 1-9.

Sten 12 er en rød tegltagsten. Der er meget store huller i overfladen fra 2-10 mm antagelig hvor små sten er fjernet ved afrensningen. I hullerne er der kraftig algevækst, og algerne er ligeledes udbredte over fladen.

Sten 45.4 er en betontagsten. Overfladen er grubet med småsten i overfladen. Der ses ganske få frugtleger af *Lecanora dispersa*. Der ses ingen alger.

Sten 52.1 er en teglsten. Der er spredt forekomst af snavs, men ingen eller meget lidt bevoksning.

Sten 52.2 er en tegltagsten. Der er spredt algevækst.

Cellulosefiberarmerede kalciumsilikatplader 2 stk. bevokset med grønalger og rensed og 2 stk. ikke bevoksede og ikke-rensede emner. Der ses ingen vækst på disse emner.

11.4 Diskussion

Der er gennemført laboratorieprøvninger iht. metoder beskrevet i kap. 8 og bilag 2. Såvel prøvningsmetoder som dyrkningsfaciliteter er afprøvet ved test af 2 rensemidler og et imprægneringsmiddel samt 4 forskellige materialer. Metoderne fungerer iht. det beskrevne.

Forskellige materialer, teglsten, betonfliser og et plademateriale er blevet afprøvet som underlag for algebegrønningen. Her må det konstateres, at materialets farve og overfladestruktur og porøsitet har stor betydning for vækstens udvikling generelt men også for selve registreringen. Den valgte testorganisme – grønalgen *Stichococcus bacillaris* – groede godt på pladematerialet og sås tydeligt, mens det var svært at registrere væksten på de mere ru overflader og på mørke farver. Derfor bør kalciumsilikatplader eller tilsvarende materiale medtages i en test. Andre materialer kan medtages, hvis det skønnes nødvendigt, eller hvis rekvirenten ønsker det.

Prøvningen blev udført med en monokultur, dvs. kun én art, og valget er en meget almindelig grønalge *Stichococcus bacillaris*. Den var let at dyrke og opformere, og den var let at sprede ud på materialet. Det er vigtigt, at udspretnings teknikken sikrer, at algesuspensionen bliver spredt over hele fladen.

Ved test af rensemidler (11.2.1) blev der udover kalciumsilikatplader anvendt gule og røde teglsten samt betonfliser, som er blevet tilskåret til formålet. Det

kan konkluderes, at betonfliser er uegnede som testunderlag, og at gule teglsten er bedre egnede end røde teglsten grundet, at det er lettere at se grønalgene på den gule sten. I forsøget er afprøvet rensmidlerne FS og BAC efter producentens anvisning. Forsøget har vist, at det kan lade sig gøre at producere ensartede resultater i parallelle emner, og at det kan lade sig gøre at dokumentere forskelle mellem forskellige produkter. I forsøget med imprægneringsmidler er det tydeligt, at algerne ikke vokser på de imprægnerede plader.

Der blev ikke gennemført nogen ældning af materialerne udover udvaskning, se test af imprægneringsmidler (11.2.2), forud for de gennemførte test. Ved egentlig produktprøvning vil det i tilfælde, hvor produktet markedsføres med et udsagn om, at det har langtidseffekt være særdeles relevant at inkludere en ældningsprocedure til dokumentation af dette. Ældningsprocedurer findes beskrevet i forskellige standarder og sammensætning af et prøvningsprogram må tage udgangspunkt i materialet/produktet og den ønskede/påståede ydeevne.

Se Diskussion og Konklusion i kap. 8.

En metode til test af mekanisk rensning (11.3) er ligeledes udviklet og afprøvet på et tilfældigt valgt udstyr og metode. Afrensningen fjernede effektivt den biologiske vækst både på de laboratorieinficerede plader og de naturligt inficerede tagsten vurderet visuelt umiddelbart efter rensning, men der skete synlig skade på materialernes overflade, se figur 11.6. På tagsten nr. 5, 6 og 7 viste aftryksplader "ringe vækst", hvilket vil sige, at der var algeforekomst tilbage efter rensning, som i praksis må antages at kunne videreudvikle sig.

Alle tagsten og enkelte calciumsilikatplader blev ophængt på udendørs forsøgsareal i Taastrup, i 6 mdr. og registreret for vækst. (Sten nr. 10 er på Murværkscentret). Felteksponeringen fortsætter.

11.5 Konklusion

Den i bilag 2 beskrevne testmetode er afprøvet på udvalgte midler og produkter.

Forsøgene har vist, at laboratorietest med monokultur af grønalg *Stichococcus bacillaris* kan gennemføres og anvendelsesområderne er:

- Prøvning af midler til bekæmpelse eller rensning af murværk, tegl- og betontage
- Prøvning af produkter til forebyggelse af etablering af bevoksninger
- Prøvning af materialers modstandsdygtighed overfor etablering af bevoksninger

Forskellige materialer er anvendt som testunderlag. Det kan konkluderes, at betonfliser er uegnede som testunderlag, og at gule teglsten er bedre egnede end røde teglsten grundet, at det er lettere at se grønalgene på den gule sten. En cellulosefiberarmeret calciumsilikatplade er særdeles velegnet til laboratorietest.

I forsøgene er afprøvet rensmidlerne FS og BAC efter producentens anvisning. Forsøgene har vist, at det kan lade sig gøre at producere ensartede resultater i parallelle emner, og at det kan lade sig gøre at dokumentere forskelle mellem forskellige produkter. I forsøget med imprægneringsmidler er det tydeligt, at algerne ikke vokser på de imprægnerede plader.

Der blev ikke gennemført nogen ældning af materialerne forud for de gennemførte test udover udvaskning i forbindelse med test af imprægneringsmidler. Ved egentlig produktprøvning vil det i tilfælde, hvor produktet markedsføres med et udsagn om, at det har langtidseffekt være særdeles relevant at inkludere en ældningsprocedure til dokumentation af dette. Ældningsprocedurer findes beskrevet i forskellige standarder og sammensætning af et prøvningsprogram må tage udgangspunkt i materialet/produktet og den ønskede/påståede ydeevne.

En metode til test af mekanisk rensning er ligeledes udviklet og afprøvet på et tilfældig valgt udstyr og metode. Metoden blev afprøvet både på laboratoriefificerede plader og på naturligt inficerede tagsten. Det kan anbefales at gøre begge dele.

Aftryksplader med algespecifikt dyrkningsmedium blev anvendt til kvalitetskontrol på afrensning af algebevoksninger. Det virkede efter hensigten. Endvidere blev emnerne fotoregistreret før og efter rensning. Det kan endvidere anbefales at inkludere undersøgelse af materialetekniske parametre især vedrørende overfladen før og efter rensning.

Alle tagsten og enkelte kalciumsilikatplader blev ophængt på udendørs forsøgsareal i Taastrup. Der kunne konstateres vækst af både alger, laver og mos efter 6 mdr.'s eksponering. Det kan anbefales, at test af mekaniske rensmetoder afsluttes med en felteksponering.

12 Referencer

1. ASTM Subcommittee: G03.04: G29-96 Standard Practice for Determining Algal Resistance of Plastic Films
2. ASTM Subcommittee: D01.28: D5589-97 Standard Test Method for Determining the Resistance of Paint Films and Related Coatings to Algal Defacement
3. ASTM Subcommittee: D01.47: D5703-95 Standard Practice for Preparatory Surface Cleaning for Clay Brick Masonry
4. ASTM Subcommittee: D01.47: D5107-90(1997) Standard Practice for Preparatory Surface Cleaning of Architectural Sandstone
5. ASTM Subcommittee: D01.28: D3274-95 Standard Test Method for Evaluating Degree of Surface Disfigurement of Paint Films by Microbial (Fungal or Algal) Growth or Soil and Dirt Accumulation
6. SS 345: 1990 Algae resistant emulsion paint for decorative purposes. Amendment No. 1, April 1999
7. C. Grant & A.F. Bravery: A New Method for Assessing the Resistance of Stone to Algal Disfigurement and the Efficacy of Chemical Inhibitors
8. C. Grant & A.F. Bravery: Laboratory Evaluation of Algicidal Biocides for use on Constructional Materials. 1. An assesment of some current test methods. *Int. Biodeterioration Bull.* ISSN 0020-6164 17(4) Winter 1981
9. IBRG/P98/03 International Biodeterioration Research Group Paints Working Group, Algicidal Paints Project. A Method for Evaluating Algicidal Compounds in Exterior Coatings, feb. 1998
10. Dissing, H. et al.: Introduktion til svampe, 1992 189 pp. Nucleus København
11. Nielsen, H.: Introduktion til alger og bakterier, 1981: 190 pp. Nucleus København
12. Skytte Christiansen, M.: *Flora i Farver 2*, 1978: 259 pp. Politikens forlag, København
13. Teknologisk Institut's egne kundesagsmapper
14. Miljøstyrelsens offentligt tilgængelige sagsinformationer

Oversigt over testmetoder

Oversigt over metoder til test af kemiske midlers effekt til bekæmpelse eller forebyggelse af biologisk vækst på murværk, tegltagsten og beton samt andre materialer

1.1 Baggrund

I kapitel 8-11 er der gjort rede for, hvilke prøvninger, der er udført i projektet. I dette bilag gennemgås en række skitser til prøvninger, som er baseret på viden hentet i litteraturen, i Miljøstyrelsens arkiv samt i Teknologisk Instituts eget arkiv. Prøvningsbeskrivelserne er ikke fyldestgørende, da informationerne i det bagvedliggende materiale har været sparsomme. Metodebeskrivelserne kan derfor ikke uden videre anvendes til prøvning, men er tænkt som et samlet idegrundlag til videre arbejde med udvikling af metoder, dokumentation af effektiviteten af midler og metoder til forebyggelse og bekæmpelse af bevoksninger på bygningsoverflader og andre udendørs eksponerede steder, hvor bevoksninger er uønskede.

De enkelte beskrivelser er forsøgt opbygget over en fællesramme med information om følgende:

- Titel (kilde)
- Formål
- Materialer
- Metode
- Resultatopgørelse
- Bemærkninger

1.2 Test med alger

I dette afsnit beskrives forskellige prøvninger, som kan udføres med alger. Med undtagelse af én prøvning, se 14.2.10, som udføres i drivhus, er alle prøvninger udført i laboratorium med monokultur eller blandingskultur af grønalger. Prøvningerne udføres oftest ved dyrkning af alger direkte på et fast substrat, som kan være agar, eller på et naturligt medium, som f.eks. stenmaterialer.

1.2.1 Streaked Plate technique (Drisko & Crilly, 1973 i Grant & Bravery, 1981)

Formål:

At evaluere biociders evne til at kontrollere algevækst på malingsfilm ved til sætning af biocid direkte til dyrkningsmedium.

Materialer:

- Uorganisk medium med calciumkarbonat
- Calciumkarbonat

- Benzalconiumclorid = BAC
- 9 cm Petri skåle
- Kulturer af algerne *Stichococcus sp.* og *Ankistrodesmus braunii*

Metode:

- BAC opløses i sterilt, deioniseret vand
- Frisk autoklaveret medium tilsættes 100, 10, 5 og 1 mikrogram aktiv stof pr. ml. medium
- Kontrolplader tilsættes sterilt vand
- Pladerne henstår i flere dage til tør overflade
- Plader inokuleres med en streg algeinokulum fra aktive kulturer på skråagar
- Replika: 2
- Inkuberes ved 25°C i ensartet lys ved 2,5 klux

Resultatopgørelse:

Plader evalueres med jævne mellemrum.

Allerede efter 1 dag er der synlig effekt efter 6 dage er effekten stabil.

Bemærkninger:

- *Stichococcus* var mere sensitiv end *Ankistrodesmus*.
- Metoden er anvendelig til screening men ikke til fastsættelse af koncentration / mængde for praktisk anvendelse.
- Tilsætning af calciumcarbonat til mediet giver en hvid baggrund, som gør vurderingen lettere, og det giver et alkalisk substrat, som forhindrer skimmelvækst og simulerer et naturligt alkalisk medium.

1.2.2 Agarimprægnering (Teknologisk Institut, 1990)

Formål:

Testen demonstrerer den direkte væksthæmmende og algedræbende virkning på en kultur under optimale vækstbetingelser.

Materialer:

- Petri skåle 9 cm diam.
- BS-agar
- Algeblandingskultur
Stichococcus bacillaris K-0150
Trebouxia sp. K-0161
Desmococcus viridis K-0092

Metode:

- Petriskåle fyldes med 25 ml BS agar
- Når pladerne er stivnet tilsættes middel i dosis svarende til 0,5 l/m²
- Skålene henstår 7 døgn med låg på
- Overfladen podes med 0,5 ml af en voksende væskekultur
- Vækstens karakter bestemmes efter endt inkubation
- Inkuberes ved 20°C under hvidt lys
- Inkubationstid = 24 døgn

Resultatopgørelse:

Resultatet angives som størrelsen af hæmningszonen i mm/ karakter for de 5 gentagelser, efterfulgt af gennemsnit +/- standardafvigelse.

Vurderingsskala:

0 = Ingen vækst, algerne er affarvet

1 = Ingen vækst, algerne er fortsat grønne

2 = Spor af vækst, 0-10% af overfladen er dækket

3 = Svag vækst, 10-30% af overfladen er dækket

4 = Nogen vækst, 30-70% af overfladen er dækket

5 = Kraftig vækst, over 70% af overfladen er dækket

Middel	Fortyndin g	1	2	3	4	5	Gn.sn.

Bemærkninger:

Resultatet kan bruges som en indikation af virkningen af et produkt, hvis formål er at fjerne en algeforekomst. Midlet bør da være algedræbende og affarvende.

1.2.3 "Algal lawn technique" (Wright, 1975 i Grant & Bravery, 1981)

Formål:

At undersøge hæmning/drab af vækst på agarplade forårsaget af filterpapir med testprodukt, som placeres på agarfladen med algevækst.

Materialer:

Petri skåle 9 cm diam.

Whatman filterpapir

BAC= benzalconiumklorid

Algekultur

Metode:

- A: algesuspension podes på fast medium eller
- B: 19 ml autoklaveret og afkølet middel (42°C) tilsættes 1 ml algekultur, mixes og hældes op i 9 cm Petri skåle
- Plader inkuberes i 7 dage i lys
- BAC absorberes på 6 mm Whatman filterpapir og placeres i centrum af pladerne - 10.000, 500, 100 mikrogram aktivstof pr.filter
- Inkuberes ved 25°C i ensartet lys ved 2,5 klux i 25 dage

Resultatopgørelse:

Hæmningszone måles med jævne mellemrum

B. lykkedes ikke.

A. med algen *Ankistrodesmus braunii* gav flot vækst, og væksthæmning kunne aflæses og udtrykkes i tabelform eller som kurve.

Bemærkninger:

Forskellige biocider har forskellig diffusionsegenskaber hvilket gør, at metoden ikke er særlig god til sammenligning af forskellige produkter, og resultatet indikerer ikke nødvendigvis hvilken koncentration, der vil virke i praksis.

1.2.4 Screening-test (Teknologisk Institut, 1981)

Formål:

At foretage en screening af aktivstoffer eller færdige midler til forebyggelse eller bekæmpelse af algevækst ved at undersøge hæmning/drab af vækst på agarplade forårsaget af filterpapir med testprodukt, som placeres på agaren med algevækst.

Materialer:

- Grønalg: *Stichococcus bacillaris*
- Petriskåle 9 cm diam.
- Algemedium: Omeliansky's medium i 1/3 styrke

$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	1,0 g
K_2HPO_4	1,0 g
$\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$	0,5 g
NaCl	sporstof
CaCO_3	2,0 g
Dest. Vand	3000,0 ml

Metode:

- Mediet fyldes i Petriskåle og algekulturen spredes på mediet
- Det middel, man ønsker at teste, påføres filterpapir i de ønskede koncentrationer. Endvidere anvendes et referencemiddel med kendt effekt samt en uimprægneret kontrol. Filterpapirerne skal tørre inden de lægges på pladerne. I hver skål lægges et stykke imprægneret og et stykke uimprægneret kontrolpapir
- Kulturerne inkuberes ved stuetemperatur, ca. 20°C i dagslys i ca. 3 uger

Resultatopgørelse:

Effekten af midlet aflæses ved registrering af hæmningen af algevæksten på pladerne og fotoregistrering.

1.2.5 Filterpapir-imprægnering (Teknologisk Institut, 1990)

Formål:

At demonstrere langtidseffekten af et middel overfor en aktivt voksende algekultur i flydende stillekultur.

Materialer:

- Groft filterpapir diam. 20 mm
- Imprægneringsmiddel
- Algeblandingskultur
 - Stichococcus bacillaris* K-0150
 - Trebouxia* sp. K-0161
 - Desmococcus viridis* K-0092
- BS flydende medie

Metode:

- Cirkelskiver af grovt filterpapir nedsænkes 10 minutter i imprægneringsvæske
- Skiverne anbringes i stinkskab til opløsningsvæsken er dampet af
- Skiverne overføres til voksende væskeskulturer i Petriskåle

- Inkuberes ved 20°C under hvidt lys
- Inkubationstid = 16 døgn
- Hæmningszonens størrelse og karakter bestemmes efter endt inkubation.

Resultatopgørelse:

Resultatet angives som størrelsen af hæmningszonen i mm/ karakter for de 5 gentagelser, efterfulgt af gennemsnit +/- standardafvigelse.

Vurderingsskala:

- 0 = Ingen vækst, algerne er affarvet
- 1 = Ingen vækst, algerne er fortsat grønne
- 2 = Svag vækst
- 3 = Moderat vækst
- 4 = Kraftig vækst

Middel	Fortynding	1	2	3	4	5	Gn.sn.

Bemærkninger:

Testen demonstrerer midlets langtidseffekt efter påføring. Resultatet kan bruges som en indikation af virkningen af et produkt, hvis formål er at imprægnere en overflade mod algevækst. Produktet bør da være et algicid, der er modstandsdygtigt over for afdampning, udvaskning, varme, UV-lys og biologisk aktivitet.

1.2.6 Algetest – Overfladebehandling (Teknologisk Institut 1990)

Formål:

At teste et middel til forebyggelse af algevækst.

Materialer:

- Glasplader
- Testmiddel
- BS-flydende medium
- Algeblandingskultur
Stichococcus bacillaris K-0150
Trebouxia sp. K-0161
Desmococcus viridis K-0092

Metode:

- Glasplader tilføres midlet i dosis svarende til 0,5 l/m²
- Glassene anbringes i stinkskaab til opløsningsvæsken er dampet af
- Overfladen podes med alger fra en voksende væskekultur
- Algerne holdes opfugtet under inkubation
- Vækstens karakter bestemmes efter endt inkubation
- Inkuberes ved 20°C under hvidt lys
- Inkubationstid = 24 døgn

Resultatopgørelse:

Middel	Fortynding	1	2	3	4	5

Vurderingsskala:

0 = Ingen vækst, algerne er affarvet

1 = Ingen vækst, algerne er fortsat grønne

2 = Spor af vækst, 0-10% af overfladen er dækket

3 = Svag vækst, 10-30% af overfladen er dækket

4 = Nogen vækst, 30-70% af overfladen er dækket

5 = Kraftig vækst, over 70% af overfladen er dækket

1.2.7 Liquid culture toxicity test (Grant & Bravery, 1981)

Formål:

At måle effekten af biocider i flydende algekultur ved spektrofotometri

Materialer:

- 150 x 18 mm Pyrex testrør
- 8 ml Knop's opløsning
- Rør lukkes med aluminiumslåg og autoklaveres ved 1,03 bar (121°C) i 20 min
- BAC i vand, 1 ml tilsættes, så der opnås 50, 10, 5 og 1 mikrogram pr. testrør
- Testalger: *Ankistrodesmus braunii* og *Selenastrum capricornutum*

Metode:

- 1 ml algesuspension tilsættes fra aktiv celledensitet, så der opnås en startdensitet på 1×10^5 og 1×10^6 celler pr. ml kulturopløsning
- Gennemsnits absorbans måles ved start
- Replika: 5
- Inkuberes i 7 dage ved 25°C ved 4,5 klux

Resultatopgørelse:

Effekten af biocid måles ved måling af absorbans i spektrofotometer ved bølgelængden 441 nm.

Tab i absorbans indikerer tab af grøn pigment eller ødelæggelse af celler.

Bemærkninger:

Metoden har visse fordele i forhold til test på fast substrat f.eks. problemer med vandopløselige produkter. Algerne kan lide det våde medium. Metoden tillader sammenligning af forskellige biociders effekt, dog kan det være vanskeligt med emulgerede midler. Mangel på interaktion til substratet er en ulempe. Extrapolering til arbejdskoncentration for praktisk anvendelse er vanskelig.

1.2.8 "Vermiculite-bed technique" (Grant & Bravery, 1981)

Formål:

At simulere konstruktionsmaterialer, hvor effekten af biocid måles under kontrollerede forhold og at måle biocid effekt på en måde, hvor samspillet mellem substrat, organisme og biocid sikres.

Materialer:

- Dyrkningsbeholdere: transparent plastic 220 x 110 x 80 med tætsluttende låg
- 100 g lufttørret vermiculit ca. 25 mm dybde
- Deioniseret vand
- Sten

Metode:A. Natursten

- Vermiculit opfugtes til 400% op til 450%
- Vand kan tilsættes undervejs for at sikre fugtigheden
- Blokke af natursten 80 x 30 x 10 mm: sandsten og limsten
- Blokkene lægges på vermiculit, indstiller sig i ligevægt på 3 dage
- Blokkene sprayes med Knobs opløsning med algesuspension
- Inkuberes ved 25°C og 2,5 klux i 4 uger
- BAC i 10.000, 5.000 og 2.500 mikrogram a.i. pr ml i deioniseret vand tilsættes med blød børste til oversiden svarende til en dækning på 200 ml pr.m²
- Kontrol: deioniseret vand
- Behandlede blokke inkuberes som før
- Algevækst registreres efter 1 uge og herefter jævnlige med 4 ugers mellemrum
- Frisk inokulum sprayes sprøjtes på for at udfordre biocidet yderligere og tillade vurdering af resteffekt.

B. Mørtel

- 95 x 30 x 10 mørtelbrikker produceres og neutraliseres i kuldioxid og efterfølgende udvaskning.
- Samme procedure som beskrevet i test A.

Resultatopgørelse:

- A. Rekolonisering indtraf specielt efter reinokulering
- B. 4 dage efter påføring af biocid ses effekten
- C. Rekolonisering sker uden reinokulering dog ikke som kontrol

Bemærkninger:

Metoden anses for at være den bedste til at omsætte til praksis. Udvasning og gentagen biocid behandling er mulig.

1.2.9 Metode til evaluering af stenmaterialers modstand mod algebevoksning og evaluering af kemiske inhibitorer (Grant & Bravery, 1981)**Materialer:**

- Blandet algekultur:
 - Gloeocapsa alpicola*
 - Nostoc commune*
 - Pleurococcus sp*
 - Stichococcus bacillaris*
 - Trentepohlia aurea*
- Natur sten 80 x 30 x 10 mm
- Mørtel 95 x 30 x 10 mm
- Asbest cement 60 x 80 x 6 mm

- Transparente polystyrenbokse 220 x 110 x 80 mm
- 100 g vermiculit opfugtet til 400%

Metode:

- Inoculum pensles på over hele fladen
- Inokulerede prøver inkuberes ved 18°C ved 2,5 klux i 16/8 timer dag/nat eksponering
- Inkuberingstid: 4-6 uger
- Testemner behandles med biocid, når de er helt overgroede med alger. Midlet påføres med blød børste
- Replika: 3
- Kontrol behandles med demineraliseret vand

Resultatopgørelse:

Inkuberes i 12 uger efter behandling med biocid

Efter 4 uger og 8 uger reinokuleres testemnerne med algesuspension.

Vurderingsskala:

- 0 = ingen vækst
- 1 = spor af vækst
- 2 = 1-10% dækning
- 3 = 10-30% dækning
- 4 = 30-70% dækning
- 5 = mere end 70% dækning

Suppleres med mikroskopi.

Kan viabilitet testes ved rød autofluorescens fra klorofyl.

Bemærkninger:

Metoden indikerer relativ følsomhed af forskellige materialer overfor algevækst og er derfor god til sammenlignende test af inhibitorer/biocider på forskellige substrater og relativt til hinanden og til givne reference standarder. Det skønnes at være en relativ hård test. Forsøg viser, at biocider bør testes på det relevante medium og ikke overfor kunstige medier, idet resultaterne varierer afh. af substrat.

1.2.10 Alge-test i uopvarmet drivhus (Miljøstyrelsen)

Formål:

At bestemme den phytotoxiske effekt af en række koncentrationer af salte af fede syrer på alger dyrket direkte på "containere" i uopvarmet drivhus.

Materialer:

- Testemne: "Containere" til gartneri
- Alger: *Klebsormidium subtilissimum*, *Chlorococcum sp* og *Phoridium sp*
- Testmiddel
- Medium: Bristols Sodium Nitrate opløsning kaldet BSNS
- Uopvarmet drivhus

Metode:

- Containerne skal være kraftigt angrebet af algerne
- Containere angrebet af alger dyppes i testmiddel i 10 sekunder.
- Replika: 3 parallelle emner

- Emnerne tørres over en nat
- Emnerne kultiveres i BSNS
- Inkuberes i drivhus
- Observationer gøres ugentlig i 4 uger
- Replika: 3 parallelle testemner + 1 kontrol dyppet i vand + 1 kontrolemne dyppet i vand indstillet til samme pH som midlet for at bestemme om det er pH alene, eller om det er fede syrer, der virker

Resultatopgørelse:

Algedrab medfører brunfarvning af testemner

Algevækst hæmmet men ikke dræbt medfører, at testemner bliver vedvarende grønne.

Vurderingsskala:

- ++ vækst bedre end kontrol
- + lige som kontrol
- mindre end kontrol
- 0 algedrab

Bemærkninger:

Alle vand og pH kontroller blev flot grønne efter 2 døgn i BSNS.

1.2.11 Algetest (*Chlamydomonas sp.*) i laboratorium (Miljøstyrelsen)**Formål:**

At teste effekten af et biocid overfor algen *Chlamydomonas sp.* i flydende medium i laboratorium.

Materialer:

- Kultur: Algen *Chlamydomonas sp.* isoleret fra styroblok plante containere
- Medie: Soil Algae Agar (Poindexter 1571) og Medie IV (Proctor, 1957)
- Sterilt vand
- Testmiddel
- Buffer: 0,5 M KH_2PO_4 i 32,4 ml 0,5M Na_2HPO_4 for hver liter til pH 8,2
- Neubauer, Levy ultraplane haematocytometer grid size 1/400 sq.mm x 1/10 mm dyb

Metoder:

- Algen udplades ved "streak plating" teknik
- Herfra inokuleres flasker med 48 ml medie IV (Proctor, 1957) og 1 ml fedtsyre
- 1 cm^2 algekultur skrubes af pladen og rystes i 200 ml sterilt, destilleret vand
- 1 ml af denne algesuspension pipetteres ned i flasken, som får et totalvolumen på 50 ml
- Kontrol: flasker påføres 49 ml Medie IV + 1 ml inokulum
- Medium og salt i flasker autoklaveres ved 250°F og 20 psi i 20 min.
- Flaskerne stilles til afkøling
- Algekultur må først tilsættes, når mediet er i ligevægt med rumtemperatur
- Kulturer inkuberes i dyrkningsrum 1 uge ved 22°C og 1500 lux i 18/6 dag-nat cyclus
- Buffer: 0,5 M KH_2PO_4 i 32,4 ml 0,5M Na_2HPO_4 for hver liter

Resultatopgørelse:

Antal celler pr. l bestemmes ved hjælp af Neubauer, Levy ultraplane haematocytometer grid size 1/400 sq.mm x 1/10 mm dyb, 10 grids samles pr. flaske.

1.3 Test med levermos

Levermos er en primitiv gruppe af mosser, som udgør et særligt stort problem i gartnerierne, især når det gælder potteplanter i drivhus. Levermos

kan hæmme udviklingen af planterne. Vi har ikke konstateret forekomst af levermos på tage og facader. Miljøet her vil være for tørt. Levermos foretrækker et konstant fugtigt miljø. Imidlertid anvendes de kemiske rensmidler også til rensning af drivhuse og prøvninger med levermos har været forelagt som dokumentation for effektiviteten af et givet middel. Der beskrives to prøvninger med levermosset *Marchantia polymorpha*, den ene udføres i laboratorium og den anden i drivhus. Gemmae er levermossets formeringsorganer.

1.3.1 Levermos test i laboratorium (Miljøstyrelsen)

Formål:

At teste effekten af et biocid overfor levermos (*Marchantia polymorpha*)

Materialer:

- Gemmae fra levermos *Marchantia polymorpha*

Metode:

- *Marchantia polymorpha* gror som ukrudt i drivhuspotter, gemmae indsamles
- Gemmae overfladesteriliseres i 1:50 klorin i vand i 10 minutter, renses i sterilt destilleret vand og placeres aseptisk i midten af Petriskål med soil algae agar
- Kulturerne inkuberes i 30 dage ved 22°C og 1500 lux ved 18/6 dag/nat cyclus
- Replica: 4
- Fede syrer påføres med "asperating" sprayer i stinkskab
- Inkuberes igen på samme måde

Resultatopgørelse:

Vækst og farve vurderes efter 24 timer, 48 timer, 4 dage og 7 dage. Endelig resultatopgørelse efter 7 dage.

1.3.2 Levermos test i drivhus (Miljøstyrelsen)

Formål:

At teste effekten af et biocid overfor levermosser dyrket i uopvarmet drivhus.

Materialer:

- 400 stk 2" potter
- UC-mix
- Gemmae fra levermos *Marchantia polymorpha*
- NPK gødning 20-20-20
- Testmiddel: fede syrer
- Uopvarmet drivhus

Metode:

- 400 stk 2" potter fyldes med UC mix og placeres i uopvarmet drivhus
- Gemmae indsamles fra levermos, blandes med hanevand og vandes på potterne
- Gødes 1 gang ugentlig med NPK 20-20-20 0,5 g/l
- Dyrkningstid: 8 uger

- Sæt af 4 potter behandles med hver sin fede syre ved hjælp af en håndsprøjte til det drypper fra potten
- Kcontrolsæt behandles med vand
- Kcontrolsæt behandles med vand, der er indstillet til samme pH som testmidlerne
- Potterne stilles (inkuberes) som før og vurderes efter 24 timer, 48 timer og 1 uge

Resultatopgørelse:

Resultatet angives i procent mortalitet efter dækning af potte i forhold til, at kontrolpotter bør være 100% dækket af mos.

1.4 Test med mos

Mosser findes både i drivhuse og på tage og facader. I nogen tilfælde er der tale om store løst tilhæftede mosser, som kan fjernes manuelt. I andre tilfælde vokser mos som små lave tuer i mørtelfuger, hvor det kan være mere vanskeligt at fjerne dem manuelt. Vi har ingen solid dokumentation for, at midler, der anvendes til alger, også virker på mosser. Der kan således være god begrundelse for at udvikle prøvningsmetoder, hvor mosser anvendes som testorganisme. To prøvningsmetoder er beskrevet. Den ene udføres i uopvarmet drivhus den anden i vækstkammer ved konstant temperatur og kunstigt lys.

1.4.1 Mos-test i drivhus (*Bryum capillare* Hedw.) (Miljøstyrelsen)

Formål:

At teste et biocids effekt på *Bryum capillare* Hedw. Dyrket i drivhus.

Materialer:

- 400 stk 2" potter
- UC-mix
- *Bryum capillare*
- NPK gødning 20-20-20
- Uopvarmet drivhus

Metoder:

- Arealer af sammenhængende *Bryum*-mos skræbes i store måtter fra et asfalt gulv
- 400 stk 2" potter fyldes med UC mix og placeres i uopvarmet drivhus
- Mosset klippes og skæres i 2" x 2" firkanter og vandes ned i potterne.
- Mosset vandes dagligt i 1 uge, gødes 1 gang med NPK 20-20-20 0,5 g/l
- Sæt af 4 potter behandles med hver sin fede syre ved hjælp af en håndsprøjte, til det drypper fra potten
- Mosset behandles med testmidlet
- Kcontrolsæt behandles med vand
- Kcontrolsæt behandles med vand, der er indstillet til samme pH som testmidlerne
- Potterne stilles (inkuberes) som før og vurderes efter 24, 48, timer og 1 uge

Resultatopgørelse:

Resultatet angives i procent mortalitet efter dækning af potte i forhold til, at kontrolpotter bør være 100% dækket af mos.

1.4.2 Mos-test (*Leptobryum pyriforme*) i væstkammer (Miljøstyrelsen)

Formål:

At teste effekten af et biocid overfor mos (*Leptobryum pyriforme*) dyrket i væstkammer

Materialer:

- 400 stk plastikskåle
- "soil algae agar" af typen Poindexter
- Kultur af *Leptobryum pyriforme*
- Vækstkammer

Metode:

- Skålene fyldes med "soil algae" agar og inokuleres med mos
- Skålene eksponeres ved 22°C og 1.500 lux 18/6 dag/nat cyclus
- Inkuberes i ca. 4 uger, hvorefter kulturerne er udvoksede
- Testmiddel påsprøjtes med håndsprøjte i stinkskab
- 4 parallelle
- Kontrol behandlet med rent vand
- Kontrol behandlet med vand indstillet til samme pH som testmidlet
- Skåle inkuberes og vurderes efter 24, 48 timer, 4 dage og 1 uge

Resultatopgørelse:

Resultatet angives efter 1 uge (senere end for levermos)

Bemærkninger:

Tegn på hæmning ses allerede efter 48 timer, men hæmningen var først målbar efter 4 dage. Mosset bliver lysegrønt og brunt ved drab. Der sås ingen effekt på kontrol.

Testmetode

Testmetode for bestemmelse af den bekæmpende/beskyttende effekt af midler mod biologisk vækst – grønalger.

2.1 Forord

Dette udkast til standard for laboratorieprøvning af midler, produkter og materialer overfor vækst af grønalger er udarbejdet af Teknologisk Institut Bioteknik som et delresultat af et projektsamarbejde mellem Dansk Teknologisk Institut Murværk, Beton og Bioteknik. Projektets titel var: "Renere teknologi til undgåelse af biologisk vækst på murværk, tegl- og betontage".

2.2 Introduktion

Denne standard beskriver en laboratoriemetode til prøvning, som giver mulighed for at vurdere effektiviteten af et middel/produkt til forebyggelse eller bekæmpelse af grønalger på udendørs eksponerede materialer. Ved anvendelse af denne metode er det muligt at bestemme f.eks. den koncentration og mængde af middel/produkt, der har den bedste beskyttende eller bekæmpende effekt. Endvidere anvendes metoden til test af materialers modstandsdygtighed overfor angreb af grønalger.

Denne laboratoriemetode giver et kriterium efter hvilket et givet middel/produkt/materiale kan vurderes. Det anbefales, at denne information suppleres med data fra andre relevante prøvninger og med erfaringer fra praksis.

Proceduren beskrevet i denne standard bør udføres på et laboratorium med veltrænet personale. Almindelige sikkerhedsforanstaltninger skal overholdes. Enhver afvigelse fra denne standard kan influere på resultatet, så derfor er det vigtigt at overholde standardens procedurer.

For at sikre kvaliteten af det biologiske testmateriale, bør dette regelmæssigt testes med et referencemiddel.

2.3 Formål

Denne standard indeholder en generel del og tre specifikke dele, som tilsammen beskriver metoder til at bestemme midlers/materialers/produkters evne til at bekæmpe/modstå/forebygge vækst af grønalger.

Specifikke dele:

Del A: Midler til rensning eller bekæmpelse

Test af effekten af et bekæmpelsesmiddel eller rensningsmiddel, der påføres ved overfladebehandling, til bekæmpelse eller afrensning af algevækst.

Bestemmelse af giftværdier.

Del B: Produkter til overfladebehandling

Test af et produkts (imprægneringsmiddel/maling eller lign.) evne til at beskytte et materiale mod algevækst.

Del C: Materialer

Test af et materiales modstandsdygtighed overfor algevækst.

2.4 Normative referencer

I teksten refereres direkte til andre standarder, hvor dette er relevant.

ISO 3696: 1987 Water for analytical laboratory use

– Specification and test methods.

2.5 Repræsentativ prøve af middel/materiale/produkt

En prøve, hvis fysiske og/eller kemiske karakteristisk er identisk med en gennemsnitlig karakteristisk af hele voluminet.

2.6 Leverandør

Oftest den som rekvirerer testen.

2.7 Princip

Del A: Midler til rensning eller bekæmpelse

Behandling af en serie vel definerede prøveemner med et eller flere produkter i en eller flere koncentrationer. Eksponering af behandlede prøveemner for renkultur af alger under kontrollerede forhold med henblik på at fastlægge "toxic value" eller effektiv dosis.

Del B: Produkter til overfladebehandling

Behandling af en serie vel definerede prøveemner med et eller flere produkter til overfladebehandling. Eksponering af behandlede prøveemner for renkultur af alger under kontrollerede forhold med henblik på at fastlægge produktets (produkternes) evne til at beskytte et materiale mod algevækst.

Del C: Materialer

Tildannelse af en serie vel definerede prøveemner og referenceemner. Eksponering af prøveemner for renkultur af alger under kontrollerede forhold med henblik på at fastlægge modstandsdygtighed overfor algevækst.

2.8 Testmateriale og apparatur

2.8.1 Biologisk materiale

Grønalg af arten:

Stichococcus bacillaris Nägeli 1849 s.l.

Kultur 379/1A

fra: UKNCC
Culture collections of Algae and Protozoa (Freshwater)
Institute of Freshwater Ecology
The Ferry House, Far Sawrey,
Ambleside, Cumbria LA22 0LP
Tel: +44 15394 42468
Fax: +44 15394 46914

2.8.2 Midler og aktiv stoffer, produkter eller materiale

Del A: Midler til rensning eller bekæmpelse

Rekvirenten leverer det færdige middel eller et koncentrat heraf eller en opskrift til fremstilling af midlet.

Midlet kan f.eks indeholde:

- kvarternære ammoniumforbindelser
- hypochlorit
- organiske fedtsyrer og sæber (salte af organiske fedtsyrer)
- uorganiske eller organiske syrer
- uorganiske baser

Del B: Produkter til overfladebehandling

Rekvirenten leverer et produkt til overfladebehandling af konstruktioner eller materialer udsat for sollys og fugt. Rekvirenten definerer, hvilket underlag produktet skal påføres.

Del C: Materialer

Rekvirenten leverer et eller flere testmaterialer, som kan være et hvilket som helst byggemateriale eller andet materiale, der i brugsfasen eksponeres for sollys og fugt.

2.8.3 Dyrkningsmedium

Bold Solution modified basal freshwater nutrient solution (BS) 50x konc. Fra SIGMA Chemical CC opbevares ved 2-8 grader og anvendes i en koncentration på 20ml/l. Et tilsvarende medium Bold Solution kaldet BS, som indeholder jordekstrakt og vigtige næringsalte, kan laves som følger:

30-100 ml autoklaveret jordekstrakt

250 mg NaNO_3

25 mg $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$

75 mg $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$

175 mg KH_2PO_4

25 mg NaCl

1 korn $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$

til 1000 ml demineraliseret vand.

2.8.4 Fortyndingsmiddel til test af midler og produkter

For vandopløselige midler: Vand svarende til grad 3 iht. ISO 3696
Eller det af rekvirenten anbefalede fortyndingsmiddel.

2.8.5 Konditioneringskammer

Konditionering af prøveemner sker i dyrkningskammer med mindre andet er aftalt med rekvirenten.

2.8.6 Dyrkningskammer

Dyrkningskammeret skal være rent og forsynet med temperaturstyring. Rummet forsynes med hvidt lys på lyspaneler. Temperatur 20°C. Lysintensitet ca. 1,5 klux måles med luxmeter af typen Testo 545 eller tilsvarende.

2.8.7 Remedier til eventuel behandling

Metode til påføring af middel/produkt aftales med rekvirent. Ved dypning anvendes glasbeholdere. Middel/produkt kan også påføres med pensel eller ved sprøjtning.

2.8.8 Vægt

Til evt. differensvejning ved overfladebehandling eller imprægnering af testemner anvendes en almindelig laboratorievægt.

2.8.9 Sikkerhedsudstyr

Stinkskab ved behandling
Evt. handsker og andet udstyr, hvis påkrævet iht. midlets eller produktets sikkerhedsdata.
Sterilbænk ved podning

2.8.10 Dyrkningsbeholdere

Klare plastbokse 30 x 22 x 7 cm med låg
Petriskåle 9 cm diam.

2.8.11 Steriliseringsudstyr

Laboratoriesprit 70%
Autoklave

Ordinært laboratorieudstyr
Kolber
Petriskåle

2.8.12 Prøve af middel/produkt/materiale

Midlet eller produktet, der skal testes, kan være et afrensningsmiddel, et imprægneringsmiddel eller en maling, der skal testes på et underlag, der bedst muligt simulerer praksis. Prøve af middel/produkt skal være repræsentativ for det, der skal testes. Prøven skal opbevares og håndteres iht. enhver anbefaling fra producenten. Det kan anbefales at foretage en kemisk analyse af midlets/produktets indholdsstoffer/aktivstoffer for dokumentation.

Rekvirenten leverer det færdige middel/produkt, et koncentrat heraf eller en opskrift til fremstilling af det.

Endvidere skal datablad udleveres.

I tilfælde af, at et egentligt byggemateriale eller andet materiale ønskes testet skal relevant produktspecifikation oplyses.

2.8.13 Testemner

Det materiale, som middel (test A) eller produkt (test B) skal testes på, bør være sådan, at samspillet mellem alge, middel/produkt og materiale er så praksisnært som muligt. Samtidig skal materialet være let at skaffe og tilданne, og det skal være plant og homogent.

Testemnerne bør være af et materiale, der kan udskæres i ensartede prøvestørrelser og behandles ensartet med testmidlet. Prøvningsorganismene skal kunne vokse på materialet. Det er vigtigt, at pladematerialet har en jævn ensartet overflade.

Forslag: Vejrbestandig cellulosefiberarmeret kalciumsilikat plade af typen Kalciumsilikatplade. Testemnet kan også være selve byggematerialet. Det er da vigtigt, at algerne kan gro på materialet og kan registreres visuelt. F.eks. teglsten, fliser, sandsten, marmor, træ, malede overflader mm.

Resultatopgørelse ved visuel vurdering er lettere, hvis testmaterialet er jævnt, tæt og lyst farvet. Alternativt kan resultatopgørelse ske ved brug af Rodac-plader med BS-agar.

Ved test af materialers (test C) modstandsdygtighed over for algevækst kan alle materialer testes. I alle tilfælde bør medtages et neutralt reference plademateriale.

Kvaliteten af referencepladematerialet skal beskrives mht. relevante parametre: pH, vandoptagelse og densitet.

Kalciumsilikatpladen har en vandoptagelse på 33 rum% eller 20% v/v. pH er målt til 11,1 og densiteten er 1609 kg/m³.

Kvaliteten af testmaterialer i øvrigt skal beskrives.

Pladematerialet udskæres til prøveemner af størrelsen 100 x 100 x ca. 6 mm. Hvis anden størrelse ønskes skal dette beskrives.

2.8.14 Antal og fordeling af prøveemner

Replica: minimum 3

Emnerne placeres altid med 3 behandlede testemner og 3 ubehandlede kontroleemner i samme boks. I tilfælde af, at testemnet er selve byggematerialet anvendes 3 testemner og 3 referencepladeemner i samme boks.

Behandlede prøveemner – Test A og C.

For hvert middel/produkt anvendes:

3 behandlede emner (minimum) for hver variation (koncentration eller andet), for hver testorganisme (hvis der er flere) og for hvert materiale (hvis der er flere).

Desuden anvendes:

3 emner med et relevant referencemiddel/ -produkt i anbefalet koncentration for hver testorganisme og plademateriale. Som referenceprodukt foreslås: 10% benzalkoniumklorid.

Ubehandlede prøveemner:

For kemiske midler og produkter (Test A og B) anvendes for hver testorganisme og plademateriale:

3 emner behandlet med fortyndingsmiddel hvis fortyndingsmidlet ikke er vand

3 emner behandlet med vand

3 emner behandlet med pH-indstillet vand svarende til midlets/produktets pH

For materialer (Test C) anvendes for hver testorganisme og materiale:

3 testemner for hver materialeparameter

2 referenceemner

2.9 Procedure Del A: Midler til rensning eller bekæmpelse

Behandling af en serie vel definerede prøveemner med en serie af et eller flere produkter i en eller flere koncentrationer. Eksponering af behandlede prøveemner for renkultur af alger under kontrollerede forhold med henblik på at fastlægge giftværdier.

2.9.1 Forberedelse af algekultur

BS-flydende medium 25 ml i 9 cm Petri-skåle inokuleres med flydende algekultur

1 ml per petriskål. Opformeringstid ca. 10 døgn.

2.9.2 Forberedelse af prøveemner

Emnerne konditioneres i 1 uge ved 20°C og 65% RH. Alle testmaterialer autoklaveres ved 120°C i 20 min, hvis de kan tåle det. Alternativt kan man anvende strålesterilisering ved 50 Kgy.

2.9.3 Klargøring af dyrkningsbokse

Klare plastbokse 30 x 22 x 7 cm med låg aftørres grundigt med laboratoriesprit. Tørres.

180 g vermiculit + 500 g demineraliseret vand autoklaveres ved 120°C i 20 min. Autoklaveret, opfugtet vermiculit overføres til plastboksene.

2.9.4 Konditionering af prøveemner

Emnerne konditioneres 1 uge ved 20°C og 100% RH.

2.9.5 Inokulering

Umiddelbart inden inokulering testes tætheden af algekulturen i tællekammer. Der skal være ca. $1,5 \times 10^6$ antal alger pr. ml væske. Evt. fortynding i BS opløsning.

En Petriskål med alger i BS hældes over i glas til inokulering, og væsken fortyndes med vand til ½ liter. Suspensionen bruges inden for 1 døgn.

Materialerne dyppes vandret i algesuspension i vand, så den ene side bliver inokuleret. Til hver ny testparameter anvendes en ny suspension.

Materialerne nedlægges horisontalt i plastkasser på vandmættet vermiculit med den inokulerede side opad.

2.9.6 Inkubering

Inkuberes i 4 uger. Der tilføres BS-opløsning 1 gang pr. uge ved sprøjtning med 6 ml. algesuspension i vand fremstillet som ovenfor i forholdet 2 ml algesuspension til 4 ml BS.

2.9.7 Dyrkningsbetingelser

Kasserne inkuberes ved 20°C og 1,5 klux med lys i 24 timer.

2.9.8 Behandling

Når testemnerne er massivt bevokset med grønalger foretages en behandling af materialet med rensimidlet/bekæmpelsesmidlet. Efter behandling lægges emnerne tilbage i kasserne.

2.9.9 Inkubering

Kasserne inkuberes ved 20°C og 1,5 klux med lys i 24 timer. Inkuberingstiden er minimum 5 dage.

1.1.1.1

2.9.10 Aflæsning eller videre behandling

Ønskes testen afsluttet her foretages opgørelse af resultater. Ønskes gen-eksponering af testemner, gå til 2.9.5 eller hele pkt. 2.9 kan gentages.

2.9.11 Opgørelse af resultater

Vækst/mortalitet registreres i stereolup eller ved Rodac-plader med fast BS-medium.

Før og efter behandling og efter inkubering vurderes emnerne iht. følgende skala:

0 = Ingen vækst

1 = Ringe vækst – 0-25% dækning eller 1-10 kolonier

2 = Moderat vækst – 26-50% dækning eller 11-50 kolonier

3 = Kraftig vækst – 51-75% dækning eller 50 – flere kolonier

4 = Massiv vækst – 76-100% dækning ikke muligt at tælle

Emnerne fotoregistreres før og efter behandling med algemiddel.

1.1.1.2

2.9.12 Vurdering af resultater

Resultaterne vurderes i forhold til hvordan væksten er på:

Ubehandlet viabilitets kontrol

Ubehandlet kontrol

Behandlede emner i forskellige koncentrationer

2.9.13 Tolkning af resultater

Forudsætningen for at midlet er effektivt er drab eller ingen vækst af alger.

2.9.14 Konklusion på resultater

Prøvningen er holdbar hvis:

- alle kontroleemner behandlet med vand og uden indflydelse fra egentlige testemner er massivt bevoksede (grad 3)
- alle kontroleemner eksponeret sammen med testemner er bevoksede til grad 2-3

Midlet er effektivt ved den koncentration og mængde, hvor alle testemner i en serie er karakteriseret som 0. Kun 1 emne må opnå karakteren 1 i prøvningsperioden.

2.10 Procedure Del B: Produkter til forebyggelse

Behandling af en serie vel definerede prøveemner med et eller flere produkter til overfladebehandling. Eksponering af behandlede prøveemner for renkultur af alger under kontrollerede forhold med henblik på at fastlægge produktets (produkternes) evne til at beskytte et materiale mod algevækst.

2.10.1 Forberedelse af algkultur

BS-flydende medium 25 ml i 9 cm Petri-skåle inokuleres med flydende algkultur 1 ml per petriskål. Der fremstilles 1 petriskål per testparameter. Opformeringsperiode ca. 10 døgn.

2.10.2 Forberedelse af prøveemner

Emnerne konditioneres i 1 uge ved 20°C og 65% RH. Alle testmaterialer autoklaveres ved 120°C i 20 min, eller strålesteriliseres ved 50 KGy.

2.10.3 Behandling

Emnerne behandles med produktet(erne) på en måde, som er aftalt med rekvirenten og i en mængde, der ligeledes er aftalt på forhånd. Påført produktmængde kan eventuelt registreres ved differensvejning.

Halvdelen af emnerne udsættes herefter for relevant ældning. Procedure fastlægges på baggrund af producentens angivelser af anvendelsesområde herunder materialetyper/konstruktionstyper, ønsket eller påstået ydeevne, langtidseffekt m.v.

Produktets effekt på relevante materialeparametre testes.

2.10.4 Klargøring af dyrkningsbokse

Klare plastbokse 30 x 22 x 7 cm med låg aftørres grundigt med laboratoriesprit. Tørres.

180 g vermiculit + 500 g demineraliseret vand autoklaveres ved 120°C i 20 min. Autoklaveret, opfugtet vermiculit overføres til plastboksene.

2.10.5 Konditionering af prøveemner

Emnerne konditioneres 1 uge ved 20°C og 100% RH.

2.10.6 Inokulering

Umiddelbart inden inokulering testes tætheden af algekulturen i tællekammer. Der skal være ca. $1,5 \times 10^6$ antal alger pr. ml væske. En Petriskål med alger i BS hældes over i glas til inokulering, og væsken fortyndes med vand til ½ liter. Materialerne dyppes vandret i algesuspension i vand. Materialerne nedlægges horisontalt i plastkasser på vandmættet vermiculit.

2.10.7 Inkubering

Inkuberes i 4 uger – tilføres BS-opløsning 1 x pr. uge ved sprøjtning med 6 ml. algesuspension i vand i forholdet 2 ml algesuspension til 4 ml BS.

2.10.8 Inkubering

Kasserne inkuberes ved 20°C og 1,5 klux med lys i 24 timer. Inkuberingstiden er minimum 10 dage.

2.10.9 Aflæsning eller videre behandling

Ønskes testen afsluttet her foretages opgørelse af resultater. Ønskes gen-eksponering af testemner, gå til 2.10.6 eller hele pkt. 2.10 kan gentages.

2.10.10 Opgørelse af resultater

Vækst/mortalitet registreres i stereolup eller ved Rodac-plader med fast BS-medium.

Før og efter behandling og efter inkubering vurderes emnerne iht. følgende skala:

0 = Ingen vækst

1 = Ring vækst – 0-25% dækning eller 1-10 kolonier

2 = Moderat vækst – 26-50% dækning eller 11-50 kolonier

3 = Kraftig vækst – 51-75% dækning eller 50 – flere kolonier

4 = Massiv vækst – 76-100% dækning ikke muligt at tælle

Emnerne fotoregistreres før og efter behandling med algemiddel.

2.10.11 Vurdering af resultater

Resultaterne vurderes i forhold til hvordan væksten er på:

Ubehandlet viabilitets kontrol

Ubehandlet kontrol

Behandlede emner i forskellige koncentrationer

2.10.12 Tolkning af resultater

Forudsætningen for at midlet er effektivt er drab eller ingen vækst af alger.

2.10.13 Konklusion på resultater

Prøvningen er holdbar hvis:

- alle kontroleemner behandlet med vand og uden indflydelse fra egentlige testemner er massivt bevoksede (grad 3)
- alle kontroleemner eksponeret sammen med testemner er bevoksede til grad 2-3

Midlet er effektivt ved den koncentration og mængde, hvor alle testemner i en serie er karakteriseret som 0. Kun 1 emne må opnå karakteren 1 i prøvningsperioden.

2.11 Procedure Del C: Materialer

Tildannelse af en serie vel definerede prøveemner og referenceemner. Eksponering af prøveemner for renkultur af alger under kontrollerede forhold med henblik på at fastlægge modstandsdygtighed overfor algevækst.

2.11.1 Forberedelse af algekultur

BS-flydende medium 25 ml i 9 cm Petri-skåle inokuleres med flydende algekultur 1 ml per petriskål. Der fremstilles 1 petriskål per testparameter. Opformeringstid ca. 10 døgn.

2.11.2 Forberedelse af prøveemner

Materialernes væsentlige egenskaber karakteriseres før og efter relevant ældning.

Halvdelen af emnerne udsættes herefter for relevant ældning. Procedure fastlægges på baggrund af producentens angivelser af anvendelsesområde herunder materialetyper/konstruktionstyper, ønsket eller påstået ydeevne, langtidseffekt m.v.

Emnerne konditioneres i 1 uge ved 20°C og 65% RH.

Hvis der skal foretages en overfladebehandling gå til pkt. 11.3. Hvis ikke der skal overfladebehandles gå til pkt. 11.4.

Alle testmaterialer autoklaveres ved 120°C i 20 min, eller strålesteriliseres ved 50 KGy

2.11.3 Klargøring af dyrkningsbokse

Klare plastbokse 30 x 22 x 7 cm med låg aftørres grundigt med laboratoriesprit. Tørres.

180 g vermiculit + 500 g demineraliseret vand autoklaveres ved 120°C i 20 min. Autoklaveret, opfugtet vermiculit overføres til plastboksene.

2.11.4 Konditionering af prøveemner

Emnerne konditioneres 1 uge ved 20°C og 100% RH.

Prøveemnerne kan udsættes for en kunstig vejrpåvirkning i Q-U-V i 3 uger som supplement til denne prøvning. Andre former for kunstig eller naturlig materialeældning kan ligeledes anvendes.

2.11.5 Inokulering

Umiddelbart inden inokulering testes tætheden af algekulturen i tællekammer. Der skal være ca. $1,5 \times 10^6$ antal alger pr. ml væske.

En Petriskål med alger i BS hældes over i glas til inokulering og væsken fortyndes med vand til $\frac{1}{2}$ liter.

Materialerne dyppes vandret i algesuspension i vand.

Materialerne nedlægges horisontalt i plastkasser på vandmættet vermiculit.

2.11.6 Inkubering

Inkuberes i 4 uger – tilføres BS-opløsning 1 x pr. uge ved sprøjtning med 6 ml. algesuspension i vand i forholdet 2 ml algesuspension til 4 ml BS.

2.11.7 Dyrkningsbetingelser

Kasserne inkuberes ved 20°C og 1,5 klux med lys i 24 timer. Emnerne inkuberes minimum 10 dage.

2.11.8 Aflæsning eller videre behandling

Ønskes testen afsluttet her foretages opgørelse af resultater.

Ønskes gen-eksponering af testemner, gå til 2.11.5 eller hele pkt. 2.11 kan gentages.

2.11.9 Opgørelse af resultater

Vækst/mortalitet registreres i stereolup eller ved Rodac-plader med fast BS-medium.

Efter inkubering vurderes emnerne iht. følgende skala:

0 = Ingen vækst

1 = Ringe vækst – 0-25% dækning eller 1-10 kolonier

2 = Moderat vækst – 26-50% dækning eller 11-50 kolonier

3 = Kraftig vækst – 51-75% dækning eller 50 – flere kolonier

4 = Massiv vækst – 76-100% dækning ikke muligt at tælle

Emnerne fotoregistreres før og efter eksponering for alger.

2.11.10 Vurdering af resultater

Resultaterne vurderes i forhold til, hvordan væksten er på:

viabilitets kontrol

kontrolemner

testmaterialer

2.11.11 Tolkning af resultater

Forudsætningen for at materialet er modstandsdygtigt overfor angreb af grønalger er, at der ikke forekommer vækst af alger.

2.11.12 Konklusion på resultater

Prøvningen er holdbar hvis:

- alle kontrolemner behandlet med vand og uden indflydelse fra egentlige testemner er massivt bevoksede (grad 3)
- alle kontrolemner eksponeret sammen med testemner er bevoksede til grad 2-3

Materialet er modstandsdygtigt overfor angreb af grønalger, hvor alle testemner er karakteriseret som 0. Kun 1 emne må opnå karakteren 1 i prøvningsperioden.

Resultatopgørelse

Resultatopgørelse vedr. identifikation af skimmelsvampe på sålbænk

Bilag 3 Tabel 1 Resultatskema for identifikation af skimmelsvampe fra forsøg med aftryk taget med V-8 plader før og efter rensning af lavbevoksede sålbænke.

Dyrkningssvar, aftryksprøver udtaget 22. oktober 2001.

Plade nr./ Vækstgrad	Udtagningssted	Skimmelsvampe Art (antal kolonier)
1. Moderat 25 kolonier	Sålbænk Før afrensning	<i>Acremonium sp.</i> (3) <i>Alternaria sp.</i> (4) <i>Cladosporium sp.</i> (6) <i>Fusarium sp.</i> (2) <i>Mucor sp.</i> (1) <i>Rhodotorula</i> (2) <i>Trichosporon pullulans</i> (4) <i>Ulocladium sp.</i> (2) <i>Mycelia sterilia</i> (2)
2. Moderat 19 kolonier	Sålbænk Før afrensning	<i>Alternaria sp.</i> (6) <i>Aspergillus sp.</i> (2) <i>Fusarium sp.</i> (1) <i>Mucor sp.</i> (2) <i>Rhodotorula</i> (4) <i>Trichosporon pullulans</i> (1) <i>Mycelia sterilia</i> (3)
3. Moderat 28 kolonier	Sålbænk Før afrensning	<i>Alternaria sp.</i> (17) <i>Cladosporium sp.</i> (10) <i>Aspergillus sp.</i> (1)
4. Moderat 46 kolonier	Sålbænk Før afrensning	<i>Aspergillus sp.</i> (17) Gær (22) <i>Mucor sp.</i> (1) <i>Penicillium sp.</i> (3) <i>Mycelia sterilia</i> (3)
5. Moderat 46 kolonier	Sålbænk Efter afrensning med vand	<i>Aspergillus sp.</i> (17) <i>Penicillium sp.</i> (3) Gær (22) <i>Mucor sp.</i> (1) <i>Mycelia sterilia</i> (3)
6. Moderat 44 kolonier	Sålbænk Efter afrensning med vand	<i>Alternaria sp.</i> (2) <i>Aspergillus sp.</i> (8) <i>Penicillium sp.</i> (3) Gær (30) <i>Mucor sp.</i> (1)

7. Moderat 35 kolonier	Sålbænk Efter afrensning med vand	<i>Aspergillus sp.</i> (6) <i>Penicillium sp.</i> (8) Gær (20) <i>Mucor sp.</i> (1)
8. Moderat 30 kolonier	Sålbænk Efter afrensning med vand	<i>Alternaria sp.</i> (3) <i>Aspergillus sp.</i> (2) <i>Penicillium sp.</i> (2) Gær (20) <i>Rhodotorula</i> (3)
9. Ringe 6 kolonier	Sålbænk Efter afrensning med BAC	<i>Aspergillus sp.</i> (3) <i>Mucor sp.</i> (1) Gær (1) <i>Mycelia sterilia</i> (1)
10 Ringe 6 kolonier	Sålbænk Efter afrensning med BAC	<i>Aspergillus sp.</i> (6)
11 Ringe 7 kolonier	Sålbænk Efter afrensning med BAC	<i>Aspergillus sp.</i> (7)
12 Ringe 6 kolonier	Sålbænk Efter afrensning med BAC	<i>Aspergillus sp.</i> (5) <i>Mucor sp.</i> (1)