

## WHFF-Projekt Nr. 2019.11

# Verbesserter Witterungsschutz von Gartenmöbeln durch eine Laccase-katalysierte Holz-Iodierung

## Wissenschaftlicher Schlussbericht



**Kontakt:**

Dr. Mark Schubert  
Head WoodTec  
Cellulose & Wood Materials  
Empa, Materials Science & Technology  
Überlandstrasse 129  
CH-8600 Dübendorf  
Tel +41 58 765 7624  
[mark.schubert@empa.ch](mailto:mark.schubert@empa.ch)

# Inhaltsangabe

<b>Vorwort</b> .....	<b>V</b>
<b>Kurzbeschreibung</b> .....	<b>VI</b>
<b>1 EINLEITUNG UND ZIELSETZUNG</b> .....	<b>7</b>
<b>1.1</b> Problembeschreibung / Motivation.....	7
<b>1.2</b> Lösungsansatz.....	8
<b>1.3</b> Stand des Wissens.....	10
<b>2 VERSUCHSPROGRAMM</b> .....	<b>13</b>
<b>2.1</b> Arbeitspaket 1: Freilandbewitterungstests .....	14
<b>2.2</b> Arbeitspaket 2: Bau von Demonstratoren .....	15
<b>2.3</b> Arbeitspaket 3: Materialcharakterisierung.....	16
<b>3 BEOBACHTUNGEN &amp; SCHLUSSFOLGERUNGEN</b> .....	<b>18</b>
<b>3.1</b> Freilandbewitterungstests .....	18
<b>3.2</b> Bau von Demonstratoren .....	20
<b>3.3</b> Materialcharakterisierung.....	23
<b>4 FAZIT</b> .....	<b>26</b>
<b>LITERATURVERZEICHNIS</b> .....	<b>28</b>

## Abbildungsverzeichnis

<b>Abbildung 1:</b> Komplementärer Ansatz für einen effektiven Holzschutz .....	9
<b>Abbildung 2:</b> Demonstrator Haefeli Stuhl <sup>1020</sup> .....	10
<b>Abbildung 3:</b> Holz-Iodierung.....	13
<b>Abbildung 4:</b> Natürliche Freibewitterungsanlage in Dübendorf .....	15
<b>Abbildung 5:</b> Bau von Demonstratoren.....	16
<b>Abbildung 6:</b> Rasterkraftmikroskopie (AFM) .....	17
<b>Abbildung 7:</b> Kontaktwinkelmessung.....	18
<b>Abbildung 8:</b> Freilandbewitterungstests der fertigmontierten Haefeli Stühle <sup>1020</sup> .....	19
<b>Abbildung 9:</b> Verblauung der vertikalen Holzproben im zeitlichen Verlauf.....	20
<b>Abbildung 10:</b> Verblauung der horizontalen Holzproben im zeitlichen Verlauf.....	20
<b>Abbildung 11:</b> Farbänderung an der iodierten Holzprobe .....	22
<b>Abbildung 12:</b> Demonstrator Haefeli Stuhl <sup>1020</sup> .....	23
<b>Abbildung 13:</b> Mikroskopie.....	25
<b>Abbildung 14:</b> Rasterkraftmikroskopie.....	25
<b>Abbildung 15:</b> Kontaktwinkelmessung.....	26
<b>Abbildung 16:</b> FTIR-Spektroskopie .....	26

## Tabellenverzeichnis

<b>Tabelle 1:</b> Bewertungsschema zur Intensität (I) des sichtbaren Bewuchses .....	15
<b>Tabelle 2:</b> Bewertungsschema zur Menge (Q) der Stellen mit optischer Veränderung .	16
<b>Tabelle 3:</b> Bestimmung der Farbänderung.....	24

## Vorwort

Der vorliegende Bericht dokumentiert die Ergebnisse des WHFF-Projektes 2019.11 „Verbesserter Witterungsschutz von Gartenmöbeln durch eine Laccase-katalysierte Holz-Iodierung“, welches von der Empa, Abteilung Cellulose & Wood Materials, Gruppe WoodTec zusammen mit der Firma Embru AG durchgeführt wurde.

Die Arbeiten des Projektes sollten offiziell am 1. März 2020 beginnen. Allerdings wurde wegen der Corona-Situation und des verhängten Lockdowns der Start auf den 1. Mai verschoben. Die Corona-Situation führte während der Projektlaufzeit zu weiteren Verzögerungen in der Bearbeitung der Arbeitspakete. Nichtsdestotrotz konnten elementare Arbeiten, wie z.B. die Freilandbewitterungsversuche (AP 2) und der Bau der Demonstratoren (AP 3) gestartet und durchgeführt werden, so dass abschliessend alle Arbeitspakete erfolgreich bearbeitet werden konnten.

Folgende Organisationen und Personen waren massgeblich an der Durchführung des Projektes involviert:

- Empa, Abteilung Cellulose & Wood Materials: Mark Schubert (Projektleitung); Roman Elsener (technischer Mitarbeiter); Mirko Lukovic (Datenanalyse)
- Embru AG: Phillipp Städler (Co-Projektleitung & Leiter Entwicklung); Pascal Huber (Geschäftsführer); Patrick Zweifel (technischer Mitarbeiter)
- Fonds zu Förderung der Wald- und Holzforschung

An dieser Stelle möchte sich die Empa, Abteilung Cellulose & Wood Materials bei allen Beteiligten für das Engagement, die geleisteten Arbeiten und die finanzielle Unterstützung bedanken.

## Kurzbeschreibung

Gartenmöbel aus Holz haben neben funktionalen Aufgaben auch ästhetische Ansprüche zu erfüllen. Allerdings unterliegen Holzmöbel im Aussenbereich im Verlauf ihrer Nutzungsdauer vielfältigen Umwelteinflüssen und verlieren infolge eines pilzlichen Oberflächenbewuchses schnell ihre ästhetische Erscheinung. Mit **Embru AG** haben wir auf Basis einer Laccase-katalysierten Holz-Iodierung eine wirksame und umweltverträgliche Oberflächenbehandlung entwickelt, welche die vielfältigen Ansprüche bezüglich Witterungsbeständigkeit und Ästhetik erfüllt.

Die primären Ziele des Projektes waren das Aufzeigen der Machbarkeit eines solchen Verfahrens sowie die Erarbeitung der Grundlagen für eine industrielle Umsetzung. Das Projektkonsortium setzte sich zusammen aus Empa (WoodTec) und der Firma Embru AG (Industrieller Anwender).

# 1. Einleitung und Zielsetzung

## 1.1 Problembeschreibung / Motivation

Die vermehrte Verwendung des Werkstoffes Holz in der Schweiz ist aus Gründen der Nachhaltigkeit (CO<sub>2</sub> Bilanz) und der lokalen Wertschöpfung wünschenswert. Neben Konstruktionsholz sind Holzmöbel eines der mengenmässig bedeutsamen Marktsegmente für Hobelware aus Massivholz.

Obwohl sich Holz seit Jahrhunderten als Material im Aussenbereich bewährt hat, ist der Schutz der Oberfläche vor ästhetischen Veränderungen oder einer Schädigung durch Umwelteinflüsse noch immer eine grosse Herausforderung. Moderne Lasuren oder ganze Beschichtungssysteme sind heute komplexe Mischungen aus teilweise bis zu 20 Komponenten basierend auf dem Lösemittel Wasser. Derartige wasserbasierte Systeme entsprechen dem heutigen Stand der Technik und zeichnen sich durch gute UV-Beständigkeit aus. Allerdings bieten diese Systeme nur einen unzureichenden Schutz gegenüber einem mikrobiologischen Befall des Holzes. Ein Problem von Beschichtungen ergibt sich aus der nachlassenden Adhäsion (Haftung) zwischen Beschichtung und dem Substrat Holz. Im Laufe der Zeit entstehen kleine Mikrorisse respektive Ablösungen und damit Feuchtebrücken, die das Wachstum von Mikroorganismen fördern. Insbesondere sogenannte Bläuepilze, die aufgrund der Eigenfärbung (Pigmentierung) der Hyphen Holz und Anstrichfilme grau bis schwarz verfärben, verursachen grosse monetäre Schäden.

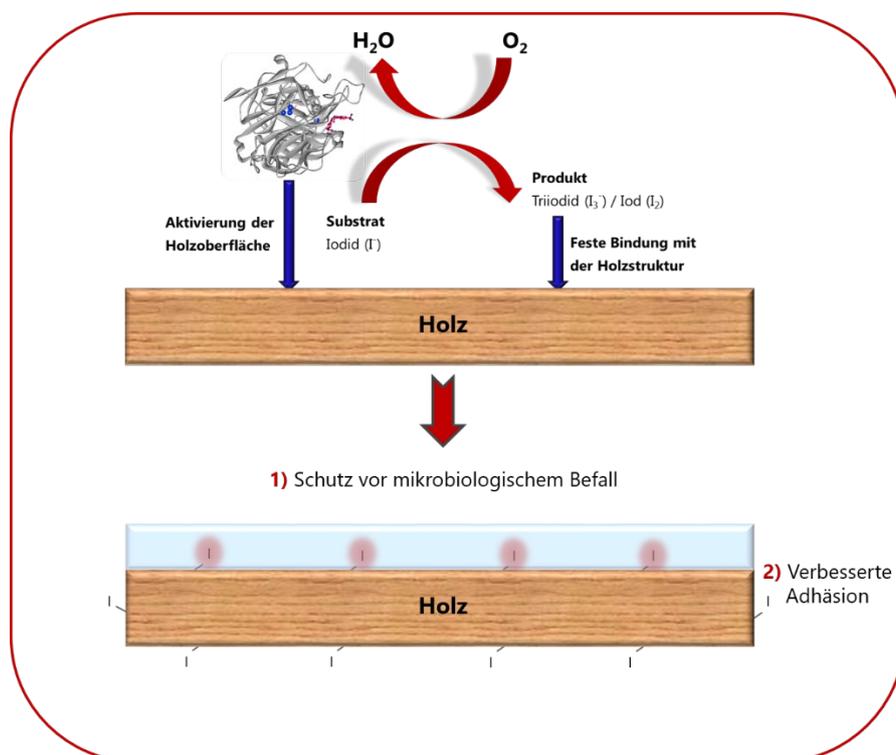
Dies ist ein wichtiger Grund, warum viele Bauherren, Möbelhersteller und Verbraucher von der Verwendung von Holz vor allem im Aussenbereich absehen. Daher ist ein wirksamer und dauerhafter Oberflächenschutz ein entscheidender Faktor für die Verwendung von Holz im Aussenbereich. Von der erfolgreichen Realisierung eines umfassenden Witterungsschutzes gegen abiotische und biotische Umwelteinflüsse hängt ab, inwieweit die vielfältigen Ansprüche der Hersteller und Verbraucher bezüglich Witterungsbeständigkeit und Ästhetik erfüllt werden können. Allerdings ist das Problem eines langfristig wirksamen Witterungsschutzes ohne Verwendung umweltschädlicher und gesundheitsgefährdender Chemikalien nach wie vor nur unbefriedigend gelöst. Produktinnovationen in diesem Bereich sind daher wichtig zur Erhaltung des Marktvolumens und zur Abgrenzung gegenüber Konkurrenzwerkstoffen.

## 1.2 Lösungsansatz

In enger Zusammenarbeit mit **Embru AG**, einem führenden Schweizer Hersteller von Qualitätsmöbel mit funktionalem Design, haben wir einen komplementären Ansatz zum langfristigen Witterungsschutz von Holz im Aussenbereich (Gartenmöbel) entwickelt.

Ein innovativer Ansatz für einen umweltfreundlichen und effektiven Holzschutz ist die enzymatisch-kovalente Kopplung von bioaktiven Molekülen an die Holzoberfläche. Der Vorteil gegenüber konventionellen Holzschutzmitteln ist hierbei, dass die bioaktiven Substanzen weniger schnell ausgewaschen werden und damit länger wirksam sind und dass umweltfreundliche und keine toxische Vorläufermoleküle verwendet werden können.

Mit einem an der Empa entwickelten Verfahren ist es möglich, durch die Laccase-katalysierte Oxidation von Iodid ( $I^-$ ) zu Iod ( $I_2$ ) bei gleichzeitiger Iodierung des Polymerlignins des Holzes, auswaschungsresistente und antimikrobielle Holzoberflächen zu generieren (Abbildung 1).



**Abbildung 1:** Komplementärer Ansatz für einen effektiven Holzschutz. Durch die Laccase kovalent ans Holz gebundene Iod-Moleküle ( $I$ ) führen zu einem langfristigen Schutz vor biotischen Einflüssen (Befall durch Mikroorganismen). Die hochreaktiven Iod-Moleküle können chemische Reaktionen mit der Beschichtung eingehen und zu einer verbesserten Adhäsion (Haftung) zwischen Holz und Beschichtung führen.

## Ziele des Projekts

Das Verfahren auf Basis Laccase-katalysierter Reaktionen steht im Einklang mit dem Konzept der `Nachhaltigen Chemie`, welches zum Ziel hat, vorsorgenden Umwelt- und Gesundheitsschutz mit einer innovativen ökonomischen Strategie zu verbinden. Aus diesem Grund wollten wir gemeinsam mit **Embru AG** einen Beitrag zur Entwicklung umweltfreundlicher Holzschutzverfahren leisten. Die wissenschaftlichen Untersuchungen sollten somit als Grundlage für die konzeptionelle Erarbeitung neuer Holzschutzkonzepte für Holzanwendungen mit Witterungsexposition (Gartenmöbel) dienen.

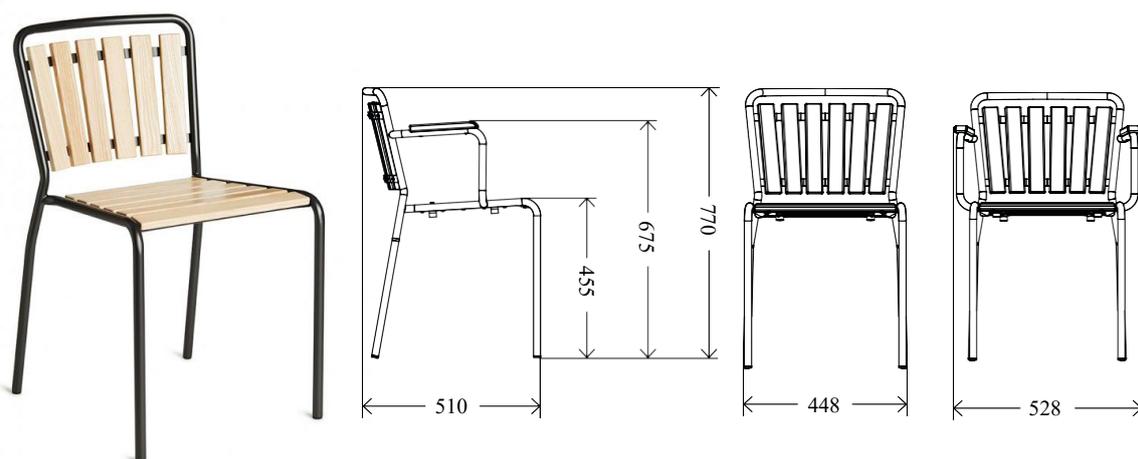
Die primären Ziele des Projektes waren das Aufzeigen der Machbarkeit eines solchen Verfahrens sowie die Erarbeitung der Grundlagen für eine industrielle Umsetzung. Das interdisziplinäre Projektkonsortium setzte sich zusammen aus Empa (WoodTec) und der Firma **Embru AG** (Industrielle Anwendung). Folgende Teilziele wurden angestrebt:

**Teilziel 1:** Optimierung der Laccase-katalysierten Holz-Iodierung unter Berücksichtigung des Kosten- und Ressourceneinsatzes.

**Teilziel 2:** Quantifizierung der Wirksamkeit unter praxisrelevanten Bedingungen

**Teilziel 3:** Bau von Demonstratoren (Abbildung 2) für das NEST-Modul Vision Holz. (<http://nest.empa.ch/de/innovationen/natuerliches-bauen/natural-living/>).

**Teilziel 4:** Erarbeitung der Grundlagen für eine industrielle Umsetzung (z.B. in einem KTI-Projekt).



**Abbildung 2:** Demonstrator Haefeli Stuhl<sup>1020</sup> (45 x 51 x 77 cm (B x T x H), Esche natur). Designer Max Ernst Haefeli, 1938

### 1.3 Stand des Wissens

Ein wichtiger Grund, warum viele Hersteller von Holzprodukten und Verbraucher von der Verwendung von Holz im Aussenbereich absehen, ist die geringere Dauerhaftigkeit im Vergleich zu anderen Werkstoffen. Holzprodukte, wie Gartenmöbel, unterliegen im Verlauf ihrer Nutzungsdauer vielfältigen Einflussfaktoren und können insbesondere infolge starker Exposition gegenüber Witterungseinflüssen (Feuchtigkeit, Temperaturwechsel, Sonneneinstrahlung) schneller als erwünscht altern.

Mit Hilfe von modernen Lasuren ist es möglich, die Oberfläche des Holzes vor abiotischen Einflüssen (bspw. UV-Strahlung) zu schützen und einer frühzeitigen Alterung entgegenzuwirken. Allerdings bieten diese Systeme nur einen unzureichenden Schutz gegenüber einem mikrobiologischen Bewuchs der Holzoberfläche. Die mit der Feuchtigkeitsexposition in Verbindung stehende Besiedlung mit holzbewohnenden Pilzen stellt hierbei eine besondere Gefahr dar, da es innerhalb kurzer Zeit zu unansehnlichen und teilweise irreversiblen Verfärbungen kommen kann. Insbesondere sogenannte Bläuepilze (bspw. *Aureobasidium pullulans*, *Ophiostoma piceae*), die aufgrund der Eigenfärbung der Hyphen Holz und Anstrichfilme grau bis schwarz verfärben, verursachen nicht nur ästhetische, sondern auch grosse monetäre Schäden.

Konventionelle Holzschutzmittel (Fungizide), welche gegen einen Bläuepilzbefall eingesetzt werden, enthalten chemische Substanzen, die Mensch, Tier und Umwelt beeinträchtigen. Ein weiterer Nachteil dieser chemischen Holzschutzmittel ist das schnelle Auswaschen aus dem Holz. Beide Faktoren führen dazu, dass konventionelle Holzschutzmittel nicht für den Schutz von Gartenmöbeln eingesetzt werden können. Neben der Wirkung gegenüber Mikroorganismen ist somit die Auswaschungsresistenz und die Umweltverträglichkeit des eingesetzten Holzschutzmittels ein entscheidender Faktor (Mai et al. 2007). Das Problem eines langfristig wirksamen Holzschutzes im Aussenbereich ohne Verwendung umweltschädlicher und gesundheitsgefährdender Chemikalien ist somit nach wie vor nur unbefriedigend gelöst.

Ein innovativer Ansatz für einen umweltfreundlichen und effektiven Holzschutz ist die enzymatische Kopplung von bioaktiven Molekülen/Substanzen an die Holzoberfläche (Kudanga et al. 2011). Für die Kopplung von funktionalen Molekülen an die Holzoberfläche sind Laccasen besonders gut geeignet (Kalia et al. 2014, Kudanga et al. 2008, Schubert 2013, Schubert et al. 2015b)

Laccasen sind eine Gruppe von Enzymen, die die Oxidation einer Vielzahl von Substraten bei gleichzeitiger Reduktion von Sauerstoff katalysieren. Bei der Oxidation phenolischer Substrate entstehen unter Freisetzung eines Protons Phenoxyradikale, die spontan zu Dimeren, Oligomeren oder Polymeren reagieren können. Somit umfassen von Laccase katalysierte Reaktionen oxidative Kupplungen von Monomeren, wodurch C–C-, C–O- und C–N-Verbindungen geknüpft werden (Leonowicz et al. 2001).

Laccasen oxidieren verschiedene phenolische Verbindungen wie o- und p-Diphenole, Aminophenole, Polyphenole und methoxy-substituierte Phenole, aber auch einige anorganische Verbindungen wie z.B. Iodid (Kulys et al. 2005, Xu 1996).

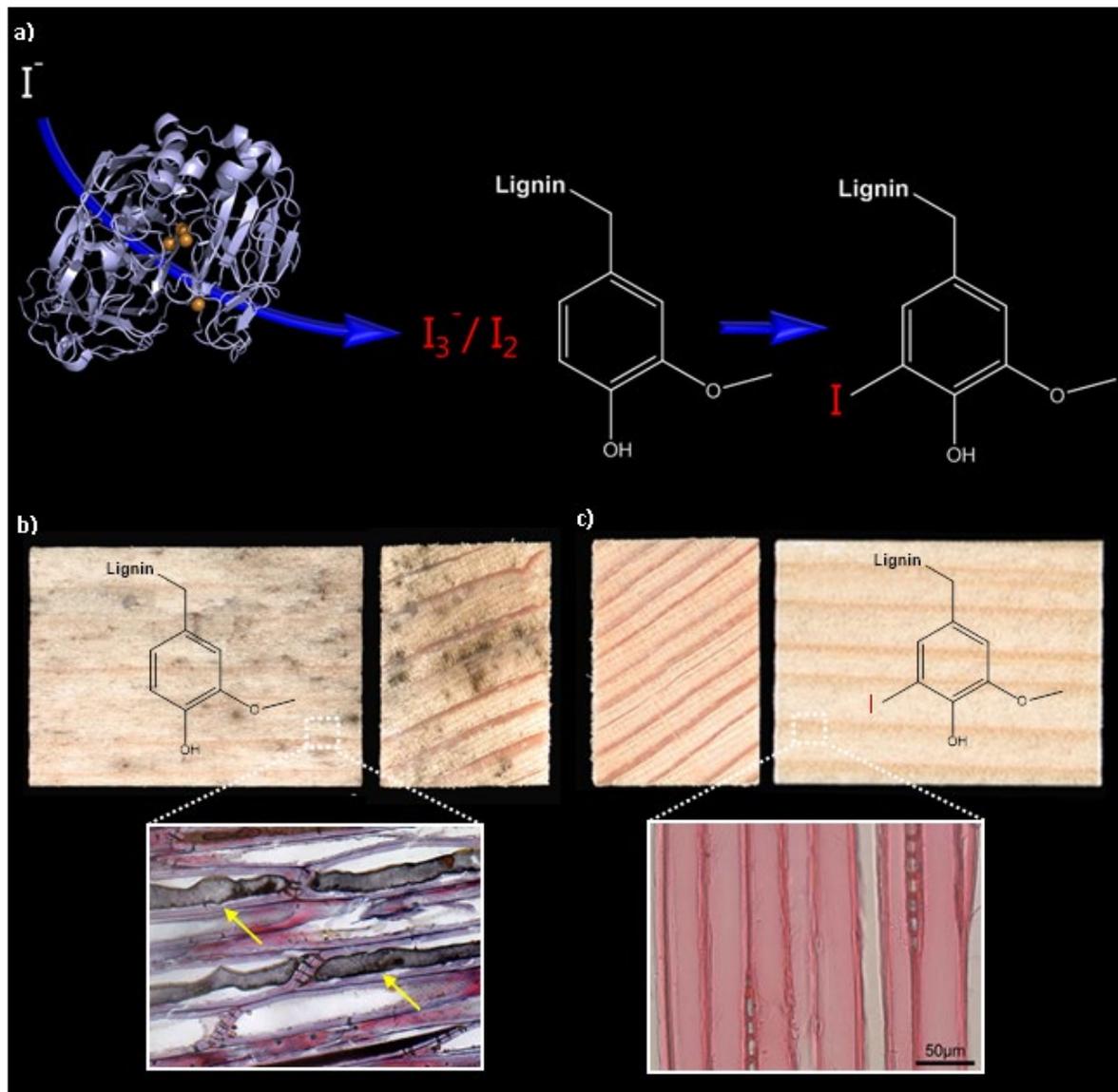
Insbesondere die Oxidation von Iodid ( $I^-$ ) zu Iod ( $I_2$ ) ist in Bezug auf antimikrobielle Effekte interessant, da Iod-Lösungen ein kostengünstiges und effektives Biozid mit hoher Wirkung gegen eine Vielzahl von Mikroorganismen (Bakterien, Pilze, Viren) darstellen (Choi et al. 2003, Straub et al. 1966).

Dies führte an der Empa zur Entwicklung eines innovativen Verfahrens, welches eine auswaschungsresistente und antimikrobielle Holzoberfläche durch die Laccase-katalysierte Iodierung des aromatischen Polymerlignins generiert (Ihssen et al. 2014, Schubert et al. 2012).

Iodid ( $I^-$ ) wird durch Laccase zu Tri-iodid ( $I_3^-$ ) oxidiert, welches im Gleichgewicht mit elementarem Iod ( $I_2$ ) steht (Kulys et al. 2005, Schubert et al. 2015a). Anschliessend findet eine kovalente Bindung des Iod-Moleküls am Aromaten statt (Abbildung 2). Durchgeführte Laborstudien konnten belegen, dass die Laccase-katalysierte Holz-Iodierung auch nach intensiver Auswaschung zu einer signifikanten Erhöhung der biologischen Dauerhaftigkeit führt und gegen fünf Klassen von heterotrophen Organismen wirksam ist (Ihssen et al. 2014, Schubert et al. 2012). Neben Gram-negativen und Gram-positiven Bakterien wies das iodierete Holz ebenfalls eine starke antimikrobielle Wirkung gegen Hefe-, Bläue- und Holz-abbauende Pilze auf (Abbildung 3).

Ein weiterer Vorteil der Laccase-katalysierten Holz-Iodierung ist, dass ausschliesslich umweltfreundliche Substanzen/Stoffe und nachhaltige Materialkomponenten verwendet werden, welche eine hohe Umweltverträglichkeit gewährleisten und den Anforderungen an eine "Grüne Chemie" entsprechen (Anastas et al. 2010):

- Die Laccase ist ein Protein, welches von diversen Organismen produziert wird. Laccasen sind für Mensch und Tier absolut unbedenklich und biologisch abbaubar. Sie sind wasserlöslich und arbeiten unter physiologischen Bedingungen (keine harschen Chemikalien oder Bedingungen werden benötigt).
- Kaliumiodid ist eine kostengünstige, natürlich vorkommende Substanz, welche als gesundheitlich unbedenklich eingestuft ist. Zudem ist ein effizienter Einsatz (geringe benötigte Mengen) der Substanz aufgrund der kovalenten Bindung ans Holz realisierbar. Die genannten Punkte erlauben somit einen Einsatz der Laccase-katalysierten Holz-Iodierung für den Möbelbau.



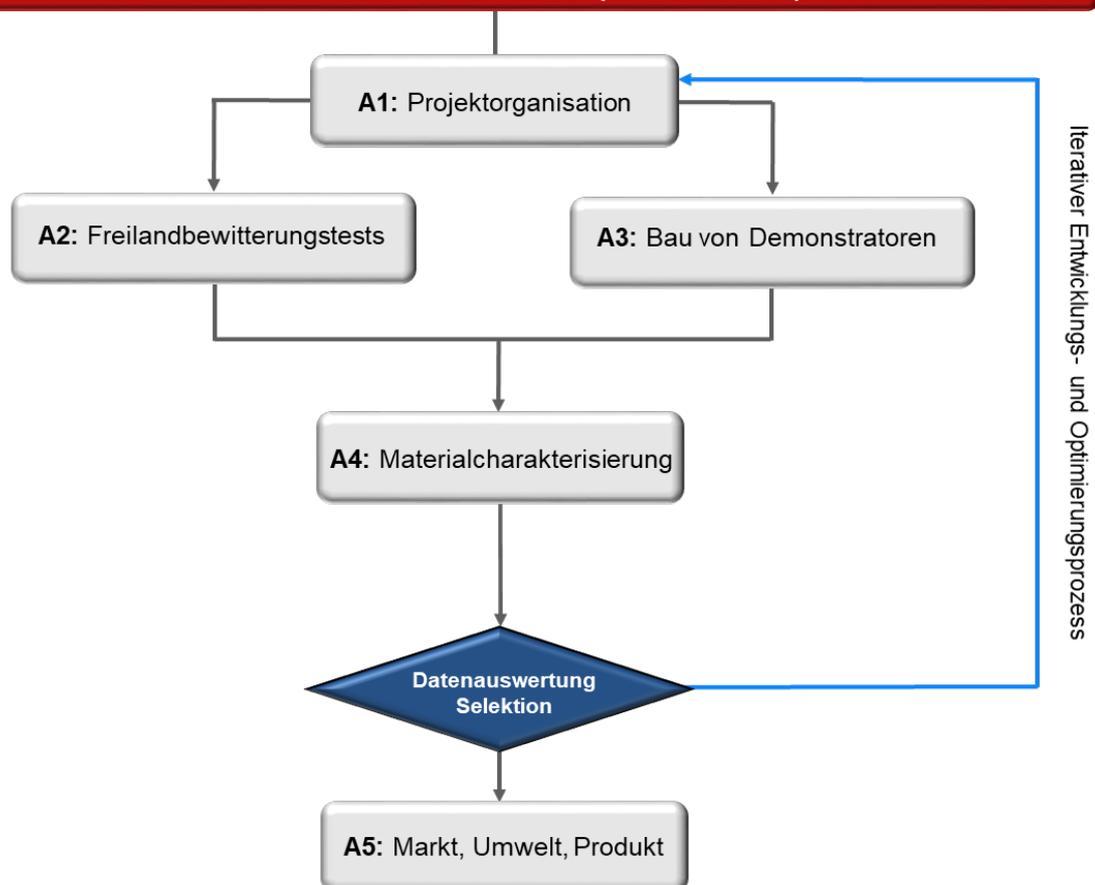
**Abbildung 3:** a) Iodid ( $I^-$ ) wird durch Laccase am aktiven Zentrum zu Tri-iodid ( $I_3^-$ ) oxidiert, welches im Gleichgewicht mit elementarem Iod ( $I_2$ ) steht. Durch die Halogenierung der phenolischen Aromaten wird das Iod-Molekül kovalent an die Holzstruktur gebunden. b) Fichtenholz (*Picea abies*) nach einer 6-wöchigen Inkubationszeit mit diversen Bläuepilzen. Das Holz weist starke Verfärbungen auf. Die gelben Pfeile zeigen im lichtmikroskopischen Bild die pigmentierten Hyphen von *Alternaria alternata* im Zelllumen. c) Enzymatisch iodiertes Fichtenholz nach intensiver Auswaschung und Inkubation mit Bläuepilzen. Sowohl makroskopisch als auch mikroskopisch sind keine Besiedelung durch Bläuepilze und keine Verfärbungen zu erkennen

## 2. Versuchsprogramm

### Versuchsaufbau

Die Arbeiten erfolgten in zwei zeitlich gestaffelten Entwicklungs- und Optimierungszyklen, welche den kontinuierlichen Einbezug der gewonnenen Erkenntnisse gewährleisten (siehe untenstehendes Schema). Um genügend Zeit für diese Zyklen zu haben, welche umfassende Performance-Tests (natürliche Freibewitterung) beinhalten, war ein 18-monatiges Projekt notwendig.

### Entwicklung eines komplementären Ansatzes zum langfristigen Witterungsschutz von Holz im Aussenbereich (Gartenmöbel)



Die Projektarbeiten wurden gemäss dem skizzierten Projektablauf in 5 thematische Arbeitspakete (AP) aufgeteilt. Die gewonnenen experimentellen Daten wurden fortlaufend dokumentiert, ausgewertet und mit dem Industriepartner Embru AG besprochen. In den APs 2-4 wurden iodierete Holzproben sowie die hergestellten Demonstratoren (Gartenstühle) charakterisiert und umfassenden Leistungstests (u.a. Freibewitterung) unterzogen. Die erzielten Ergebnisse und Rückschlüsse wurden dann wieder in den Entwicklungs- und Optimierungszyklus integriert. Im AP 5 wurde schliesslich der entwickelte komplementäre Ansatz zum Schutz und Erhalt von Gartenmöbeln für die industrielle Umsetzung vorbereitet (Markt – und Umweltanalyse).

## 2.1 Arbeitspaket 1: Freilandbewitterungstests

Die Witterungsbeständigkeit der iodierten Holzoberflächen wurde unter natürlicher Bewitterung auf dem Freibewitterungsstand der Empa in Dübendorf, gemäss SN EN 927-3 untersucht (Abbildung 4). Um eine stirnseitige kapillare Wasseraufnahme zu verhindern, wurden die Stirnseiten der Proben mit einer weitgehend feuchteundurchlässigen 2K-PUR-Lackfarbe versiegelt. Während der Bewitterung erfolgte periodisch eine visuelle Zustandsbeurteilung und fotografische Dokumentation.



**Abbildung 4:** Natürliche Freibewitterungsanlage am Standort Dübendorf

**Gemäss EN 927-3:**

- Verblauung: Bewuchs durch Mikroorganismen gemäss ISO 16492:

**Tabelle 1:** Bewertungsschema zur **Intensität (I)** des sichtbaren Bewuchses

Bewertungszahl	Intensität des sichtbaren Bewuchses
0	nicht verändert, d. h. kein sichtbarer Bewuchs
1	sehr gering, d. h. gerade sichtbarer Bewuchs
2	gering, d. h. deutlich sichtbarer Bewuchs
3	mittel, d. h. sehr deutlich sichtbarer Bewuchs
4	stark, d. h. ausgeprägter Bewuchs
5	sehr starker Bewuchs

**Tabelle 2:** Bewertungsschema zur **Menge (Q)** der Stellen mit optischer Veränderung

Bewertungszahl	Anzahl der Stellen mit optischer Veränderung
0	keine, d. h. keine Stellen mit optischer Veränderung
1	sehr wenige, d. h. kleine, gerade noch signifikante Anzahl von Stellen mit optischer Veränderung
2	wenige, d. h. kleine, aber signifikante Anzahl von Stellen mit optischer Veränderung
3	mäßig viele Stellen mit optischer Veränderung
4	Stellen mit optischer Veränderung in beträchtlicher Anzahl
5	sehr viele optische Veränderungen / homogene optische Veränderung

⇒ kombiniertes Mass für Verblauung =  $I * Q$  (max Wert 25)

Eschenholz für den Bau des Haefeli Stuhls<sup>1020</sup> wurde von der Firma Embru AG zur Verfügung gestellt (jeweils 6 Sitzlatten und 6 Rückenlatten für einen Stuhl). Die Iodierung des Holzes erfolgte mittels Tauchen (Laccase: 10U/ml, Mediator-Acetosyringone 200µM, Kaliumiodid: 200mM, Behandlungszeit 18h). Nach der Behandlung wurden die Holzproben getrocknet. Die Fertigstellung der Demonstratoren erfolgte entweder bei Empa, WoodTec, oder bei der Fa. Embru AG (siehe Abbildung 5).



**Abbildung 5:** a) Behandelte Sitz- und Rückenlatten aus Eschenholz. b) Vergleich von behandeltem und unbehandeltem Eschenholz (lackiert). c) Demonstrator Haefeli Stuhl<sup>1020</sup> (45 x 51 x 77 cm (B x T x H). Designer Max Ernst Haefeli, 1938

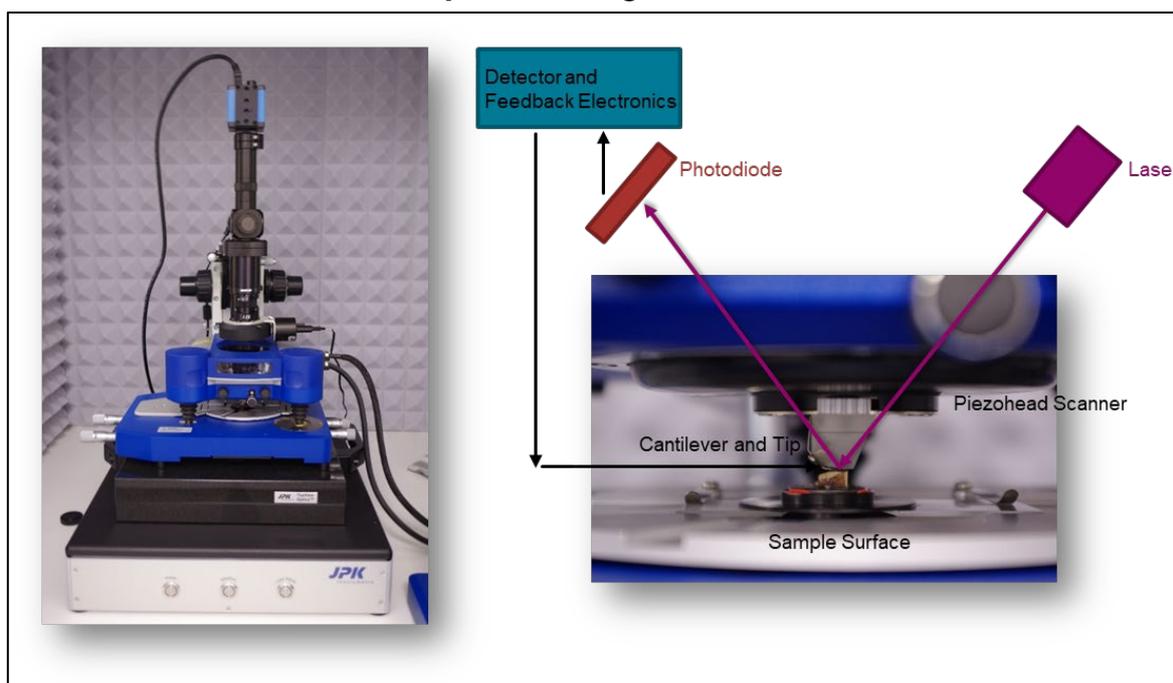
## 2.3 Materialcharakterisierung

Der Fokus der Materialcharakterisierung lag auf der Struktur der iodierten Holzoberflächen, der anwendungsbezogenen Oberflächeneigenschaften sowie dem Verwitterungsverhalten. Für die detaillierte Charakterisierung der behandelten Holzoberflächen wurden folgende Methoden angewendet:

### Struktur

Die iodierten Holzoberflächen wurden in einem ersten Schritt visuell beurteilt und makroskopisch dokumentiert (Fotos). Danach wurden bei ausgewählte Proben mittels folgenden Methoden näher untersucht:

- **Lichtmikroskop**
- **Rasterelektronenmikroskop** (mit Elementanalytik EDX)
- **FTIR-Spektroskopie:** Die Untersuchungen wurden an einem ATR-FTIR Spektrometer (BioRad FTS 6000 von Digilab, Philadelphia, USA) im Wellenzahlenbereich von  $600\text{ cm}^{-1}$  –  $4000\text{ cm}^{-1}$  (single reflection diamond ATR mode, P/N 10.500 series, golden gate; 32 scans,  $4\text{ cm}^{-1}$  Auflösung) durchgeführt. Bei einer ATR-FTIR Messung durchwandert die Strahlung die Probe nicht, sondern es findet in der Probe eine Totalreflexion statt. Dies wird dadurch gewährleistet, dass der Lichtstrahl einen prismenförmigen Kristall mit hoher Brechkraft durchläuft, auf den die Probe platziert wird. Für die vorliegende Arbeit ergab sich daraus der Vorteil, dass die Holzproben nicht gemahlen werden mussten, sondern unbearbeitet auf den Kristall gelegt und gemessen werden konnten.
- **AFM-Atomic Force Microscope** (Abbildung 5)



**Abbildung 6:** Rasterkraftmikroskopie (AFM)

## Farbänderung

Als wichtige Oberflächeneigenschaften für eine Anwendung als Stuhl für den Aussenbereich wurde die Farbänderung nach der Behandlung erfasst. Auf jeder Probe wurden jeweils 3 Messpunkte gemessen. Die Farbmessungen wurden mit einem Spektrophotometer (Minolta CM-2500d) nach dem CIELab System (D65, d/8, 10° Beobachter, sce) durchgeführt.

$$\Delta L = L_T - L_R$$

$$\Delta a = a_T - a_R$$

$$\Delta b = b_T - b_R$$

$$\Delta E = \sqrt{(\Delta L)^2 + (\Delta a)^2 + (\Delta b)^2}$$

mit: L: Helligkeitswert

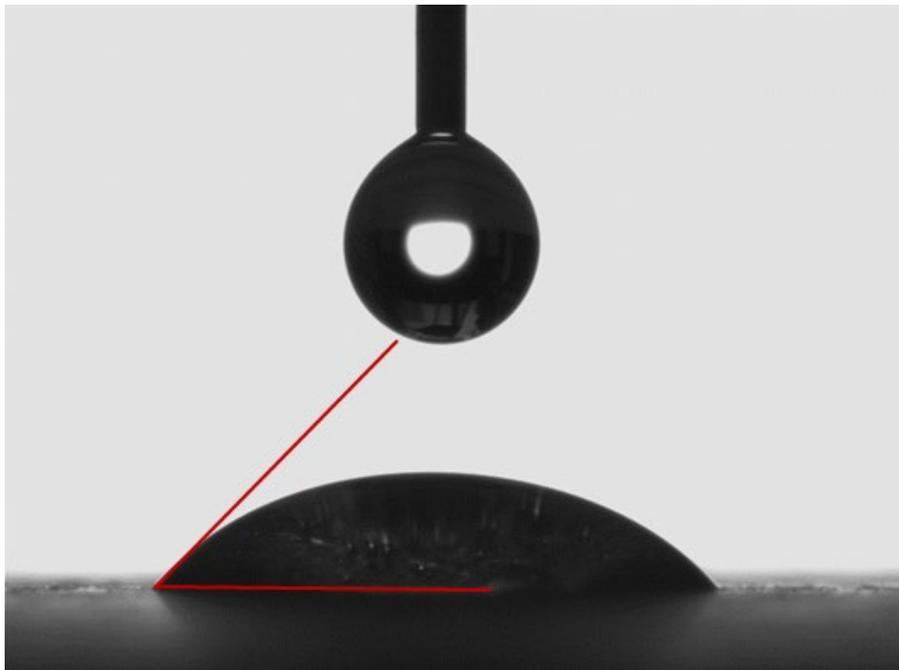
a, b: Farbwerte

T: Testwert

R: Referenzwert (=unbewitterter Ausgangszustand)

## Benetzungseigenschaften

Die Beurteilung des Benetzungsverhaltens basierte auf Kontaktwinkelmessungen nach der statischen Sessile-Drop-Methode an kleinen Wassertropfen, welche via eine Dosierspritze auf die Prüfoberfläche aufgebracht und über eine angeschlossene Videokamera während einer definierten Messzeit gefilmt wurden (dataphysics SCA 20). Ausgewertet wurde der Kontaktwinkel nach einer Messzeit von 60 s.



**Abbildung 7:** Kontaktwinkelmessung

### 3. Beobachtungen und Schlussfolgerungen

Die Präsentation und Bewertung der Ergebnisse erfolgt entsprechend den drei Hauptpunkten des Untersuchungsprogrammes, nämlich Freilandversuche, Bau der Demonstratoren sowie die Materialcharakterisierung. Ausgewählte Ergebnisse sind in Bildern dargestellt und werden in den jeweiligen Kapiteln detaillierter diskutiert.

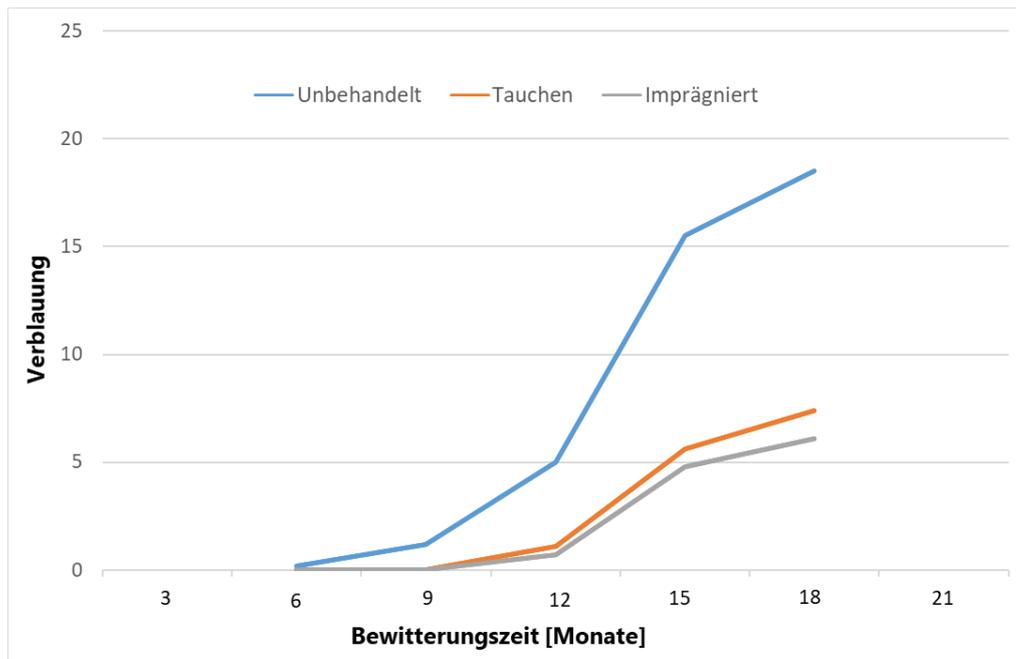
#### 3.1 Freilandbewitterungstests

Zur Quantifizierung der Witterungsbeständigkeit der iodierten Holzoberflächen wurden verschiedene natürliche Bewitterungsversuche durchgeführt. Die Quantifizierung erfolgte anhand der Veränderung von visuellen Merkmalen im Verlauf der Bewitterung. Besonderer Fokus lag auf der Verblauung der Holzproben (Verblauung =  $I * Q$  (max Wert 25)).

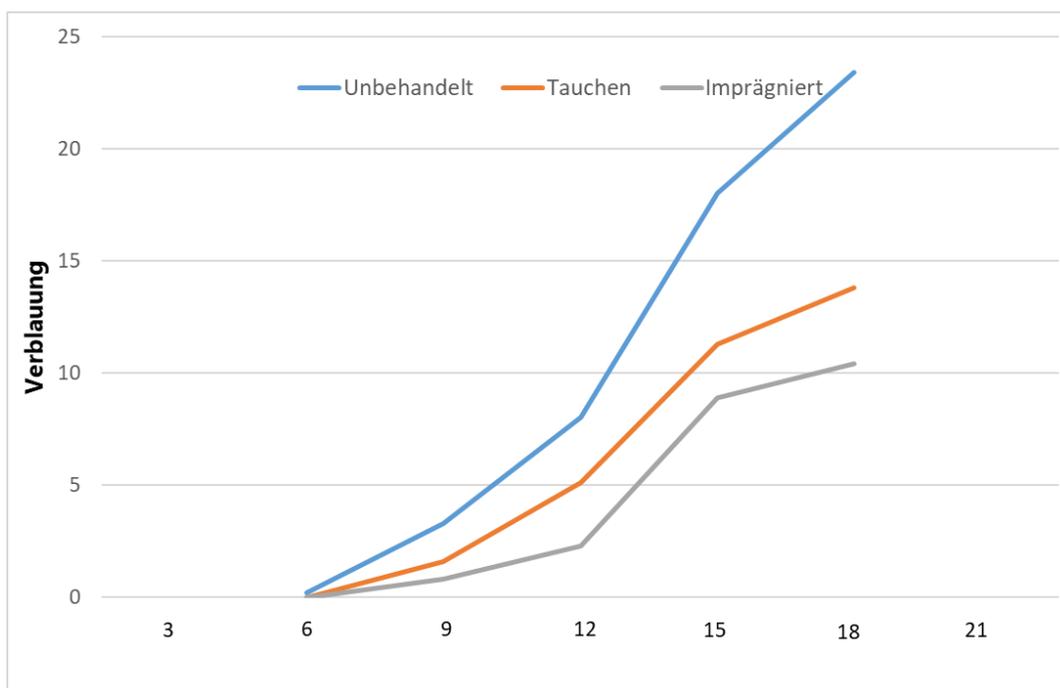
Neben definierten Holzproben (Fichte, Buche, Esche) wurden auch fertigmontierte Haefeli Stühle<sup>1020</sup> aus Eschenholz (Demonstratoren) in Freilandbewitterungsversuchen verwendet. Die Demonstratoren wurden montiert und die Witterungsbeständigkeit der Demonstratoren wurde an den Standorten Empa, Dübendorf (NEST) und Embru AG, Rüti bestimmt (Abbildung 8). Hierfür wurde während der Bewitterung periodisch eine visuelle Zustandsbeurteilung durchgeführt. Die Laccase-katalysierte Holz-Iodierung führte zu einer signifikanten Reduktion der Verblauung, insbesondere bei der Rückenlehne (Abbildung 9). Die Sitzflächen waren stärker verblaut (Abbildung 19)



**Abbildung 8:** Freilandbewitterungstests der fertigmontierten Haefeli Stühle<sup>1020</sup> am Standort **a)** Empa, Dübendorf NEST und **b)** Dachterrasse am Standort Embru AG, Rüti.



**Abbildung 9:** Verblauung der vertikalen Holzproben im zeitlichen Verlauf (Rückenlehne)



**Abbildung 10:** Verblauung der horizontalen Holzproben im zeitlichen Verlauf (Sitzfläche)

**Beobachtungen:** Die Freilandbewitterungstests (>15 Monate) konnten trotz der Corona-Situation durchgeführt werden. Die Ergebnisse werden folgend zusammengefasst.

- Die Iodid-Konzentration sowie die Holzbehandlung haben einen Einfluss auf die verzögerte Verblauung → Iod-Konzentration zeigen grössere Wirkung mit zunehmender Intensität (geringe Iod-Konzentration und Sprühen sind nicht wirksam)
- Behandlungsart → 'intensivere' Behandlung (Tauchen und Imprägnieren) ist wirksamer → mittlere bis hohe Konzentration notwendig
- Holzart → Wirksamkeit der Iodierung bei Fichte > Esche > Buche  
Exposition → geneigte Flächen viel gefährdeter als vertikale (Abbildung 9 & 10).  
Proben auf der Wetterseite sind ebenfalls stärker von Bläuepilzen befallen.
- Effektstärke: Exposition > Behandlungsart > Iod-Konzentration

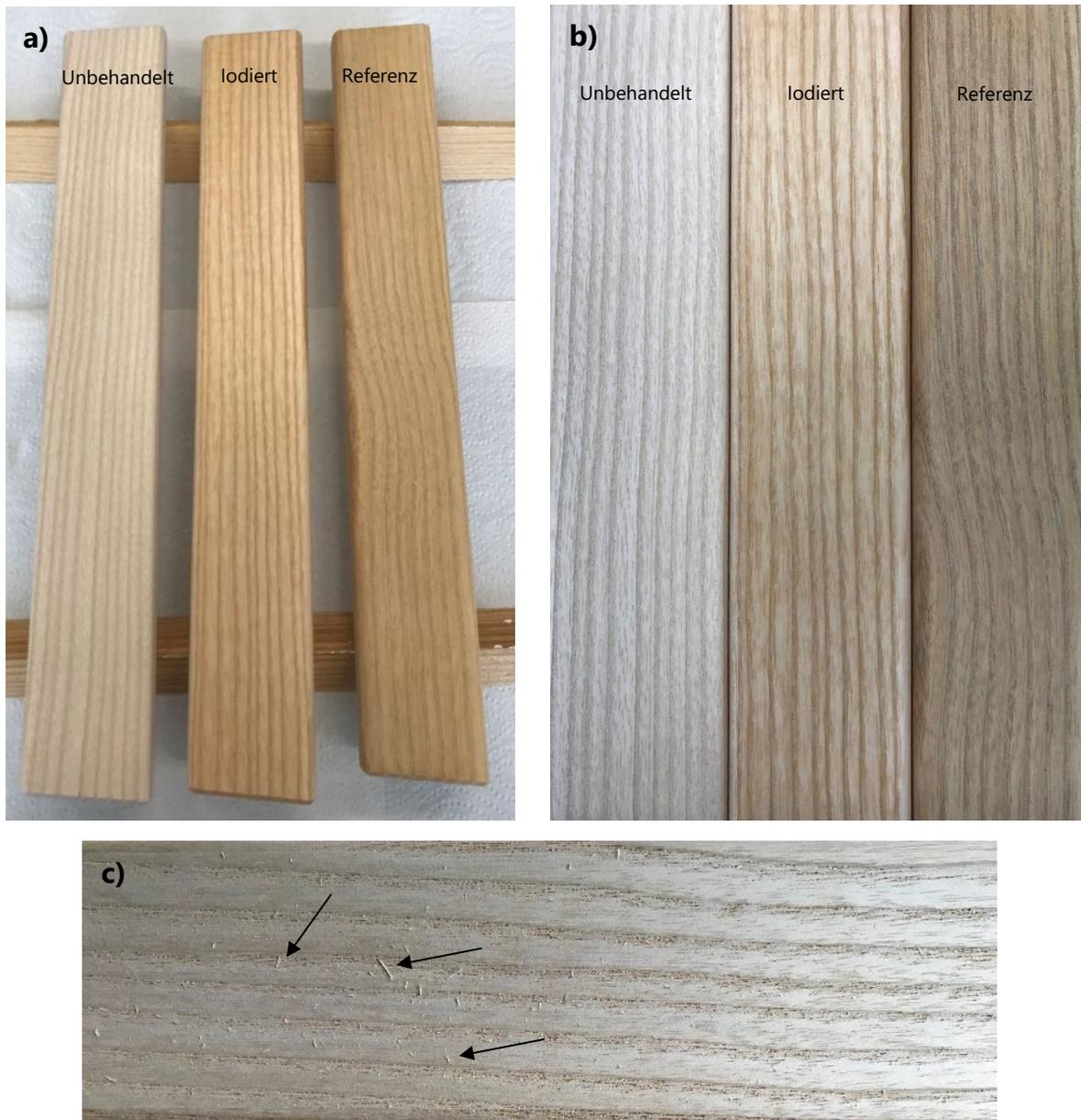
**Schlussfolgerung:** Grundsätzlich ist ein verbesserter Witterungsschutz und verzögerter Bläuebewuchs durch die Laccase-katalysierte Holz-Iodierung möglich. Allerdings ist diese Schutzwirkung abhängig von der Exposition (Wetterseite, geneigte Flächen vs. vertikale Flächen) sowie der Applikationsart (Tauchen und Imprägnieren) und der Iodid-Konzentration. Mittels der Applikationsarten Tauchen (>8h) und Imprägnierung sowie mit einer Iodid-Konzentration von ~200mM wurden die besten Ergebnisse erzielt.

### 3.2 Bau von Demonstratoren

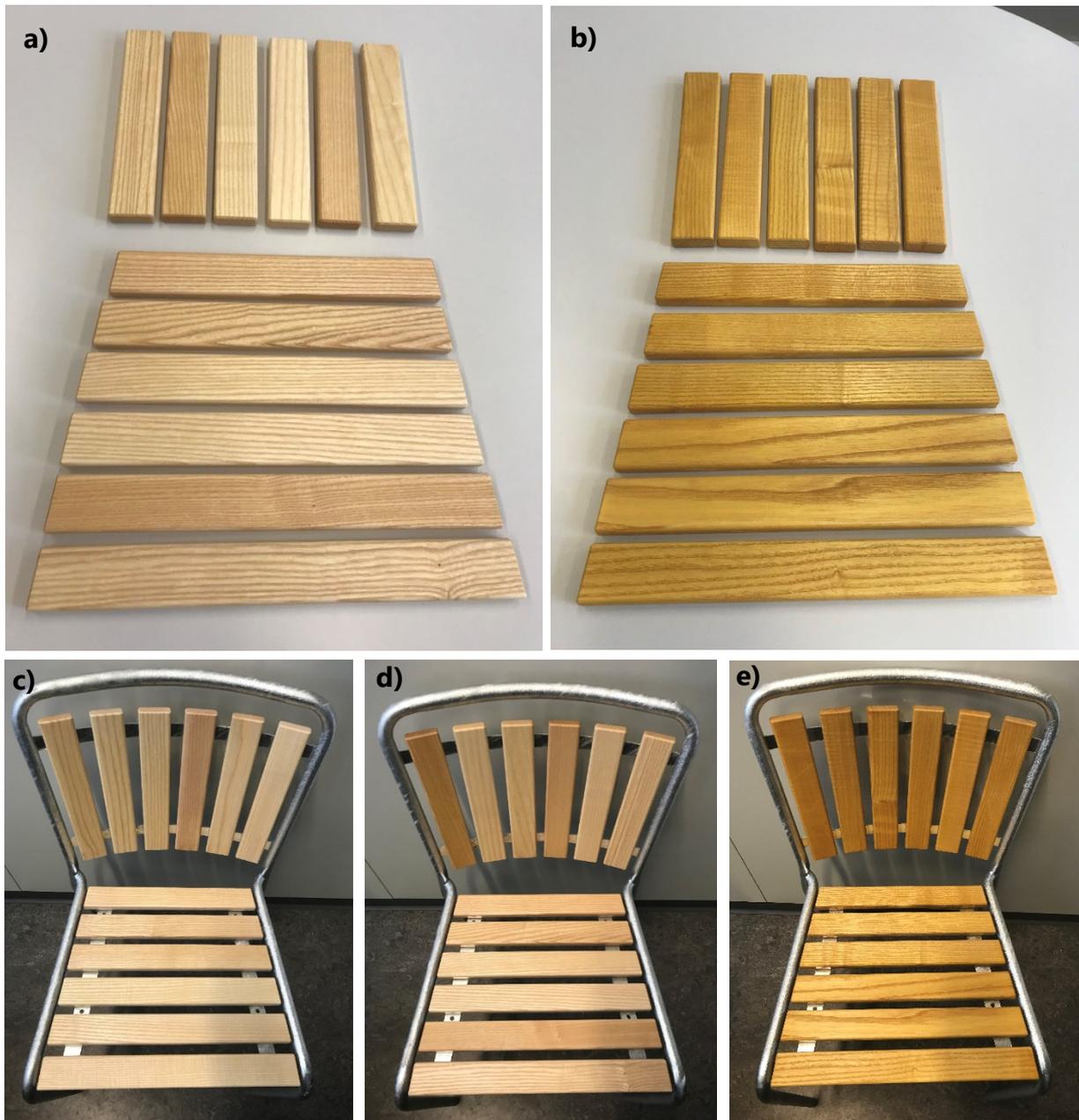
Basierend auf den Ergebnissen der Freilandversuche wurde das Holz für den Bau der Demonstratoren (Haefeli Stuhls<sup>1020</sup>) mit einer Iodid-Konzentration von 200mM behandelt. Obwohl die Behandlungsart Imprägnieren eine bessere Schutzwirkung durch eine verbesserte Tiefenwirkung aufwies, wurde das Holz mittels Tauchen behandelt (Einfachere Handhabung, geringerer Energieeinsatz).

**Beobachtungen:** Die Behandlung führte zu einer Farbänderung und einer Aufrauhung der Holzoberfläche (siehe Abbildung 11 & 12 sowie Tabelle 3 Kapitel 3.3 Materialcharakterisierung). Nach der Fertigstellung und Montage der Stühle konnte die 1. Serie in Freilandversuchen getestet werden. Hier zeigte sich, wie bereits in den Freilandbewitterungstests, dass durch die Laccase-katalysierte Holz-Iodierung eine Verzögerung der Verblauung erzielt werden konnte. Die Rückenlehnen (vertikale Ausrichtung) waren weniger von Bläuepilze befallen als die Sitzflächen. Zudem reagierte das freiverfügbare Iod mit dem Metallgestell des Stuhls zu Iodid. So reagiert Iod mit bspw. Magnesium, Zink und anderen Metallen bei erhöhter Temperatur lebhaft unter Bildung der entsprechenden Iodide. Dies führte zu Salzablagerungen auf dem

Metallgestell des Stuhls. Die technische Umsetzung der Holzbehandlung (Upscaling) kann und sollte noch optimiert werden in Bezug auf Sicherung der Holzqualität sowie Reduzierung des Ressourcen- und Kostenaufwands.



**Abbildung 11: a) & b)** Farbänderung an der iodierten Holzprobe erkennbar. Unbehandelt: Eschenholz ohne Iodierung; Iodiert: Eschenholz behandelt; Referenz: Eschenholz lackiert. **c)** Nach der Holzbehandlung ist eine Aufrauung der Holzoberfläche feststellbar (Pfeile).



**Abbildung 12:** **a)** Unbehandelte Holzproben. **b)** Iodierte Holzproben - jeweils 6 Sitzlatten und 6 Rückenlatten für einen Stuhl. Fertigmontierte Haefeli-Stühle **c)** Unbehandelt. **d)** Referenz (unbehandelt und lackiert). **e)** Behandelt (Laccase-katalysierte Holz-Iodierung).

**Schlussfolgerung:** Das Eschenholz für die Herstellung des Haefeli Stuhls1020 ist grundsätzlich für eine Holz-Iodierung geeignet. Grundsätzlich ist ein verbesserter Witterungsschutz und verzögerter Bläuebewuchs durch die Laccase-katalysierte Holz-Iodierung möglich. Nachbehandlung des behandelten Holzes ist notwendig (Nachschleifen). Um eine Reaktion mit dem Metallgestell des Stuhles zu verhindern ist eine Lackierung der Holzlatten nach der Holzbehandlung zu empfehlen.

### 3.3 Materialcharakterisierung

Die durchgeführten Untersuchungen beziehen sich auf den Ausgangszustand der Holzoberflächen unmittelbar nach der Laccase-katalysierten Holz-Iodierung. Erfasst wurden insbesondere das visuelle Erscheinungsbild, die makro- und mikroskopische Struktur sowie die Farbe der iodierten Holzoberfläche.

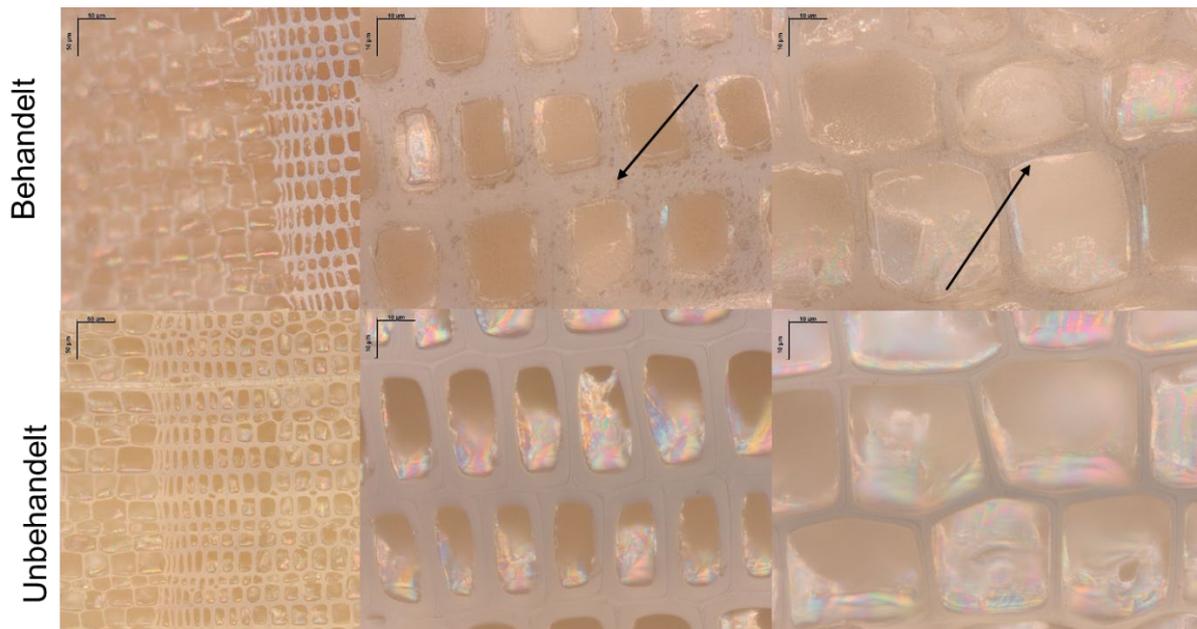
Beobachtungen der Materialcharakterisierung sind in Tabelle 3 sowie in den Abbildungen 13 bis 16 dokumentiert.

#### Farbänderung

**Tabelle 3:** Bestimmung der Farbänderung

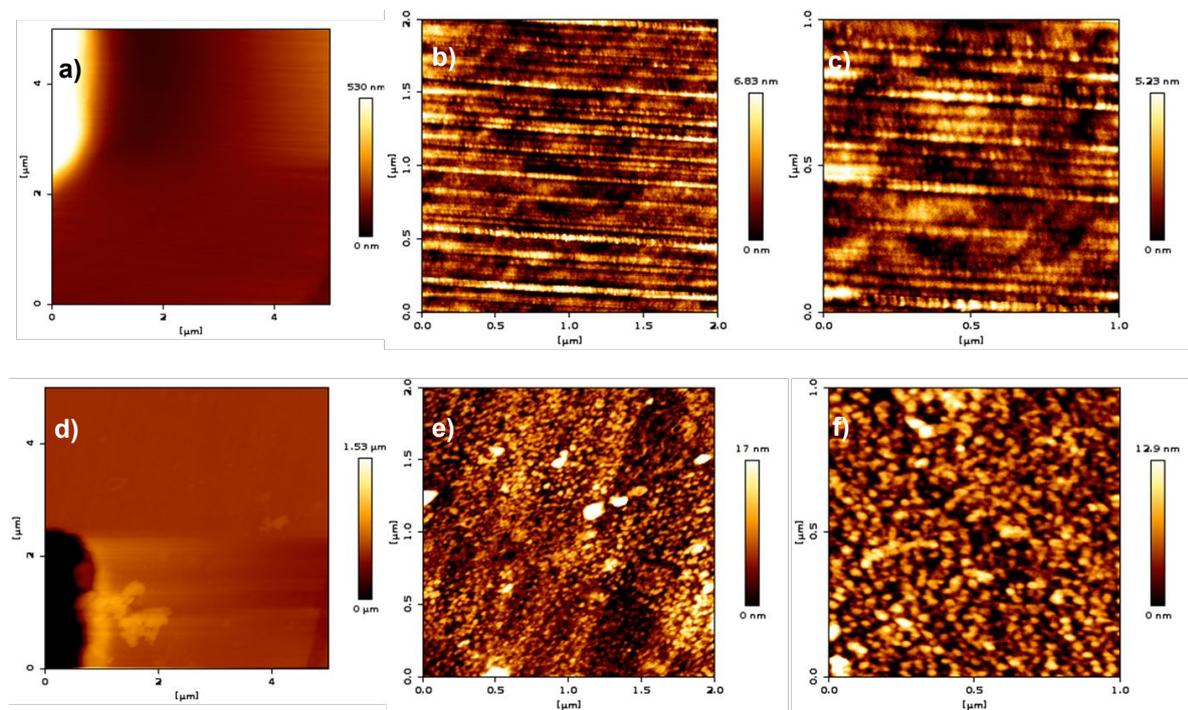
	<b>a</b>	<b>b</b>	<b>L</b>
<b>Referenz 1</b>			
1	4.60	18.52	80.15
2	4.55	18.69	79.81
3	4.36	18.15	80.16
Mittel	4.50	18.45	80.04
<b>Referenz 2</b>			
1	3.81	16.82	80.33
2	4.01	17.92	80.30
3	3.66	16.94	82.27
Mittel	3.83	17.23	80.97
<b>unbehandelt</b>			
1	7.89	29.86	67.69
2	7.71	30.44	69.09
3	7.77	31.76	66.14
Mittel	7.79	30.69	67.64
<b>iodiert 1</b>			
1	3.80	20.84	83.22
2	3.62	29.61	83.72
3	4.67	21.37	81.32
Mittel	4.03	23.94	82.75
<b>iodiert 2</b>			
1	6.33	23.72	76.09
2	6.69	23.54	75.66
3	6.59	23.86	75.87
Mittel	6.54	23.71	75.87

## Mikroskopie



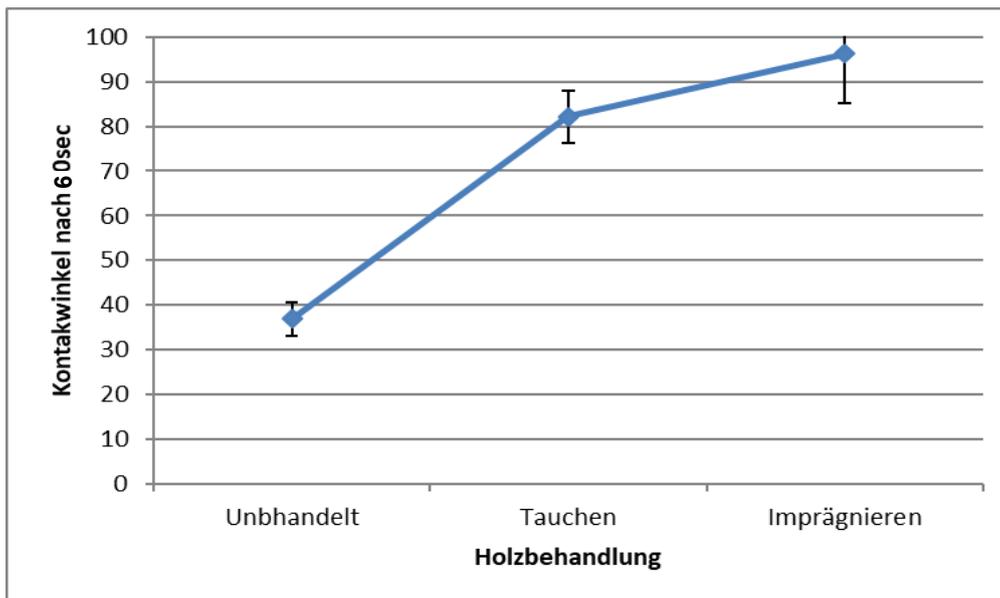
**Abbildung 13:** Die Zellwand ( $S_2$ -Schicht) lässt sich nach der Holzbehandlung Fetteinlagerungen und Strukturveränderungen erkennen. Bei den unbehandelten Holzproben konnten diese Veränderungen nicht festgestellt werden.

## AFM-Atomic Force Microscope



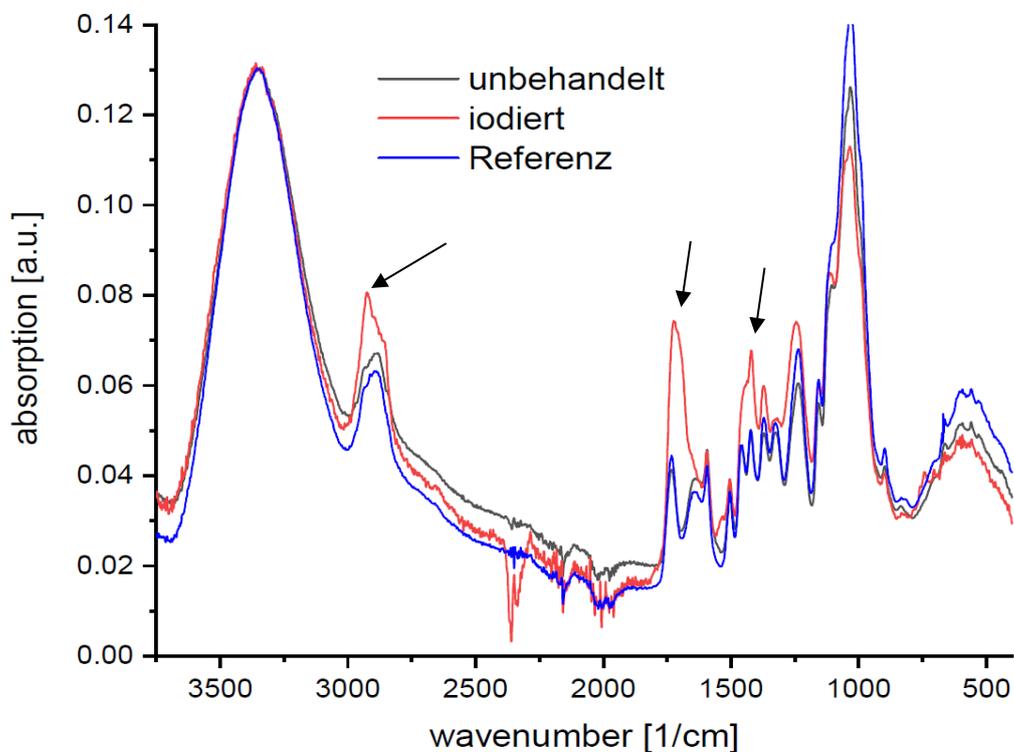
**Abbildung 14:** Atomic Force Microscope: **a-c)** Referenzprobe. **d-f)** Behandeltes Holz mit deutlicher Aufrauhung der  $S_2$ -Zellwand.

## Benetzungseigenschaften



**Abbildung 15:** Kontaktwinkelmessung (Benetzbarkeit). Die iodierten Proben weisen einen deutlich höheren Kontaktwinkel auf. Die iodierten Proben sind demnach hydrophober als die unbehandelte Probe.

## FTIR-Spektroskopie



**Abbildung 16:** Die iodierten Holzproben weisen spezifische Peaks auf, was auf eine chemische Modifikation der Holzstruktur hinweist.

**Schlussfolgerung:** Wie bereits im Kapitel 3.2 erwähnt, führte die Laccase-katalysierte Holz-Iodierung zu einer Farbänderung. Die Proben wiesen einen gelblich-orangen Ton auf der auch quantifiziert werden konnte (Tabelle 3).

Eine Veränderung der verschiedenen Holzbestandteile (v.a. Lignin) durch eine Laccase-katalysierte Holz-Iodierung wurde mittels FTIR (Fourier Transform Infrared Spektroskopie) untersucht. Die Beobachtungen lassen auf eine durch die Behandlungen herbeigeführte chemische Reaktion der Holzbestandteile schliessen. Wie in Abbildung 16 gut zu erkennen ist, wurden die Extinktionsspektren u.a. im Bereich der Wellenzahlen 1718-1715, 1666-1659, 1602-1594, 1510-1507 und 1421 verändert. Bei diesen Wellenzahlen absorbieren v.a. Lignin und C=O Gruppen. Die Veränderung der Extinktionswerte scheint somit durch Lignin, welches durch die Behandlungen modifiziert wurde, bedingt zu sein.

Die mikroskopischen Untersuchungen zeigten ebenfalls einen Effekt der Holzbehandlung auf die Zellstruktur. So wiesen die behandelten Proben neben Fetteinlagerungen auch Veränderungen (Aufrauhung) der Zellwand (S<sub>2</sub>-Schicht) auf. Insbesondere die Fetteinlagerungen (Grund für dieses Phänomen sind nicht bekannt) können eine Erklärung sein, warum die iodierten Holzproben eine geringere Benetzbarkeit (leicht erhöhten hydrophoben Effekt) aufweisen.

## Fazit

Die durchgeführten, umfangmässig beschränkten Untersuchungen sind in erster Linie als Machbarkeitsstudie zu verstehen. Je nach Ausrichtung einer allfälligen Umsetzung müssen diese noch durch weitere spezifische Untersuchungen ergänzt werden.

## Gesamtbeurteilung

Bezüglich der Hauptziele des Projektes ergibt sich aus den Ergebnissen folgende Beurteilung:

1. Demonstration der Machbarkeit einer gezielten Iodierung von Holzoberflächen.
  - Eine effektive und umweltverträgliche Oberflächenbehandlung von Eschenholz durch eine gezielte Laccase-katalysierte Holz-Iodierung ist grundsätzlich möglich. Iodierte Holzproben zeigen eine deutliche reduzierte Verblauung (Freilandbewitterung).
2. Bau von Demonstratoren für das NEST-Modul Vision Holz
  - Es konnte gezeigt werden, dass eine Iodierung des Eschenholzes, welches für den Bau des Haefeli Stuhls<sup>1020</sup> (45 x 51 x 77 cm, B x T x H; Designer Max Ernst Haefeli,

1938) verwendet wird uneingeschränkt möglich ist. Allerdings ist eine Nachbehandlung des Holzes (schleifen) und eine Lackierung zu empfehlen. Zudem ergibt sich durch die Behandlung ein veränderter Farbton.

3. Erarbeitung der Grundlagen für eine industrielle Umsetzung (z.B. in einem KTI-Projekt).

- Bezüglich Hochskalierung des Iodierungsprozesses erfolgte im Projekt ein erster Schritt mit grösseren Proben und Inkubationsgefässen (Behandlung der Eschenholzlatten).
- Neben Tauchen wurde die Behandlungsart Imprägnieren getestet. Obwohl mit der Behandlungsart Imprägnieren des Holzes mit einer Reaktionslösung (200mM Iodid) die besten Ergebnisse in Bezug auf einen Witterungsschutz erzielt werden konnte, ist die Behandlungsart Tauschen am wirtschaftlichsten (geringerer Anlagen- und Energieaufwand)

### **Umsetzung / Forschungsbedarf**

Für die Weiterentwicklung der Laccase-katalysierten Holz-Iodierung für den Witterungsschutz von Holzoberflächen bedürfen folgende Punkte noch einer eingehenderen Untersuchung:

- Standardisierung und Beschleunigung des Behandlungsprozesses (inkl. Verminderung der Aufrauung und der Farbänderung)
- Weitere Hochskalierung zu grösseren Abmessungen unter Berücksichtigung des Kosten- und Ressourceneinsatzes
- Weiterentwicklung und Optimierung der Laccase-Iodid Rezeptur (Einbezug Ergebnisse aus laufendem Projekt).

## Literaturverzeichnis

1. Anastas, P., Eghbali, N. (2010) Green Chemistry: Principles and Practice. Chem Soc Rev. 39:301-312.
2. Choi, S., McComb, J.G., Levy, M.L., Gonzalez-Gomez, I., Bayston, R. (2003) Use of elemental iodine for shunt infection prophylaxis. Neurosurgery. 52:908-912.
3. Ihssen, J., Schubert, M., Thöny-Meyer, L., Richter, M. (2014) Laccase catalyzed synthesis of iodinated phenolic compounds with antifungal activity. Plos One. 9:e89924.
4. Kalia, S., Thakur, K., Kumar, A., Celli, A. (2014) Laccase-assisted surface functionalization of lignocellulosics. J Mol Catal B: Enzym. 102:48-58.
5. Kudanga, T., Nyanhongo, G.S., Guebitz, G.M., Burton, S. (2011) Potential applications of laccase-mediated coupling and grafting reactions: A review. Enz Microb Technol. 48:195-208.
6. Kudanga, T., Prasetyo, E.N., Sipilä, J., Nousiainen, P., Widsten, P., Kandelbauer, A., Nyanhongo, G.S., Guebitz, G. (2008) Laccase-mediated wood surface functionalization. Eng Life Sci. 8:297-302.
7. Kulys, J., Bratkovskaja, I., Vidziunaite, R. (2005) Laccase-catalysed iodide oxidation in presence of methyl syringate. Biotechnol Bioeng. 92:124-128.
8. Leonowicz, A., Cho, N.S., Luterek, J., Wilkolazka, A., Wojtas-Wasilewska, M., Matuszewska, A., Hofrichter, M., Wesenberg, D., Rogalski, J. (2001) Fungal laccase: properties and activity on lignin. J Basic Microbiol. 41:185-227.
9. Mai, C., Militz, H. (2007) Wood preservatives. In: Wood production, wood technology, and biotechnological impacts. Kües, U. Universitätsverlag, Göttingen. pp. 259-271.
10. Schubert, M., *Fungal laccases as a tool for wood functionalization*, in *Proceedings IRG Annual Meeting, IRG/WP 13-205332013*: Stockholm, Sweden. p. 8 pp.
11. Schubert, M., Engel, J., Thöny-Meyer, L., Schwarze, F.W.M.R., Ihssen, J. (2012) Protection of wood from microorganisms by laccase-catalyzed iodination. Appl Environ Microbiol. 78:7267-7275.
12. Schubert, M., Fey, A., Ihssen, J., Civardi, C., Schwarze, F.W.M.R., Mourad, S. (2015a) Prediction and optimization of the laccase-mediated synthesis of the antimicrobial compound iodine (I<sub>2</sub>). J Biotechnol. 193:134-136.
13. Schubert, M., Ruedin, P., Civardi, C., Richter, M., Hach, A., Christen, H. (2015b) Laccase-Catalyzed Surface Modification of Thermo-Mechanical Pulp (TMP) for the Production of Wood Fiber Insulation Boards Using Industrial Process Water. Plos One. 10:e0128623.
14. Straub, C.P., Murthy, G.K., Campbell, J.E. (1966) Iodine-131 in foods. Residue reviews. 13:33-68.
15. Xu, F. (1996) Catalysis of novel enzymatic iodide oxidation by fungal laccase. Appl Biochem Biotechnol. 59:221-230.

Hiermit bestätige ich die Richtigkeit und Vollständigkeit dieses Zwischenberichts

Ort, Datum: Dübendorf, 01.12.2021

Hauptgesuchsteller/Projektleiter: Dr. Mark Schubert

