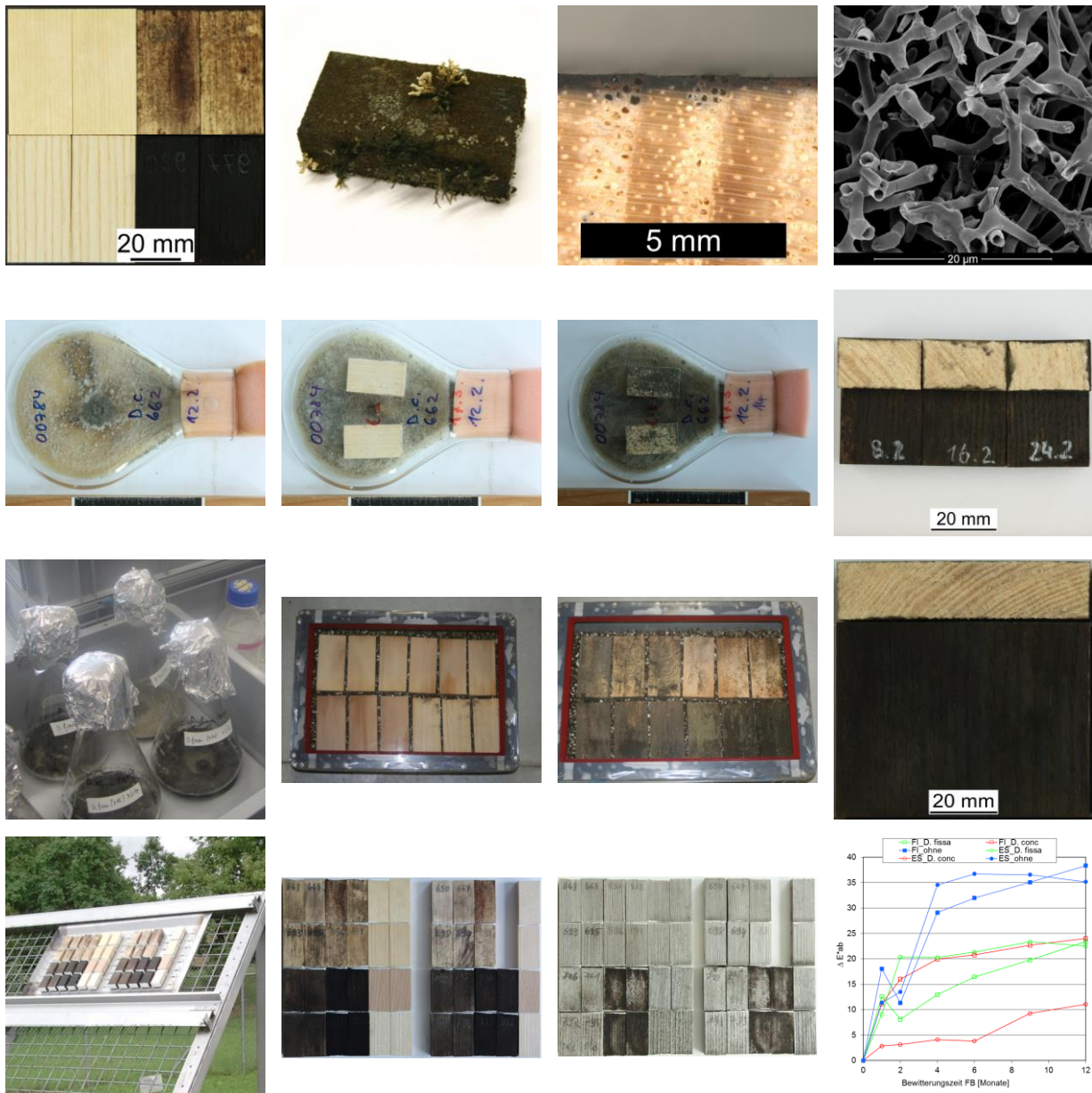


WHFF-Projekt Nr. 2013.04

# Verbesserter Witterungsschutz von Holzoberflächen mittels Pilzmelanin

Wissenschaftlicher Schlussbericht



Kontakt:

Martin Arnold  
Empa, Angewandte Holzforschung  
Überlandstr. 129  
8600 Dübendorf

Tel.: 058 / 765 46 83 (direkt)  
E-Mail: [martin.arnold@empa.ch](mailto:martin.arnold@empa.ch)

# Inhalt

Zusammenfassung .....	2
1 Grundlagen.....	3
1.1 Projektidee.....	3
1.2 Aktueller Wissensstand.....	4
1.2.1 Literatur .....	4
1.2.2 Vorarbeiten .....	5
1.3 Projektplan.....	7
1.3.1 Ziele.....	7
1.3.2 Bedeutung des Projektes für Forschung und Praxis.....	7
1.3.3 Thematische Eingliederung in die Schwerpunkte des WHFF.....	7
1.3.4 Projektorganisation.....	7
1.3.5 Zeitplan.....	8
2 Untersuchungsprogramm .....	9
2.1 Melanisierung von Holzoberflächen.....	10
2.1.1 Gezielte Besiedelung durch Schwärzepilze .....	10
2.1.2 Optimierungsansätze .....	11
2.1.3 Behandlung mit Melanin-Lösung.....	11
2.2 Ergänzende Oberflächenbehandlungen .....	12
2.3 Materialcharakterisierung .....	12
2.3.1 Struktur / Morphologie .....	12
2.3.2 Oberflächeneigenschaften .....	12
2.3.2.1 Farbe .....	12
2.3.2.2 Glanz .....	12
2.3.2.3 Benetzungsverhalten .....	13
2.3.3 Witterungsbeständigkeit .....	13
2.4 Versuchsreihen.....	13
3 Ergebnisse.....	15
3.1 Melanisierung von Holzoberflächen.....	15
3.1.1 Gezielte Besiedelung durch Schwärzepilze .....	15
3.1.2 Optimierungsansätze .....	17
3.1.3 Behandlung mit Melanin-Lösung.....	25
3.2 Charakterisierung der melanierten Holzoberflächen.....	26
3.3 Witterungsbeständigkeit der melanierten Holzoberflächen .....	29
4 Schlussfolgerungen.....	38
4.1 Gesamtbeurteilung.....	38
4.2 Umsetzung / Forschungsbedarf.....	39
Literatur .....	40
Normen .....	41

## Zusammenfassung

Mit dem Projekt wird angestrebt, die hervorragende UV-Schutzwirkung von Pilzmelanin für einen neuartigen Witterungsschutz für naturbelassene Holzoberflächen im Aussenbereich zu nutzen. Der Witterungsschutz basiert auf einer intensiven Melanisierung der Holzoberfläche durch eine gezielte Besiedlung mit Lebkulturen von speziellen Pilzarten sowie alternativ durch Behandlung mit einer konzentrierten wässrigen Melanin-Lösung.

### Vorgehensweise

Die Holzoberflächenbesiedlung mit Lebkulturen erfolgte in mehrwöchigen Inkubationen im Labormassstab entweder in Kolleschalen aus Glas oder in Kunststoffboxen mit Malzagar oder Vermiculit als Nähr- resp. Feuchtigkeitssubstrat. Die wässrige Melanin-Lösung konnte auf biotechnologischem Weg relativ günstig und in grösseren Mengen gewonnen werden und wurde mit dem Pinsel aufgetragen.

Die Materialcharakterisierung fokussierte anwendungsbezogen (Holzfassaden) auf die Struktur der melanierten Holzoberflächen, ausgewählte Oberflächeneigenschaften sowie auf das Verwitterungsverhalten.

### Ziele und Ergebnisse

#### **Ziel 1. Demonstration der Machbarkeit einer gezielten Melanisierung von Holzoberflächen**

- Die Melanisierung von Holzoberflächen durch eine gezielte Besiedelung mit Lebkulturen von geeigneten Schwärzepilzen ist grundsätzlich möglich. Vollständig melanierte Oberflächen haben einen homogenen dunklen (schwarzen) Farbton.
- Die eingesetzten Pilze unterscheiden sich bezüglich Wachstumsgeschwindigkeit und Intensität der Melanisierung. Das Pilzwachstum ist generell langsam und eine wirksame Melanisierung benötigt Wochen bis Monate.

#### **Ziel 2. Quantifizierung der Schutzwirkung respektive der Erhöhung der Witterungsbeständigkeit**

- Die Melanisierung der Holzproben erfolgt rundum in einer oberflächennahen Schicht von bis zu 1 mm Dicke.
- Bei einer genügend starken Melanisierung zeigen die Holzoberflächen eine hervorragende Witterungsbeständigkeit.

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

- Bezüglich Hochskalierung des Inkubationsprozesses erfolgte im Projekt ein erster Schritt mit grösseren Proben und Inkubationsgefässen.
- Der Wachstums- resp. Melanisierungsprozess muss überwacht werden können, um den optimalen Abbruchzeitpunkt zu bestimmen. Dies wurde bei den durchgeführten Laborinkubationen durch den Einbau einer Glasscheibe in den Deckeln der Kunststoffboxen realisiert.
- Zur Beeinflussung der Wachstumsgeschwindigkeit wurden verschiedene Optimierungen getestet. Die Ergebnisse zeigen, dass eine Beschleunigung nur beschränkt möglich zu sein scheint. Unklar ist zudem auch noch, ob ein schnelleres Pilzwachstum überhaupt zu einer besseren Melanisierung führt.

# 1 Grundlagen

## 1.1 Projektidee

Eine geeignete Holzartenwahl und Detailausbildung vorausgesetzt, ist Holz auch bei einer Aussenanwendung (ohne Erdkontakt) ein sehr dauerhaftes Baumaterial. Eine naturbelassene Holzoberfläche ist jedoch nicht witterungsbeständig und unterliegt bei einer Bewitterung ästhetischen Veränderungen und dem Abbau durch fotochemische, physikalische und biologische Prozesse. Zu deren Verhinderung respektive Verminderung sind wirksame Schutzmassnahmen nötig, welche in der Regel eine Kombination von Licht- und Feuchteschutz bedingen, eventuell ergänzt durch Wirkstoffe gegen einen Befall durch Mikroorganismen. Angestrebt wird dies zum einen durch konstruktive und materialtechnische Massnahmen, zum anderen durch Oberflächenbehandlungen oder Beschichtungen. Es ist dabei generell zu beachten, dass die Bewitterung eine komplexe und extreme Beanspruchung darstellt und ein wirksamer Witterungsschutz sehr anspruchsvoll ist.

Der Lichtschutz wird bei einer filmbildenden Beschichtung mit organischen (UV-Absorber, Radikalfänger) oder anorganischen Lichtschutzmitteln (Pigmente) erreicht. Bei pigmentierten Beschichtungen sind damit gleichzeitig auch vielfältige Möglichkeiten zur gezielten Farbgebung vorhanden. Bei transparenten oder wenig filmbildenden Behandlungen ist ein wirksamer Lichtschutz generell schwierig zu erzielen. Ein Feuchteschutz kann durch eine hydrophobe Behandlung oder die Sperrwirkung des Beschichtungsfilms erreicht werden. Gegen den Befall von Mikroorganismen werden häufig Biozide eingesetzt.

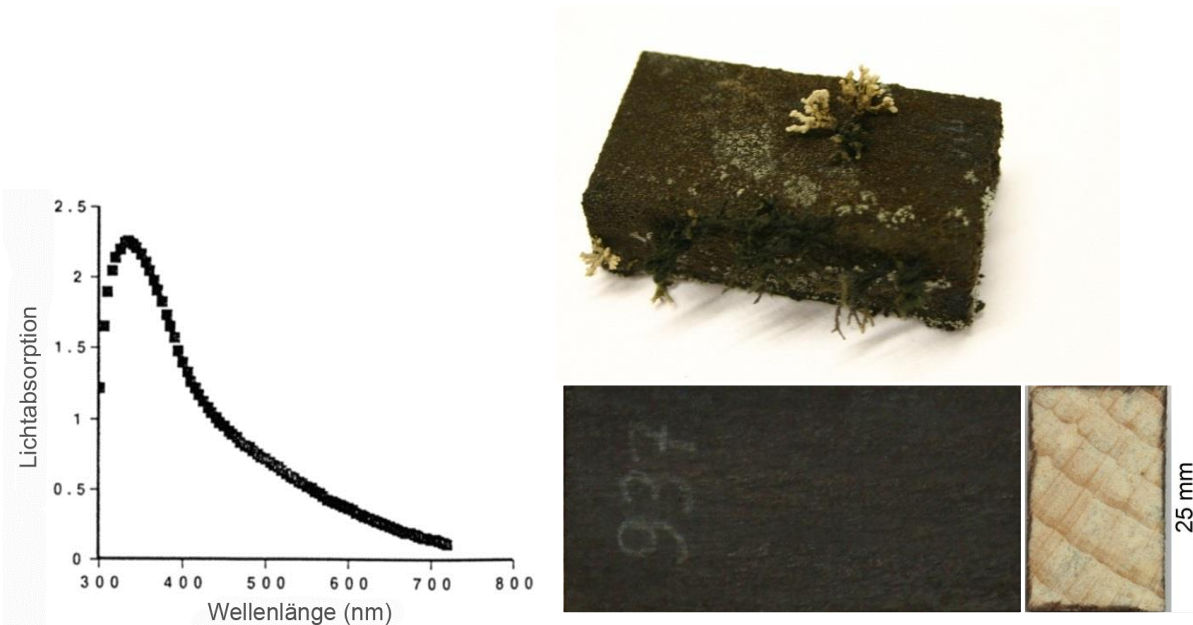
Insbesondere bezüglich Lichtschutz finden sich auch in der Natur einige Konzepte und Substanzen, welche einen Schutz vor UV-Strahlen bieten. So z.B. Melanine, welche beim Menschen, in Wirbeltieren und Insekten, als Farbmittel in der Tinte von Tintenfischen und auch in Mikroorganismen und Pflanzen vorkommen. Melanine sind rötliche, braune oder schwarze Pigmente, die durch die enzymatische Oxidation des Tyrosins entstehen (enzymatische Bräunung) und die die Färbung der Haut, Haare, Federn und Augen bewirken (ausser bei Albinismus). Gebildet wird Melanin bei Wirbeltieren in den Melanozyten der Haut sowie in der Netzhaut und Iris des Auges. Aus verschiedenen Untersuchungen ist bekannt, dass Melanin ein sehr effizienter UV-Absorber ist (Bild 1, links).

Auf der Holzoberfläche wachsende Pilze produzieren zu ihrem Schutz oft ebenfalls Melanine. Bei einer Bewitterung führt dies, zusammen mit der Farbe des abgebauten Lignins, zur bekannten dunklen Verfärbung der Holzoberflächen. Genau diese Effekte werden bei gewissen Verfahren zur Vorvergrauung bereits bewusst ausgenutzt. So z.B. bei biood® (Schilliger Holz), wo mittels einer UV-Bestrahlung und Schimmelpilz-Applikation der Verwitterungsprozess vorweg genommen wird. Das behandelte Holz erhält dank einer natürlichen Vorvergrauung ohne Farbstoffe eine gleichmässige Patina. Da die verwendeten Schimmel- und Bläupilze das Holzsubstrat jedoch nicht oder nur sehr geringfügig abbauen, ist die Menge des gebildeten Melanins auf der Holzoberfläche gering. Der Verwitterungsprozess kann somit nur kurzfristig beeinflusst werden.

Als weiterführende Idee zur Verbesserung der Witterungsbeständigkeit wird deshalb die gezielte, wesentlich stärkere Melanisierung der Holzoberflächen durch geeignete Pilzarten vorgeschlagen. Eine bislang wenig untersuchte taxonomische Gruppe von holzbewohnenden Pilzarten, die auf der Holzoberfläche sehr grosse Mengen von Melanin bilden, sind pyrophile (feuerliebende) Pilze.

Die Idee für dieses Projekt entstand anlässlich eines früher durchgeführten WHFF-Projektes (2008.06, Dauerhaftigkeit von thermisch modifiziertem Holz (TMT) gegenüber pyrophilen Pilzen). Dort wurde beobachtet, dass verschiedene pyrophile Pilze die nicht-modifizierten Referenzproben aus Laub- und Nadelholz besiedeln und die Holzoberfläche mit einer dicken Melaninschicht homogen überzogen (Bild 1, rechts). Die Besiedlung bewirkte lediglich einen beschränkten Holzabbau sowie eine dunkle respektive schwarze Färbung der Holzoberfläche. Auf Grund der homogenen Besiedlung des Holzes und der grossen Mengen von gebildetem Melanin auf der Holzoberfläche erschien die gezielte Melanisierung durch pyrophile Pilze als ein vielversprechender Ansatz zum Witterungsschutz von Holz.

**Bild 1:** Links: Das Lichtabsorptionsspektrum von Melanin ist im UV-Bereich (300–400 nm) am stärksten (Quelle: <http://www.cl.cam.ac.uk/~jgd1000/melanin.html>, 04.03.2013). Rechts: Buchenholzprobe, welche für 16 Wochen inkubiert wurde und von einer homogenen, dicken Melaninschicht (500  $\mu\text{m}$  - 1 mm) überzogen ist (oben: mit gewachsenem Pilzmyzel, unten: gereinigte Oberfläche und Melaninschicht im Querschnitt)



## 1.2 Aktueller Wissensstand

### 1.2.1 Literatur

Eine Anwendung von Melanin im Holzoberflächenschutz ist bisher nicht bekannt. Hingegen gibt es viele Untersuchungen über Bildung und Funktion des Melanins in Organismen, welche insbesondere auf eine bedeutende Rolle beim Schutz vor schädigender UV-Strahlung hinweisen.

#### **Holzfärbung mit pilzlichen Pigmenten**

Eine bereits seit längerem genutzte Anwendung der färbenden Wirkung von pilzlichen Pigmenten ist unter dem Begriff 'Spalting' bekannt. Diese wurde vor allem bei Laubhölzern zur Erzielung von speziellen Farb- und Struktureffekten untersucht (Robinson et al. 2007). Dabei sind durchaus auch bunte Farbtöne möglich. Dazu werden sowohl natürlich vorkommende Verfärbungen als auch eine gezielte Besiedelung des Holzes durch geeignete Pilze eingesetzt. Allerdings ist die Intensität der Färbung und deren Beständigkeit unter UV Licht meist beschränkt (Greeley Beck et al. 2014).

#### **Melanin**

(teilweise aus <http://de.wikipedia.org>, Stichwort: Melanine)

Melanin ist ein in der Natur weit verbreitetes multifunktionelles Polymer in Form eines Pigmentes mit dunkelbrauner bis schwarzer Farbe. Melanin ist dabei ein Oberbegriff für eine ganze Gruppe von Pigmenten, die alle unterschiedliche Ursprünge haben (Menschen, Tiere, Pilze, Bakterien, Pflanzen).

Bisher sind drei Hauptformen des Pigments bekannt: Eumelanine werden hauptsächlich durch einen sehr komplexen Polymerisations-Prozess von Chinonen und freien Radikalen gebildet, Phaeomelanine entstehen aus Tyrosin- und Cystein-Molekülen und Allomelanine werden aus freien Stickstoff-Vorstufen synthetisiert (Hamilton und Gomez 2003). Melanine sind sehr stabile Moleküle (Jacobson 2000) mit typischen Eigenschaften, wie die Unlösbarkeit in Wasser oder organischen Lösungsmitteln, eine heterogene Struktur, die Widerstandskraft gegen heisse, konzentrierte Laugen oder heisse Säuren, die Bleichwirkung von Oxidantien und eine ausgezeichnete Kationenaustauschkapazität. Melanine sind hydrophob und negativ geladen. Sie bieten somit u.a. einen Schutz vor UV-Strahlung, flüssigem Wasser, Oxidantien und Radikalen.

Bei Menschen tritt Melanin in der Haut und den Haaren als Mischform aus braun-schwärzlichen Eumelaninen und den helleren, gelblich-rötlichen Phaeomelaninen auf (Fetzner 2012). Das Mischungsverhältnis dieser beiden Melanintypen ist mitbestimmend für den Hauttyp eines Menschen. Dabei ist der Gehalt an schwefelhaltigem Phäomelanin in tiefrotem Haar besonders hoch und nimmt über braune und schwarze Haare hin ab. Es gibt auch andersfarbige Varianten, sogenannte Allomelanine, die aus Hydroxybenzolen entstehen. Diese finden sich vorwiegend in Pflanzen, Pilzen und Bakterien. Fast immer treten die Melanine als Mischtypen auf und sind zusätzlich mit Lipiden oder Eiweiss verknüpft.

Die Melaninbildung wird durch UVB-Strahlung angeregt und dient vermutlich dem Schutz vor dem schädlichen Einfluss der UV-Strahlung der Sonne. Eines der Hauptargumente für die UV-Schutzfunktion ist die Beobachtung, dass stark pigmentierte Bevölkerungsgruppen in geringerem Maße an sonneninduziertem Hautkrebs ('Melanom') erkranken als schwächer pigmentierte. Inzwischen sind auch die photochemischen Prozesse, welche Melanin zu einem hervorragenden UV-Filter machen, untersucht worden. Es wurde gezeigt, dass Melanin mehr als 99.9 % der Strahlungsenergie in harmlose Wärme umwandelt (Meredith et al. 2004).

### **Schwärzepilze und Melanin**

Unter den Mikroorganismen sind die sogenannten Schwärzepilze die grössten Erzeuger von Melanin. Die Bezeichnung Schwärzepilze rührt daher, dass sich die Sporen und auch Teile der Hyphen durch Bildung von Melanin braun bis schwarzbraun färben (Roth 1990). Dies bewirkt die dunkle Färbung des Organismus und dient dem Schutz vor UV-Strahlung. Die Schwärzepilze wurden bisher in einer zu den Fungi Imperfecti gehörenden Familie Dematiaceae zusammengefasst. Inzwischen konnte man allerdings den meisten Arten eine Hauptfruchtform (Teleomorphe, geschlechtliche Form) zuordnen (Rotem 1998). Dadurch wurden die meisten Schwärzepilzgattungen der Familie Pleosporaceae zugeordnet, während die Teleomorphen der Cladosporium-Arten zur Gattung Mycosphaerella in der Familie Mycosphaerellaceae und damit zu den Russtaupilzartigen gehören. Arten, deren Hauptfruchtform keine Mycosphaerella-Art ist, werden dementsprechend nicht mehr zur Gattung Cladosporium gezählt (Rotem 1998).

Schwärzepilze sind sehr stresstolerant. Ihre dicke Zellwand, in der sich das Pigment Melanin befindet, sowie eine kompakte Koloniestruktur, machen sie resistent gegen Hitze, Austrocknung, Kälte und UV-Strahlung (Butler et al. 1998, Tsuji et al. 2000, Kihara et al. 2008). Diese auch extremotolerant genannten Organismen findet man deshalb in vielen Regionen der Erde, welche sich durch extreme Lebensbedingungen auszeichnen. Sie gelten auch als Pioniere der Besiedlung von festen Oberflächen, die mit Luft in Berührung kommen.

### **1.2.2 Vorarbeiten**

Die Verbesserung der Witterungsbeständigkeit von Holz im Aussenbereich ist seit vielen Jahren eine Kernkompetenz der Abteilung Angewandte Holzforschung (Arnold 2003). Diesbezügliche Forschungsschwerpunkte sind dabei unter anderem die Charakterisierung des Verwitterungsprozesses, die Feuchteschutzwirkung von Beschichtungen sowie die Beziehung zwischen Oberflächeneigenschaften und Leistungsmerkmalen von Beschichtungen (Arnold et al. 2007, 2010, 2011). Einen Forschungsschwerpunkt der Arbeitsgruppe 'Bio-engineered Wood' bilden biotechnologische Verfahren, in welchen Pilze als Nützlinge bei der Holzveredelung eingesetzt werden (Schwarze et al. 2006, 2008a+b, Lehringer 2011).

Erste Erfahrungen mit melanisierenden Pilzen sind aus dem bereits erwähnten WHFF-Projekt 2008.06 vorhanden. In einem orientierenden Vorversuch wurden zudem melanisierte Holzoberflächen von Fichten- und Eschenholzproben während 1500h künstlich bewittert. Dabei zeigte sich insbesondere bei den Eschenholzproben eine hervorragende Lichtstabilität der melanisierten Oberflächen (Bilder 2 und 3). Die Gesamtfarbänderung  $\Delta E^*_{ab}$  blieb mit einem Wert von  $<5$  in einem von Auge kaum wahrnehmbaren Bereich. Bei den Fichtenholzproben war die Schutzwirkung aufgrund des geringeren Melanisierungsgrades weniger deutlich.

Bild 2: Erscheinungsbild von melanisierten Fichten- und Eschenholzproben vor (obere Reihe) und nach 1500h künstlicher Bewitterung gemäss EN 927-6 (untere Reihe)

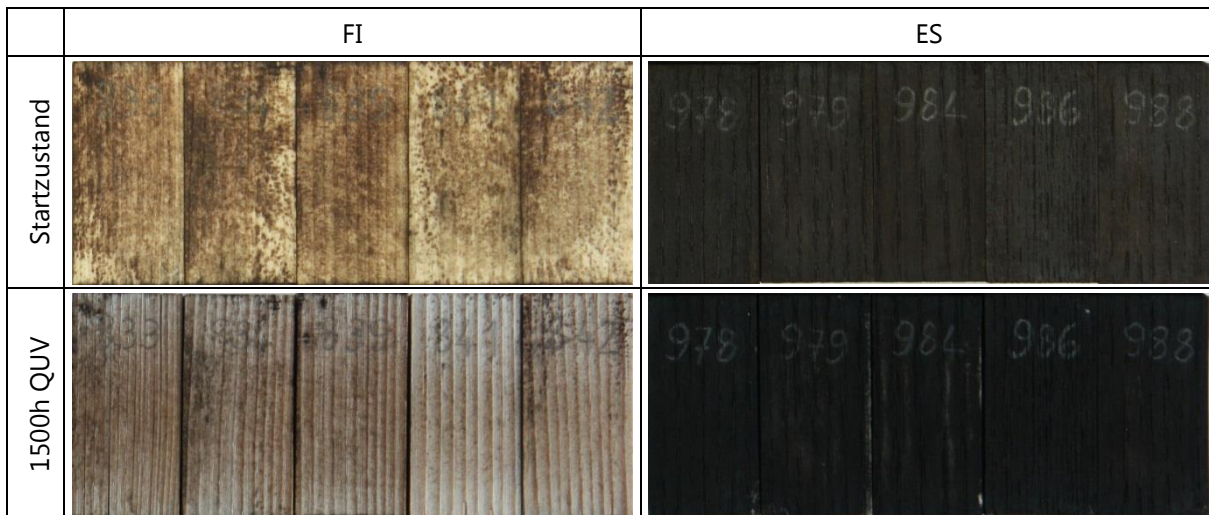
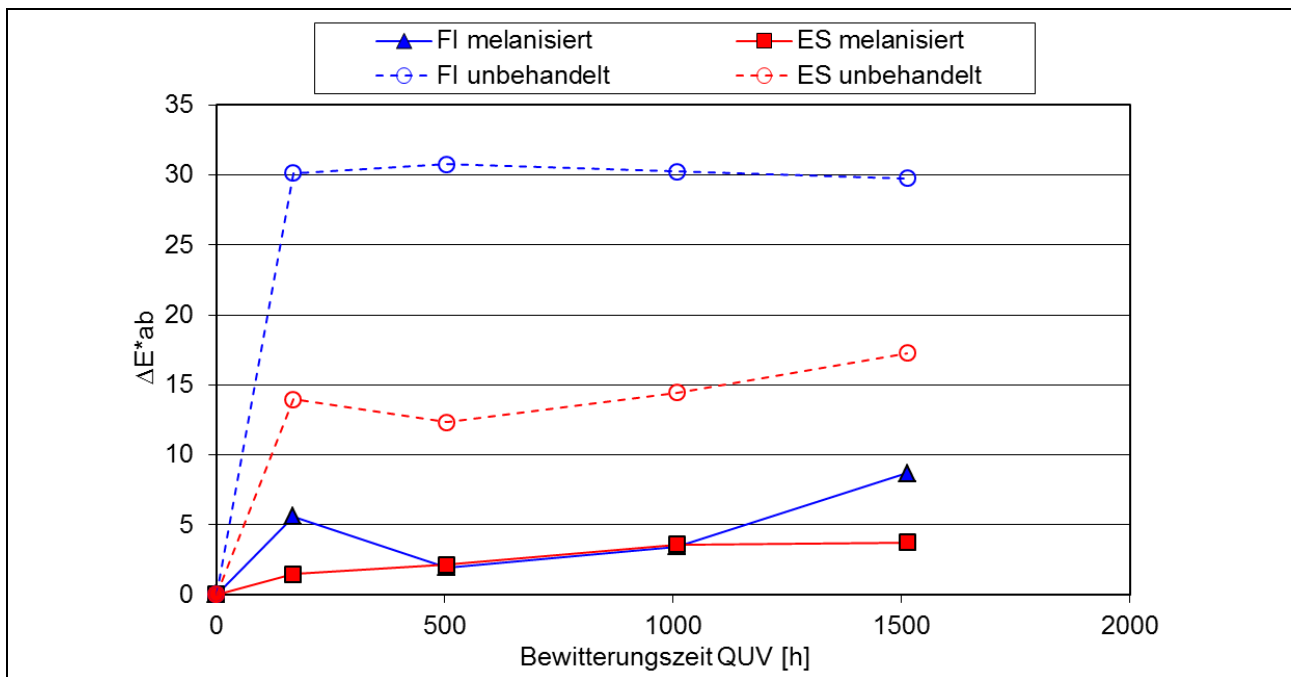


Bild 3: Gesamtfarbänderung  $\Delta E^*_{ab}$  von melanisierten Fichten- und Eschenholzproben (ausgezogene Linien) im Vergleich zu Erfahrungswerten von unbehandelten Proben (gestrichelte Linien) während einer künstlichen Bewitterung gemäss EN 927-6



## 1.3 Projektplan

### 1.3.1 Ziele

Mit dem Projekt soll basierend auf Pilzmelanin ein neuartiger, natürlicher Witterungsschutz für naturbelassene Holzoberflächen im Aussenbereich entwickelt werden.

Die Hauptziele sind:

1. Demonstration der Machbarkeit einer gezielten Melanisierung von Holzoberflächen
2. Quantifizierung der Schutzwirkung respektive der Erhöhung der Witterungsbeständigkeit
3. Erarbeitung der Grundlagen für eine industrielle Umsetzung (z.B. in einem KTI-Projekt).

### 1.3.2 Bedeutung des Projektes für Forschung und Praxis

Ein wirksamer und dauerhafter Oberflächenschutz ist ein entscheidender Faktor für die Verwendung von Holz im Aussenbereich. Von der erfolgreichen Realisierung eines Witterungsschutzes hängt ab, inwieweit die vielfältigen Ansprüche der Architekten und Bauherren bezüglich Dauerhaftigkeit und Ästhetik erfüllt werden können.

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. Der Holzoberflächenschutz ist denn auch technisch, ästhetisch, wirtschaftlich und ökologisch noch nicht befriedigend gelöst. Eine verbesserte Witterungsbeständigkeit ergäbe aber die Chance, die Wertschöpfung bei Hobelwaren zu erhöhen. Laufende Qualitätsverbesserungen sind daher unabdingbar für die Wettbewerbsfähigkeit des Werkstoffes Holz (z.B. bei einer Verwendung als Fassadenschalung) und immer wieder Anlass für Forschungs- und Entwicklungsprojekte.

Neben Konstruktionsholz sind Fassadenschalungen eines der mengenmässig bedeutsamsten Marktsegmente für Hobelwaren aus Massivholz. Produktinnovationen in diesem Bereich sind daher wichtig zur Erhaltung des Marktvolumens und zur Abgrenzung gegenüber Konkurrenzwerkstoffen. Melanisierte Holzoberflächen könnten diesbezüglich eine Ergänzung der Möglichkeiten im Bereich naturbelassene Oberflächen respektive Vorvergrauung darstellen. Damit könnte auch der häufige Wunsch der Architekten nach dunklen Farbtönen abgedeckt werden, welche bei Beschichtungen aufgrund der generell verminderten Dauerhaftigkeit als problematisch gelten. Das Verfahren eignet sich insbesondere auch für Laubholz, dessen Einsatz für Fassaden bisher unüblich ist. Dies könnte bei geeigneten einheimischen Holzarten eine höhere Wertschöpfung ermöglichen.

### 1.3.3 Thematische Eingliederung in die Schwerpunkte des WHFF

Das vorgeschlagene Projekt bezieht sich im Sinne einer innovativen und umweltfreundlichen Qualitätsverbesserung und Produkteveredelung insbesondere auf die Schwerpunkte 2 'Optimierung von Prozessen und Produktionsmethoden' sowie 3 'Innovation bei der Entwicklung neuer Verbundwerkstoffe'.

### 1.3.4 Projektorganisation

Funktion und Aufgaben der Projektpartner sind in Tabelle 1 summarisch zusammengestellt.

Das Projekt wurde durch die Abteilung 'Angewandte Holzforschung' der Empa als interdisziplinäre Zusammenarbeit der Arbeitsgruppen 'Bio-engineered Wood' (St. Gallen) und 'Holztechnologie / Oberflächentechnologie' (Dübendorf) durchgeführt.

Als Wirtschaftspartner war die Schilliger Holz-Industrie AG, Küssnacht, am Projekt beteiligt. Die Firma Schilliger hat eine mehrjährige Erfahrung bezüglich Produktion und Anwendung von vorvergrautem Fassadenholz. Sie ist daher an Weiterentwicklungen in diesem Bereich interessiert und brachte insbesondere ihre Erfahrungen auf dem Gebiet der Vorvergrauung in das Projekt ein und stellte Versuchsmaterial zur Verfügung.

Tabelle 1: Projektpartner - Funktion und Aufgaben

Partner	Funktion	Aufgaben
Empa, Angewandte Holzforschung  'Bio-engineered Wood', St. Gallen  'Holztechnologie / Oberflächentechnologie, Dübendorf	- Gesuchsteller - Wissenschaftliche Projektleitung	- Planung und Durchführung der wissenschaftlichen Untersuchungen - Wissenschaftliche und finanzielle Berichterstattung
		- Selektion und Bereitstellung geeigneter Pilzstämmen - Durchführung der Inkubationsversuche
		- Materialcharakterisierung - Witterungsbeständigkeit
Schilliger Holz-Industrie AG, Küssnacht	- Industriepartner	- Erfahrungsaustausch bezüglich Vorvergrauung - Bereitstellung von Referenzmaterial (bioood) - Beurteilung bezüglich industrieller Umsetzung
Fonds zur Förderung der Wald- und Holzforschung, Bern	- Förderstelle	- Projektbeurteilung, -bewilligung - Finanzierung

### 1.3.5 Zeitplan

Basierend auf den Ergebnissen der Vorarbeiten der Empa wurde im März 2013 ein Finanzierungsgesuch an den Fonds zur Förderung der Wald- und Holzforschung eingereicht. Die Finanzierungszusage erfolgte im Juni 2013. Das Projekt hatte eine Laufzeit von 1.5 Jahren (01.07.2013 – 31.12.2014).

Die bewilligte Projektlaufzeit von 18 Monaten war angesichts der benötigten Inkubationszeiten und der notwendigen Mindestbeobachtungsdauer der Freibewitterungen (12 Monate) knapp bemessen. Insbesondere die Bereitstellung von neuem Probenmaterial durch eine gezielte Pilzbesiedlung benötigte mehr Zeit als ursprünglich vorgesehen, da der Besiedelungsvorgang durch lebende Pilze langsam ist und einige Inkubationsversuche wegen Fremdinfectionen abgebrochen werden mussten. Der Zeitrahmen erlaubte trotzdem die Durchführung von mehreren zeitlich gestaffelten Inkubations- und Bewitterungsreihen.

## 2 Untersuchungsprogramm

Die Projektarbeiten waren in 5 thematische Arbeitspakete aufgeteilt (Tabelle 2).

Tabelle 2: Arbeitspakete und Methoden

Arbeitspaket		Inhalt	Methoden
1	Grundlagen	aktueller Wissensstand (Vorleistung)	vertiefte Literaturstudie
		Vorversuche (Vorleistung)	künstliche Bewitterung
		Versuchsplanung	Festlegung Versuchsvarianten (Holzarten, Probengrösse), Zeitplan
2	Bereitstellung Probenmaterial	Pilzkulturen (Vorleistung)	Selektion und Bereitstellung geeigneter Pilzstämmen
		Holzproben	Beschaffung, Zuschnitt
		Melanisierung Holzoberflächen	Holzbesiedlung durch Schwärzepilze in Labor-Inkubationen
		ergänzende Oberflächenbehandlungen	z.B. Feuchteschutz durch Hydrophobierung
3	Charakterisierung behandeltes Holz	Beurteilung Pilzaktivität	visuelles Erscheinungsbild Oberflächen, Masseverlust
		Oberflächeneigenschaften (Ausgangszustand / bewittert)	Morphologie Melaninschicht (Licht- / Elektronenmikroskopie)
			Farbe, Benetzungsverhalten (Kontaktwinkel Wassertropfen)
4	Witterungsbeständigkeit	Bewitterungsversuche mit periodischer Zustandsbeurteilung	natürliche und künstliche Bewitterung (EN 927)
			Leistungsmerkmale: visuelle Beurteilung, Veränderung Farbe und Kontaktwinkel
5	Projektleitung	Administration	administrative Projektabwicklung
		Datenauswertung, Berichterstattung	Projektsitzungen, Zwischen- und Schlussbericht

Als wichtige Versuchsvarianten wurden bei der Planung folgende Faktoren festgelegt:

- **Holzart:** Um wirtsspezifische Unterschiede in der Holzbesiedlung durch Schwärzepilze zu bestimmen, wurden Holzproben aus Fichte, Tanne, Buche und Esche einbezogen.
- **Pilzart:** Rein- oder Mischkulturen von verschiedenen Schwärzepilzen (*Daldinia spp.*)
- **ergänzende Oberflächenbehandlung:** Die Vorversuche haben gezeigt, dass melanierte Holzoberflächen zwar äusserst lichtstabil sind, aber rasch vom ursprünglich hydrophoben zu einem hydrophilen Zustand wechseln. Daher wurde auch ein zusätzlicher Feuchteschutz (z.B. durch eine Hydrophobierung) in die Untersuchungen einbezogen.
- **Benchmarking:** Als Vergleichsmaterial bei den Bewitterungsversuchen diente primär unbehandeltes Holz. Bei den Melanisierungsversuchen wurde auch bereits vorvergrautes Holz (z.B. biOOD von Schilliger) einbezogen.

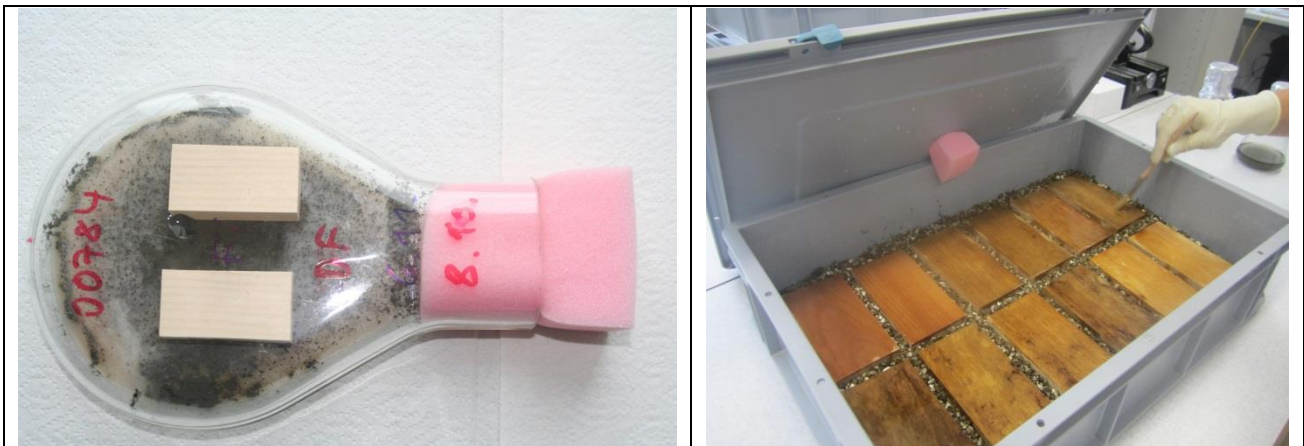
## 2.1 Melanisierung von Holzoberflächen

Bei Beantragung des Projektes stand aufgrund der damaligen Vorarbeiten die gezielte Besiedelung durch Lebkulturen von Schwärzepilzen als Melanisierungsprozess im Vordergrund. Im Zuge von weiterführenden Forschungsarbeiten (siehe WHFF-Projekt 2014.02 'Anwendung von Pilzmelanin zur Erhöhung der Dauerhaftigkeit von Holz gegen Holz zerstörende Pilze') gelang es, auf biotechnologischem Weg relativ günstig grössere Mengen einer wässrigen Melanin-Lösung zu gewinnen, mit welcher die Holzoberflächen direkt behandelt werden können. Neben dem ursprünglich vorgesehenen Einsatz als alternatives Holzschutzmittel ergab sich so eine weitere Möglichkeit, Holzoberflächen für den Witterungsschutz gezielt zu melanisieren. Um die Wirksamkeit dieser neuen Methode mit der Besiedelung durch Lebkulturen zu vergleichen, wurde dies als zusätzlicher Ansatz nachträglich in die Projektarbeiten einbezogen.

### 2.1.1 Gezielte Besiedelung durch Schwärzepilze

Die Holzoberflächenbesiedelung durch Schwärzepilze erfolgte in mehrwöchigen Inkubationen im Labormassstab entweder in Kolleschalen aus Glas oder in Kunststoffboxen mit Malzagar oder Vermiculit als Nähr- resp. Feuchtigkeitssubstrat (Bild 4). Für die Versuche wurden kleine Holzklötze oder Brettproben aus Fichte, Tanne, Buche und Esche verwendet, welche vor der Inkubation zur Vermeidung von Fremdinfektionen sterilisiert wurden.

Bild 4: Inkubationsbehälter: Kolleschalen (links) und Kunststoffboxen (rechts)



Basierend auf den Vorarbeiten wurden folgende *Daldinia*-Pilzstämme zur Melanisierung eingesetzt:

- *D. concentrica* (Stamm EMPA 662)
- *D. loculata* (Stamm EMPA 670)
- *D. fissa* (Stamm EMPA 671)

Die Pilze wurden als Reinkulturen auf einem sterilen Nährboden aus Malzagar in Kunststoffpetrischalen oder Erlenmeyerkolben vorkultiviert. Die Beimpfung in den Inkubationsgefässen erfolgte direkt mit einer pilzbewachsenen Agarflocke aus der Vorkultur oder durch eine Rein- resp. Mischsporensuspension, welche zuvor ebenfalls aus einer Vorkultur gewonnen wurde.

Zum Abbruch des Inkubations-/Melanisierungsprozesses wurden die Gefässe geöffnet und die pilzbewachsenen Holzproben herausgenommen. Diese wurden mechanisch von oberflächlich anhaftendem Pilzmyzel oder Feuchtigkeitssubstrat befreit und zusätzlich unter fließendem Leitungswasser abgespült. Danach wurden die Proben getrocknet und zur Abtötung des Pilzes erneut sterilisiert.

Die Beurteilung der Pilzaktivität erfolgt anhand des beobachteten Myzelwachstums auf den Proben (Fotoserien) sowie dem visuellen Erscheinungsbild der gereinigten Oberflächen nach Abschluss der Melanisierung.

Eine Übersicht über die Versuchsparameter der Melanisierung durch eine gezielte Pilzbesiedelung ist in Tabelle 3 zusammengestellt.

Tabelle 3: Versuchsparameter der Melanisierung durch eine gezielte Pilzbesiedelung

Gruppe	Parameter	Varianten	Details / Bemerkungen
Inkubations- technik	Pilzart	Daldinia - concentrica - fissa - loculata	Anzucht in Reinkulturen, Beimpfung mit bewachsenen Agarstücken oder reinen / gemischten Sporensuspensionen
	Holzart	- FI, TA - BU, ES	je 2 Vertreter Nadelholz und Laubholz
	Inkubationsgefäss (Probengrösse)	- Kolleschalen - Kunststoffboxen	- 50 x 25 x 15 mm (EN 113) - 150 x 74 x 18 mm
Wachstums- optimierung	Nähr-/Feuchtigkeits- Substrat	- Malzagar  - Vermiculit	- Beimpfung mit bewachsenen Agarstücken aus Vorkultur, Probeneinbau ohne/mit Anwachsphase - Pinselauftrag Sporensuspension auf Holzproben (nur in Kunststoffboxen)
	Vorbehandlungen	- Malz, Cu  - Vorbewitterung / Delignifizierung	- Pinselauftrag Lösungen auf Holz- oberflächen vor Inkubation - natürlich + künstlich, biood
	Sterilisation Proben (Holzfeuchte)	- Gas - Dampf	- trocken - feucht
	Temperatur	- 20°C - 23°C - 26°C	Versuche nur in Kolleschalen (kleine Proben)

### 2.1.2 Optimierungsansätze

Neben den Hauptfaktoren Pilzart und Holzart wurden verschiedene Ansätze zur Wachstumsoptimierung untersucht (Tabelle 3, untere Hälfte). Dabei wurde das Nähr- und Feuchtigkeitssubstrat, die Sterilisationsmethode sowie die Inkubationstemperatur variiert. Mit verschiedenen Vorbehandlungen der Holzoberflächen (zusätzliche Nährstoffe, sub-letale Kupferdosis, partielle Delignifizierung) wurde zudem versucht, das Pilzwachstum generell anzuregen.

Um die Grösse der einzelnen Versuche zu beschränken, wurden die verschiedenen Versuchsparameter nicht systematisch in einem Grossversuch variiert, sondern schrittweise basierend auf den jeweils gewonnenen Erkenntnissen in die aufeinanderfolgenden Versuchsserien einbezogen.

### 2.1.3 Behandlung mit Melanin-Lösung

Die durchgeführten Oberflächenbehandlungen mit Melanin-Lösung sind als erste Vorversuche ohne weitere Optimierung zu betrachten. Die verwendete Melanin-Lösung wurde aus einer *Armillaria*-Kultur gewonnen. Der genaue Melaningehalt ist nicht bekannt, da die Lösung auch noch Reste von Biomasse enthielt. Die Behandlung der Holzoberfläche erfolgte als ein- oder mehrfache Pinselapplikation (135 g/m<sup>2</sup> nass pro Anstrich).

## 2.2 Ergänzende Oberflächenbehandlungen

Die ergänzenden Oberflächenbehandlungen sollten primär einen zusätzlichen Feuchteschutz sicherstellen, um die Hydrolyse der melanierten Holzoberflächen zu vermindern. Die Applikation erfolgte nachträglich auf die trockene, bereits melanierte Holzoberfläche.

Verwendet wurden zwei verschiedene Behandlungen (kommerzielle Produkte):

- **Hydrophobierung:** wässriges organofunktionelles Silan, Sprayapplikation (300 g/m<sup>2</sup> nass), nicht-filmbildend
- **Klarlack:** wässriges Acrylat, Pinselapplikation 1x Grundierung/2x Deckanstrich (total 325 g/m<sup>2</sup>) nass, filmbildend (ca. 90 µm)

## 2.3 Materialcharakterisierung

Der Fokus der Materialcharakterisierung lag auf der Struktur der melanierten Holzoberflächen, der anwendungsbezogenen Oberflächeneigenschaften sowie dem Verwitterungsverhalten.

### 2.3.1 Struktur / Morphologie

Die melanierten Holzoberflächen wurden in einem ersten Schritt visuell beurteilt und makroskopisch dokumentiert (Fotos). Danach wurde bei ausgewählten Proben die gebildete Melaninschicht durch Licht- und Elektronenmikroskopie näher untersucht.

### 2.3.2 Oberflächeneigenschaften

Als wichtige Oberflächeneigenschaften für eine Anwendung als Fassadenmaterial wurden Farbe und Glanz, sowie das Benetzungsverhalten (Kontaktwinkel an Wassertropfen) sowohl im Ausgangszustand als auch im Verlauf der Bewitterung erfasst. Auf jeder Probe wurden jeweils 4 Messpunkte gemessen.

#### 2.3.2.1 Farbe

Die Farbmessungen wurden mit einem Spektrophotometer (Minolta CM-2500d) nach dem CIELab System (D65, d/8, 10° Beobachter, sce) durchgeführt. Die Farbveränderungen während der Bewitterung wurden gemäss Formeln 1 bis 4 bezogen auf den unbewitterten Ausgangszustand berechnet (SN EN ISO 11664-4).

$$\Delta L = L_T - L_R \quad (\text{Formel 1})$$

$$\Delta a = a_T - a_R \quad (\text{Formel 2})$$

$$\Delta b = b_T - b_R \quad (\text{Formel 3})$$

$$\Delta E = \sqrt{(\Delta L)^2 + (\Delta a)^2 + (\Delta b)^2} \quad (\text{Formel 4})$$

mit: L: Helligkeitswert  
 a, b: Farbwerte  
 T: Testwert  
 R: Referenzwert (=unbewitterter Ausgangszustand)

#### 2.3.2.2 Glanz

Der Glanz wurde nur bei den Proben mit einer zusätzlichen Klarlackbeschichtung gemessen. Die Messung erfolgte unter einem Einstrahlwinkel von 60° und in Richtung der Holzfasern gemäss SN EN ISO 2813 (BYK-Gardner micro-tri-gloss).

### 2.3.2.3 Benetzungsverhalten

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.

### 2.3.3 Witterungsbeständigkeit

Die Witterungsbeständigkeit der melanierten Holzoberflächen wurde sowohl in künstlicher (Fluoreszenz-UV Gerät QUV, SN EN 927-6) als auch unter natürlicher Bewitterung (45°, Südexposition auf dem Freibewitterungsstand der Empa in Dübendorf, in Anlehnung an SN EN 927-3) untersucht (Bild 5). 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. Als Leistungsmerkmale dienten Zustandsveränderungen gemäss visueller Beurteilung, sowie die Veränderung der Farbe und des Benetzungsverhaltens.

Bild 5: Natürliche Freibewitterung (links) und künstlicher Bewitterungsversuch mit QUV (rechts)



## 2.4 Versuchsreihen

Die Inkubationsversuche zur Melanisierung des Probenmaterials wurden in mehreren zeitlich gestaffelten Versuchsreihen durchgeführt. Je nach Untersuchungsschwerpunkt und unter Berücksichtigung der Ergebnisse der vorhergehenden Inkubationen wurden dabei die Versuchsparameter angepasst. Die Charakterisierung und Bewitterung der Proben erfolgte dann in einem nachfolgenden separaten Schritt.

Eine Übersicht über alle Versuchsreihen ist in Tabelle 4 zusammengestellt.

Für die ersten Versuche (Serie 0) konnten nicht-wärmebehandelte Referenzproben aus dem WHFF-Projekt 2008.06 weiterverwendet werden. Dies ermöglichte erste Materialcharakterisierungen und Bewitterungsversuche, bevor innerhalb des Projektes neu erzeugtes Probenmaterial verfügbar war.

Die Versuchsserien 1-6 beinhalteten die Melanisierung durch eine gezielte Besiedelung mit Lebkulturen von Schwärzepilzen. Dabei wurde eine relativ grosse Zahl von Versuchsparametern einbezogen und variiert, um den Inkubationsprozess zu optimieren.

In der letzten Versuchsserie (7) erfolgte die Melanisierung der Holzoberfläche durch die Behandlung mit einer biotechnologisch gewonnenen, wässrigen Melanin-Lösung (siehe Kap. 2.1).

Tabelle 4: Versuchsreihen (jeweils neu einbezogene Versuchsparameter sind grau hinterlegt)

Serie	Holzarten	Dimensionen (l x b x d, mm)	Vorbehandlung	Pilzkultur	Inkubation (Gefäße, Substrat)	Dauer Inkubation
0	FI, TA, BU, ES	EN113 50 x 25 x 15	(Proben aus WHFF 2008.06)	Reinkulturen D. concentrica / fissa	Kolleschalen, Agar	24 Wo
1	FI, TA, BU, ES	150 x 74 x 18	- Malz	Mischsuspension D. fissa / loculata	Kunststoffboxen, Vermiculit	32 Wo
	FI	EN152 110 x 40 x 10	- vorbewittert - Malz			
	BU	150 x 74 x 10	- delignifiziert			
2	FI	150 x 74 x 18	- vorbewittert - halbseitig Cu-Lösung - Sterilisation: Gas/Dampf			18 Wo
3	FI, ES	EN113 50 x 25 x 15		Reinkulturen D. fissa / loculata	Kolleschalen, Agar, 2 Temperaturen	14-19 Wo
4	FI, TA, BU, ES	150 x 74 x 18	Sterilisation: Gas/Dampf	Reinkultur D. concentrica	Kunststoffboxen mit Glasdeckel, Vermiculit (Susp.) / Agar (vorkultiviert)	22-25 Wo
	FI		- vorbewittert - Malz			
5	FI, ES	EN113 50 x 25 x 15			Kolleschalen, Agar, 3 Temperaturen	24 Wo
6	TA	150 x (95) x 25	biood		Kunststoffboxen mit Glasdeckel, Agar (vorkultiviert)	26 Wo
7	FI	150 x 74 x 18	Pinselauftrag Melanin-Lösung (verschiedene Auftragsmengen), mit ergänzender Oberflächenbehandlung (Hydrophobierung, Klarlack)			

## 3 Ergebnisse

Die Präsentation und Bewertung der Ergebnisse erfolgt entsprechend den drei Hauptpunkten des Untersuchungsprogrammes, nämlich Melanisierungsprozess, Charakterisierung der melanisierten Holzoberflächen sowie deren Witterungsbeständigkeit.

### 3.1 Melanisierung von Holzoberflächen

#### 3.1.1 Gezielte Besiedelung durch Schwärzepilze

Die Erfahrungen in den durchgeführten Inkubationen im Labormassstab (siehe Kap. 2.1.1, 2.1.2 und 2.4) erlauben die folgenden generellen Feststellungen:

- Eine gezielte Besiedelung mit Lebkulturen ist grundsätzlich möglich und mit relativ einfachen Mitteln durchführbar.
- Die Melanisierung durch Schwärzepilze bewirkt eine dunkle respektive schwarze Färbung der Holzoberfläche.
- Der erreichte Grad der Melanisierung ist abhängig von Pilzstamm und Holzart.
- Das Pilzwachstum ist langsam. Eine dauerhafte Melanisierung benötigt Wochen bis Monate.
- Die eingesetzten Pilze sind wenig kompetitiv und nicht durchsetzungsfähig gegen Fremdinfektionen. Dadurch besteht ein erhöhtes Risiko für Fehlschläge bei der Inkubation.

Der Einfluss von Pilzart und Holzart auf den Melanisierungsgrad ist beispielhaft aus Bild 6 ersichtlich. Einzelne Aspekte werden untenstehend detaillierter diskutiert.

Detailergebnisse / Beobachtungen:

- **Pilzart:** Der Melanisierungsgrad durch die verschiedenen eingesetzten *Daldinia*-Arten war recht unterschiedlich. Die stärkste Melanisierung wurde bei *D. concentrica* beobachtet (Bild 6, mittlere vertikale Probenreihe). Die schwächste Melanisierung erfolgte durch *D. loculata*, während die Ergebnisse von *D. fissa* dazwischen lagen.

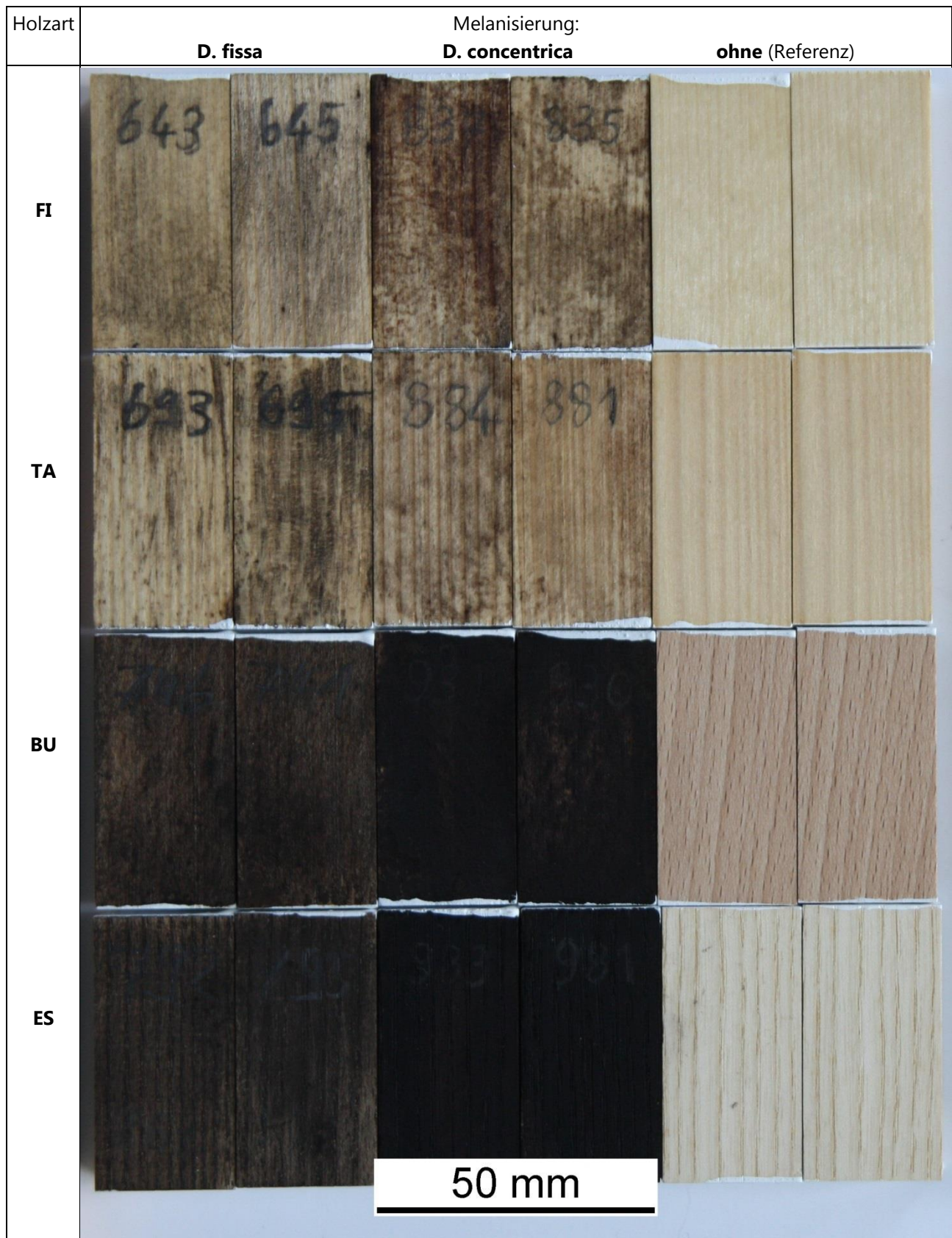
Mischkulturen zeigten gegenüber Reinkulturen keine Verbesserung.

- **Holzart:** Die Besiedelung der einbezogenen Holzarten erfolgte mit unterschiedlicher Geschwindigkeit und Intensität. Als Laubholzspezialisten besiedelten die eingesetzten Schwärzepilze Laubhölzer generell besser als Nadelhölzer. Dabei war die Melanisierung bei Esche stärker ausgeprägt als bei Buche und bei Fichte stärker als bei Tanne (Bild 6, verschiedene horizontale Probenreihen). Die besten Ergebnisse (Stärke und Gleichmässigkeit der Melanisierung) wurden generell bei Esche erzielt.
- **Inkubationsgefäss** (Probengrösse): Die Art der Inkubationsgefässe hatte keinen erkennbaren Einfluss auf das Pilzwachstum respektive den Grad der Melanisierung.

Der Vorteil der Kunststoffboxen liegt darin, dass zwei alternative Nähr- resp. Feuchtigkeitssubstrate (Malzagar, Vermiculit) eingesetzt werden können. Zudem kann gegenüber den Kolleschalen mit deutlich grösseren Probendimensionen gearbeitet werden.

Eine wesentliche Verbesserung der Prozesskontrolle in den Kunststoffboxen konnte durch den Einbau einer Glasscheibe in die Deckel erzielt werden (siehe Bild 7). So kann der Wachstumsprozess direkt beobachtet und ein günstiger Abbruchzeitpunkt bestimmt werden. Zudem können so Fremdinfektionen früher erkannt und die betroffenen Inkubationen falls nötig vorzeitig abgebrochen werden.

Bild 6: Melanisierungsgrad von Pilz-inkubierten Holzproben mit 2 unterschiedlichen Pilzstämmen (Serie 0: 4 Holzarten, Reinkulturen *D. fissa* und *concentrica*, auf Malzagar)



### 3.1.2 Optimierungsansätze

Die Wirksamkeit der verschiedenen Ansätze zur Wachstumsoptimierung (Tabelle 3) wurde mit Fotoserien über den Besiedelungsverlauf verglichen sowie zusätzlich nach Abschluss der Melanisierung anhand des visuellen Erscheinungsbildes der Oberflächen beurteilt.

Beispiele des Einflusses der verschiedenen Versuchsparameter sind in den Bildern 7 bis 16 dokumentiert und werden untenstehend detaillierter diskutiert.

Detailergebnisse / Beobachtungen:

- **Substrat:** Die Probenbesiedelung durch die Schwärzepilze erfolgte auf beiden Nährsubstraten ähnlich (Bilder 7 und 8). Auch bei der Wachstumsgeschwindigkeit war kein offensichtlicher Unterschied vorhanden. Ein erster Myzelbewuchs der Probenoberfläche war nach ca. 2 Wochen feststellbar. Dieser breitete sich danach bis ca. 4 Wochen relativ rasch aus und verlangsamte sich nachfolgend deutlich.

Die bereits weiter oben beschriebenen Unterschiede zwischen den Holzarten waren auf beiden Nährsubstraten ausgeprägt. Die schnellste und vollständigste Besiedelung war bei Esche zu beobachten.

- **Vorbehandlungen:** Eine Anregung des Pilzwachstums konnte weder durch eine geringe Kupferdosis (Bild 9) noch durch eine zusätzliche Malzbehandlung der Holzoberflächen (Bild 10) erreicht werden. Nach der Malzbehandlung zeigte sich zwar ein etwas ausgeprägterer, weisslicher Myzelbewuchs, aber es erfolgte keine stärkere Melanisierung der Holzoberflächen.

Auch eine Vorbewitterung und die damit verbundene partielle Delignifizierung zeigte keine wachstumsfördernde Wirkung (Bilder 10 und 11). Insbesondere bei den natürlich Vorbewitterten (vorvergrauten) Oberflächen war vermutlich auch die dadurch bereits vorhandene Pilzbesiedelung für den Anwuchs der Schwärzepilze hinderlich.

- **Probensterilisation** (Holzfeuchte): Ein klarer Effekt ergab sich bezüglich der Einbaufeuchte der Holzproben (als Folge der Sterilisationsmethode) in Kombination mit dem Nährsubstrat. Die stärkste Melanisierung zeigte sich generell bei den dampfsterilisierten Proben auf Vermiculit, während bei den dampfsterilisierten Proben auf Malzagar die Melanisierung relativ schwach war, aber deutliche Zeichen von Holzabbau (Masseverlust) zu erkennen waren (Bilder 12 und 13).

Bezüglich Dicke der melanierten Oberflächenschicht war bei den auf Vermiculit inkubierten Proben allerdings kein Unterschied zwischen der Dampf- und Gassterilisation festzustellen (Bild 13).

- **Temperatur:** Das Temperaturoptimum für das Wachstum der eingesetzten Schwärzepilze ist nicht bekannt. Eine erhöhte Temperatur zeigte in der Anfangsphase einen leicht beschleunigenden Effekt auf die Wachstumsgeschwindigkeit (Bild 14). Mit zunehmender Inkubationszeit wurden die Unterschiede aber geringer. Die notwendige Gesamtdauer der Inkubation kann durch eine erhöhte Inkubationstemperatur aber kaum verkürzt werden.

Die visuelle Überprüfung des Melanisierungsgrades der Probenoberflächen nach Abschluss der Inkubation bestätigte diesen Befund (Bilder 15 und 16). Insbesondere bei Fichte erschien die Melanisierung bei 26°C sogar schwächer zu sein als bei 20°C oder 23°C. Bei Esche war kein Temperatureffekt feststellbar.

Die Temperaturversuche konnten aufgrund der fehlenden Raumkapazität in den verfügbaren Wärmekammern allerdings nur in Kolleschalen auf Malzagar durchgeführt. Entsprechende Inkubationen auf Vermiculit müssten noch nachgeholt werden.

Bild 7: Wachstumsverlauf während der Inkubation in Abhängigkeit von Nährsubstrat und Holzart (Serie 4: 4 Holzarten, Reinkultur *D. concentrica*, Dampfsterilisation)









Inkubationszeit	Nährsubstrat: <b>Vermiculit</b> Sterilisation: Dampf	Nährsubstrat: <b>Malzagar</b> Sterilisation: Dampf
	Probenanordnung / Holzarten: 3x <b>FI</b> , 3x <b>TA</b> 3x <b>BU</b> , 3x <b>ES</b>	
2.5 Wo		
4 Wo		
6 Wo		
12 Wo		

Bild 8: Wachstumsverlauf während der Inkubation in Abhängigkeit von Nährsubstrat und Holzart (Serie 4: 4 Holzarten, Reinkultur *D. concentrica*, Gassterilisation)









Inkubationszeit	Nährsubstrat: <b>Vermiculit</b> Sterilisation: Gas	Nährsubstrat: <b>Malzagar</b> Sterilisation: Gas
	Probenanordnung / Holzarten: 3x <b>FI</b> , 3x <b>TA</b> 3x <b>BU</b> , 3x <b>ES</b>	
2.5 Wo		
4 Wo		
6 Wo		
12 Wo		

Bild 9: Pilzbewuchs und Melanisierungsgrad von Holzproben in Abhängigkeit von Vorbewitterung, Cu-Behandlung und Sterilisation (Serie 2: Fichte, Mischsuspension *D. fissa/loculata*, auf Vermiculit)



Bild 10: Pilzbewuchs und Melanisierungsgrad von Holzproben ohne und mit Malzbehandlung (Serie 1: 4 Holzarten, Mischsuspension *D. fissa/loculata*, auf Vermiculit)

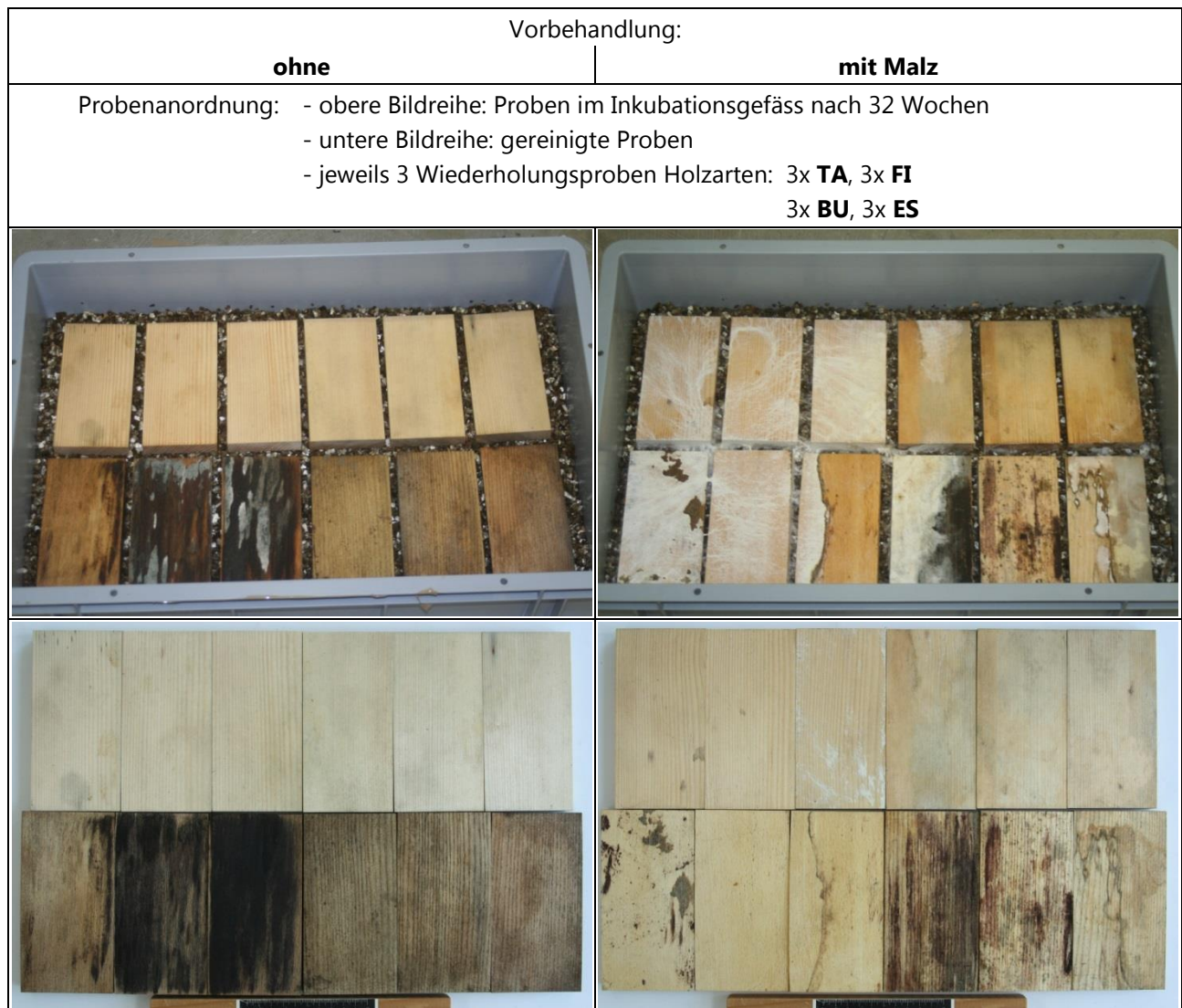


Bild 11: Pilzbewuchs und Melanisierungsgrad bei vorvergrauten Holzproben (Serie 6: Tanne, Reinkultur *D. concentrica*, auf Malzagar)

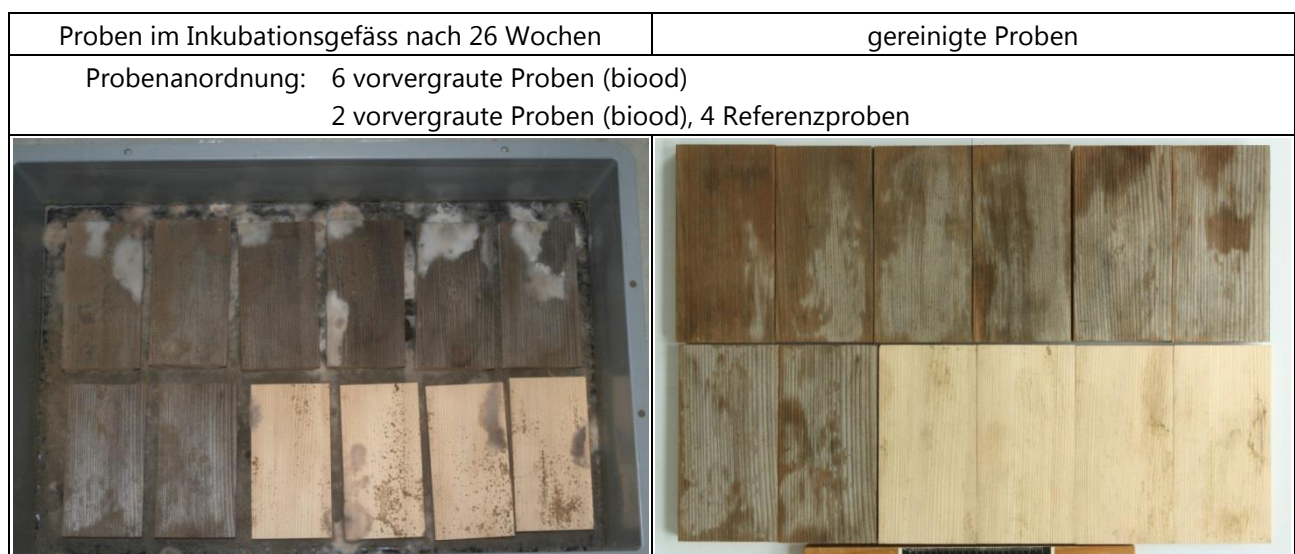


Bild 12: Melanisierungsgrad der Holzoberflächen in Abhängigkeit von Sterilisation und Nährsubstrat (Serie 4: 4 Holzarten, Reinkultur *D. concentrica*)

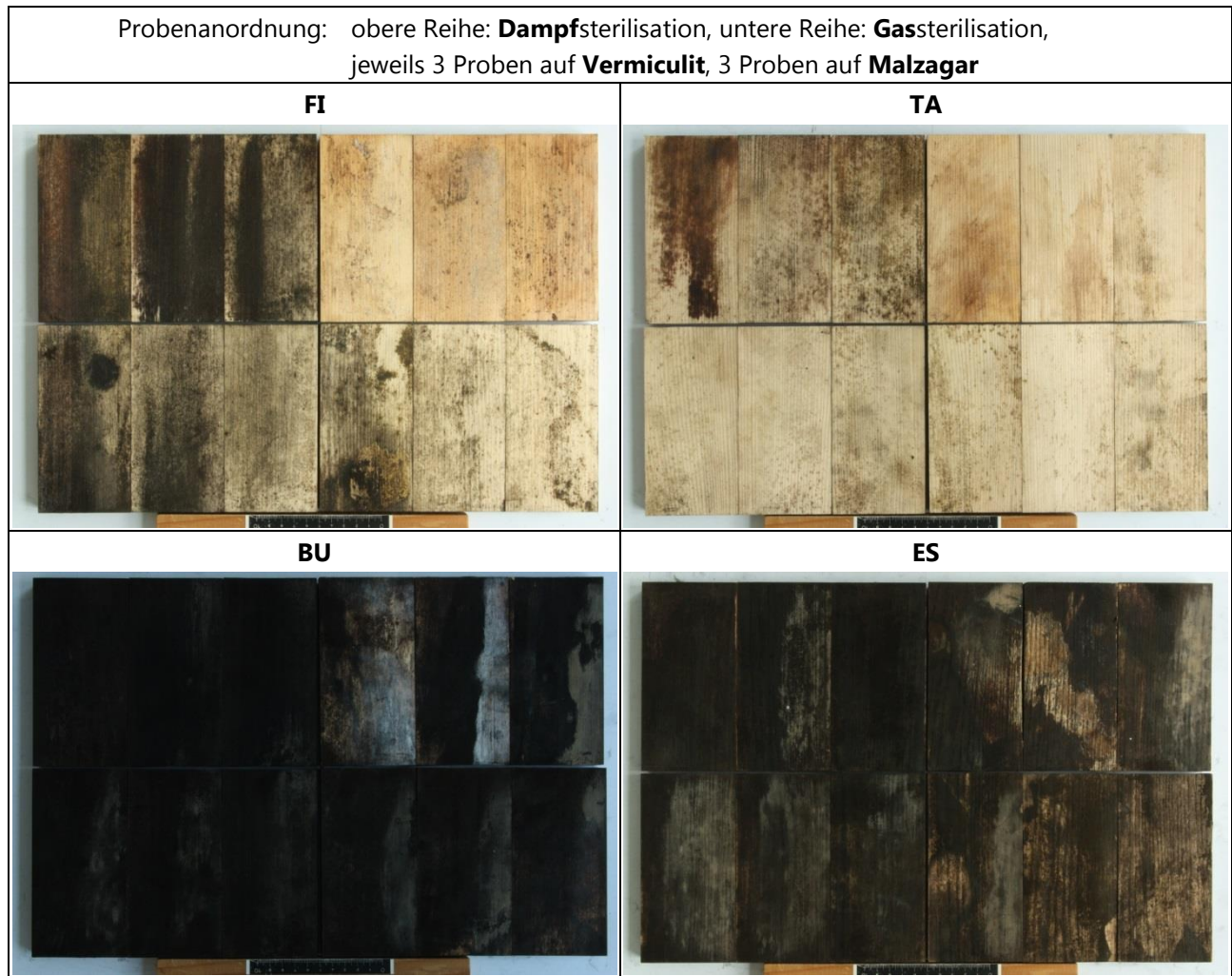


Bild 13: Melanisierungsgrad der Probenquerschnitte in Abhängigkeit der Sterilisation (Serie 4: 4 Holzarten, Reinkultur *D. concentrica*, auf Vermiculit)

Holzart	Sterilisation:	
	Dampf	Gas
FI		
TA		
BU		
ES		

Bild 14: Wachstumsverlauf während der Inkubation in Abhängigkeit der Inkubationstemperatur (Serie 5: Esche, Reinkultur *D. concentrica*)

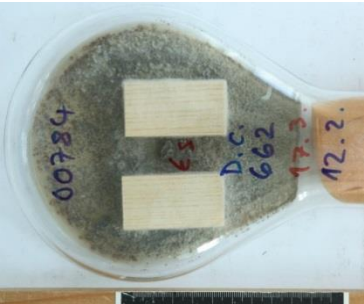
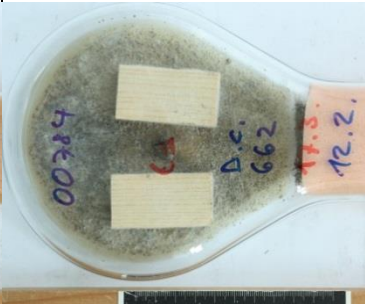
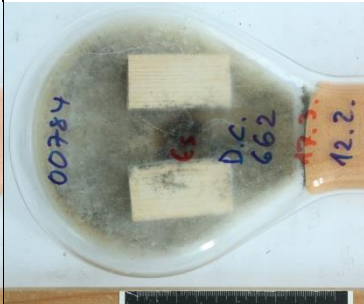

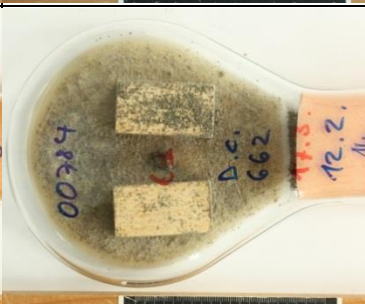
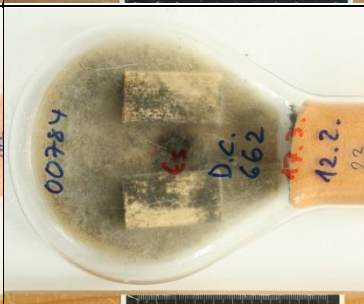

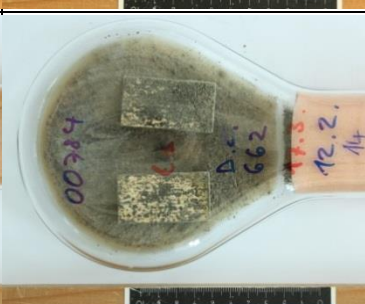
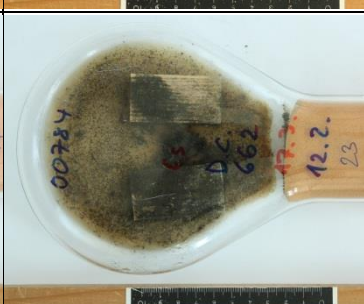

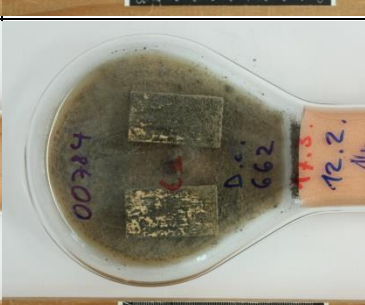
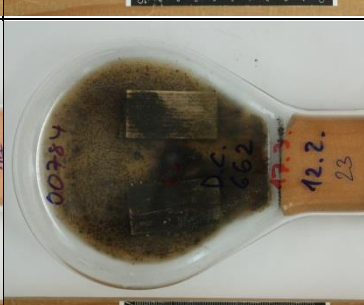
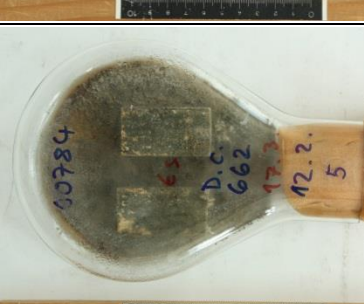

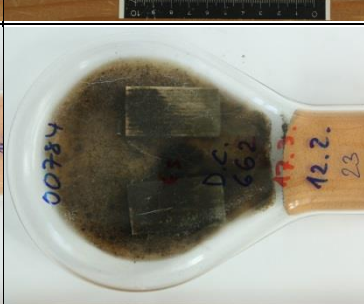
Inkubationszeit	Nährsubstrat: Malzgar Inkubationstemperatur:		
	20°C	23°C	26°C
Start			
1 Wo			
4 Wo			
6 Wo			
10 Wo			

Bild 15: Melanisierungsgrad der Probenoberflächen in Abhängigkeit der Inkubationstemperatur (Serie 5: 2 Holzarten, Reinkultur *D. concentrica*)

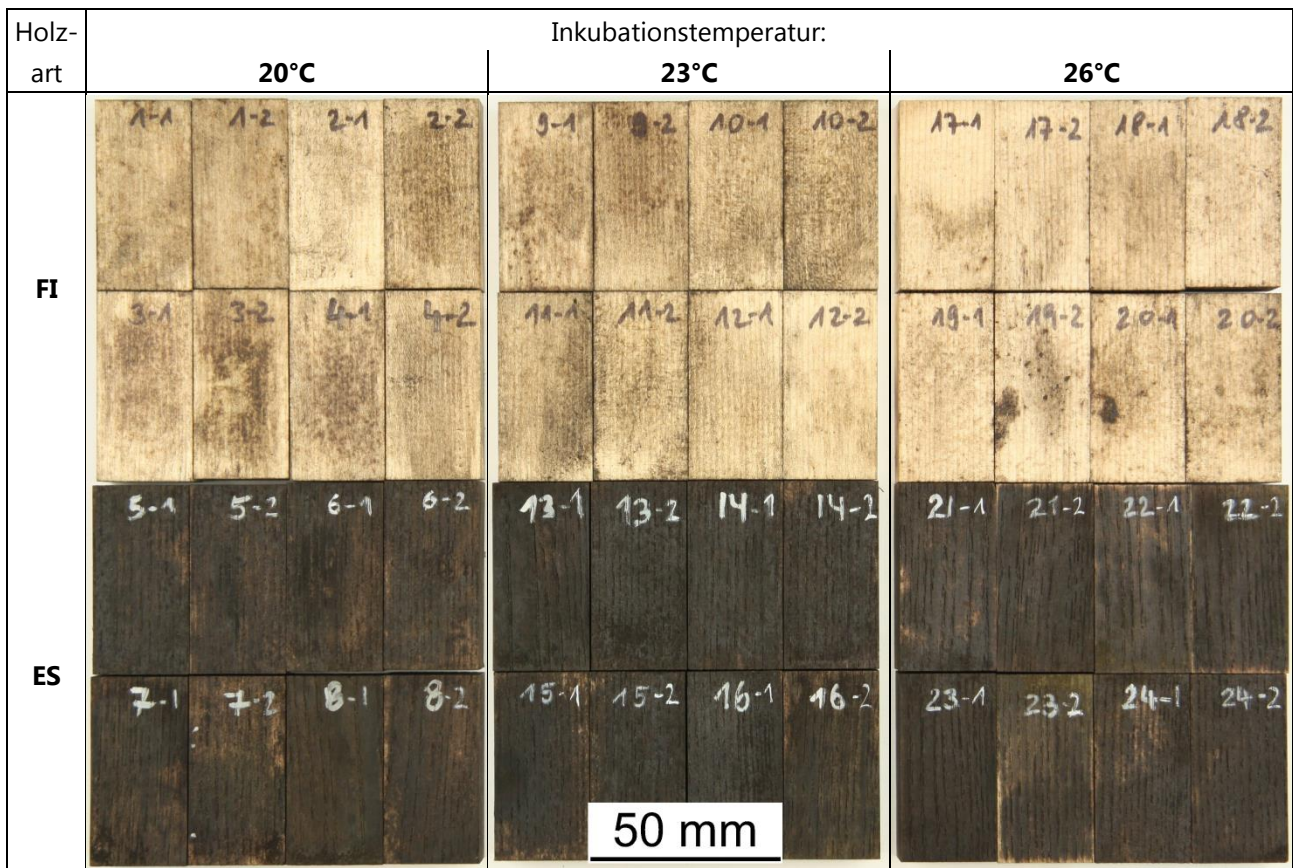
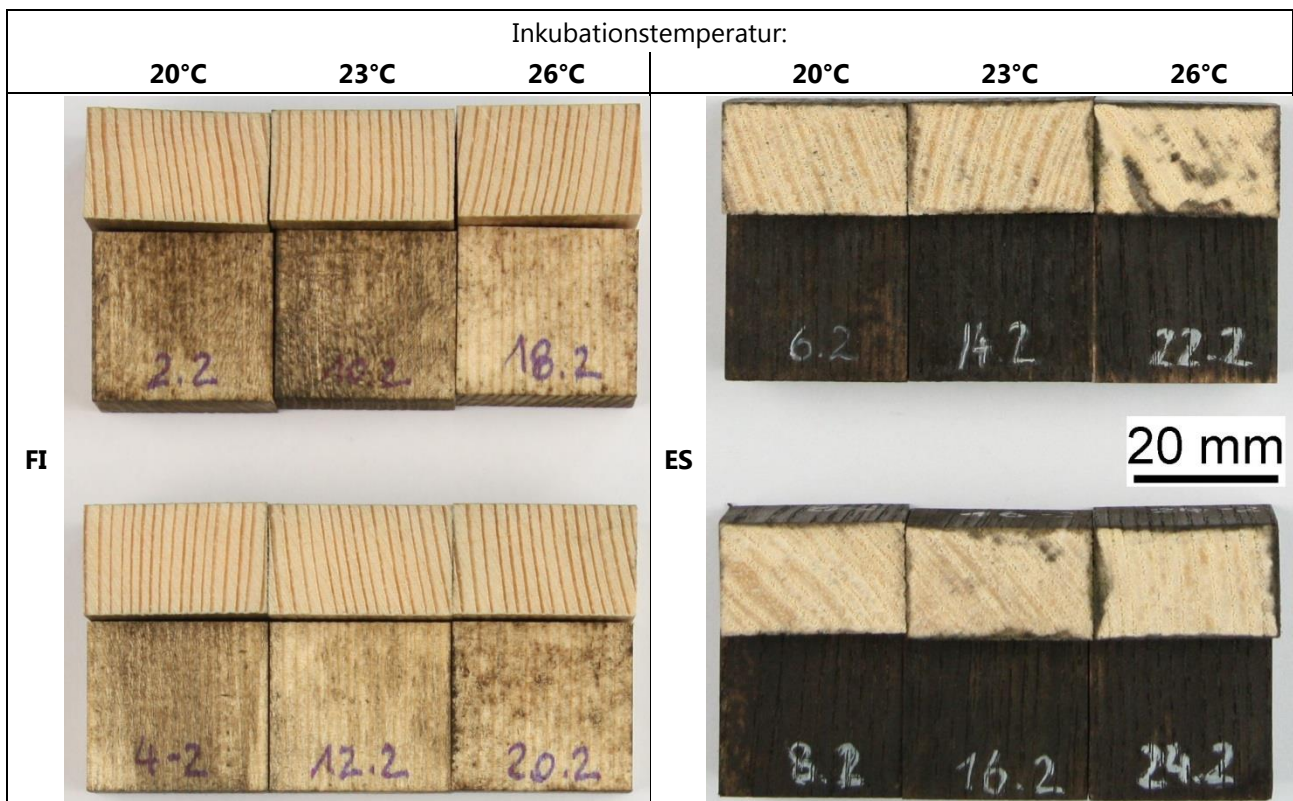


Bild 16: Melanisierungsgrad der Probenquerschnitte in Abhängigkeit der Inkubationstemperatur (Serie 5: 2 Holzarten, Reinkultur *D. concentrica*)



### 3.1.3 Behandlung mit Melanin-Lösung

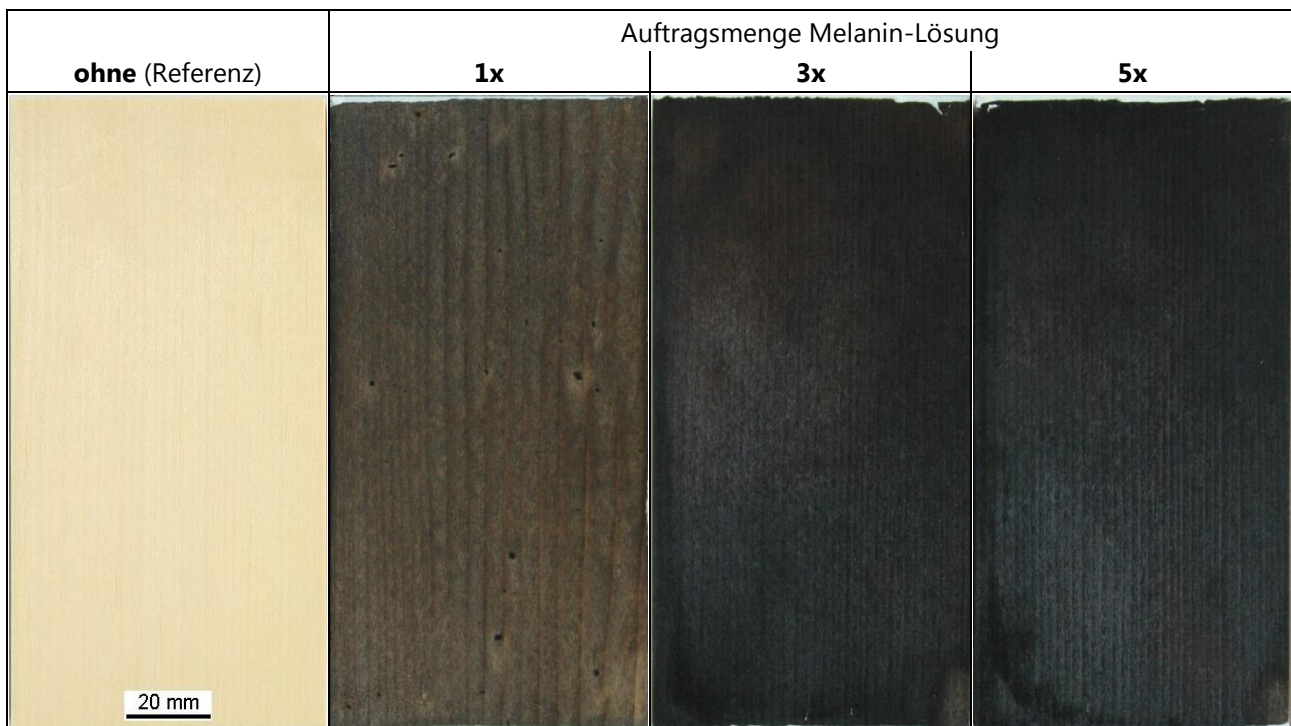
Diese alternative Melanisierungs-Variante (siehe Kap. 2.1.3) bedingt die Verfügbarkeit einer geeigneten konzentrierten wässrigen Melanin-Lösung. Die vorliegenden Versuche wurden mit einer Lösung aus ersten Vorversuchen durchgeführt; die entsprechenden Syntheseprozesse müssen noch optimiert werden. Die Behandlung der Holzoberfläche selber ist dagegen sehr einfach und wäre auch in einem industriellen Verfahren möglich.

Beispiele von behandelten Holzoberflächen sind in Bild 17 dargestellt.

Detailergebnisse / Beobachtungen:

- Das Ausmass der dunklen Holzfärbung ist über die Auftragsmenge steuerbar. Ein einfacher Auftrag ergibt bräunliche Oberflächen, ein mehrfacher Auftrag führt zu einer schwarzen, beinahe opaken Färbung.
- Mit geeigneten Auftragsverfahren ist eine homogene Melanisierung auch über grössere Flächen erzielbar.
- Eine Melanisierung ist auch bei Nadelholz möglich.
- Die Melanisierung durch einen einfachen Auftrag der wässrigen Lösung ist nur beschränkt auswaschbeständig. Daher wurden bei derart behandelten Oberflächen zusätzliche, feuchteschützende Oberflächenbehandlungen eingesetzt (siehe Kap. 2.2)
- Versuche wurden bisher erst mit Fichtenholz durchgeführt. Holzarten-spezifische Unterschiede sowie der Einfluss des Saugvermögens des Untergrundes und der anatomischen Gegebenheiten müssten noch weitergehend untersucht werden.

Bild 17: Probenoberflächen (FI) nach Behandlung mit Melanin-Lösung (Serie 7)



## 3.2 Charakterisierung der melanisierten Holzoberflächen

Die durchgeführten Charakterisierungen beziehen sich auf den Ausgangszustand der Holzoberflächen unmittelbar nach der Melanisierung. Die Witterungsbeständigkeit wird nachfolgend in einem separaten Kapitel behandelt (Kap. 3.3). Erfasst wurden insbesondere das visuelle Erscheinungsbild, die makro- und mikroskopische Struktur sowie die Farbe der melanisierten Oberflächenschicht.

Ausgewählte Ergebnisse sind in den Bildern 18 bis 21 dargestellt. Diese werden untenstehend detaillierter diskutiert.

Detailergebnisse / Beobachtungen:

- Die durch eine Besiedelung mit Lebkulturen von Schwärzepilzen melanisierten Oberflächen zeigten in Abhängigkeit von Inkubationsprozess und Holzart eine grosse Variabilität bezüglich Vollständigkeit und Intensität der Melanisierung (Bild 18, siehe auch Bild 6). Während bei den Nadelhölzern nur eine unvollständige, teilweise fleckige Melanisierung mit rötlichen bis grauen Farbtönen erreicht wurde (Bild 18 links), war bei Esche im Idealfall eine sehr homogene und intensive Schwarzfärbung vorhanden (Bild 18 rechts).
- Im Querschnitt wiesen die Laubholzproben eine 0.5 - 1 mm dicke melanisierte Oberflächenschicht auf (Bild 19 oben). Bei den Nadelholzproben war die Melaninschicht deutlich weniger ausgeprägt (Bilder 13 und 16). Insbesondere bei Buche waren auch im Querschnittsinnern Anzeichen von Pilzaktivität vorhanden (leichte Verfärbungen), die Dunkelfärbung war aber weitgehend auf die oberflächennahen Zonen beschränkt.
- An Dünnschnitten ist zu erkennen, dass die Melanisierung zu einer Färbung der Zellwand (Bild 19 mitte) führt. Entsprechend der Intensität der Melanisierung ist die Färbung der Zellwand bei Fichte deutlich schwächer als bei Esche. Inwieweit die Färbung durch pigmentierte Hyphen oder durch die Einlagerung von Melaninpigmenten auf oder in der Holzzellwand erfolgt, müsste durch spezifische Untersuchungen geklärt werden.
- Bei Laubholz waren in den Gefässen häufig charakteristische dendritische Hyphenstrukturen vorhanden (Bild 19 unten).
- Farbmessungen bestätigten den oben beschriebenen visuellen Eindruck der melanisierten Oberflächen (Bilder 20 und 21).

Die Besiedelung mit Lebkulturen von Schwärzepilzen zeigte eine deutliche Abhängigkeit von Pilzart und Holzart (Bild 20 oben, siehe auch Bild 6). Die Färbung der Nadelhölzer war deutlich weniger intensiv als bei den Laubhölzern. *D. concentrica* führte zu einer stärkeren Färbung als *D. fissa*. Die intensivste Schwarzfärbung ( $L^*$ -,  $a^*$ - und  $b^*$ -Werte nahe bei Null) wurde mit *D. concentrica* bei Buche und Esche erreicht.

Die im Rahmen der Optimierungsansätze variierte Inkubationstemperatur (siehe Kap. 3.1.2) hatte keinen relevanten Einfluss auf den Farbton der melanisierten Oberflächen (Bild 20 oben, siehe auch Bild 15). Bei Fichte nahm die Dunkelfärbung mit zunehmender Temperatur sogar leicht ab.

Bei einer Behandlung mit einer wässrigen Melanin-Lösung zeigte die Intensität der Färbung eine klare Abhängigkeit von der Auftragsmenge, wobei nach einem 3fachen Auftrag bereits eine Sättigung erreicht wurde (Bild 21, siehe auch Bild 17).

Der dunkelste erzielte Farbton war nach den beiden Melanisierungs-Varianten sehr ähnlich ( $L^*$  ca. 25,  $a^*/b^* \leq 5$ ).

- Die durch eine Besiedelung mit Lebkulturen melanisierten Oberflächen waren im Ausgangszustand leicht hydrophob (siehe Bilder 23 und 25 unten, Kontaktwinkel ca. 80-110°). Nach einer Behandlung mit einer wässrigen Melanin-Lösung waren die Oberflächen hingegen hydrophil (siehe Bild 27 unten, Kontaktwinkel ca. 30-50°) und unterschieden sich diesbezüglich nicht von einer unbehandelten Holzoberfläche.

Bild 18: Unterschiede im Melanisierungsgrad bei Tanne und Esche bei gleichen Inkubationsbedingungen (Serie 4: Reinkultur *D. concentrica*, Dampfsterilisation, auf Vermiculit)

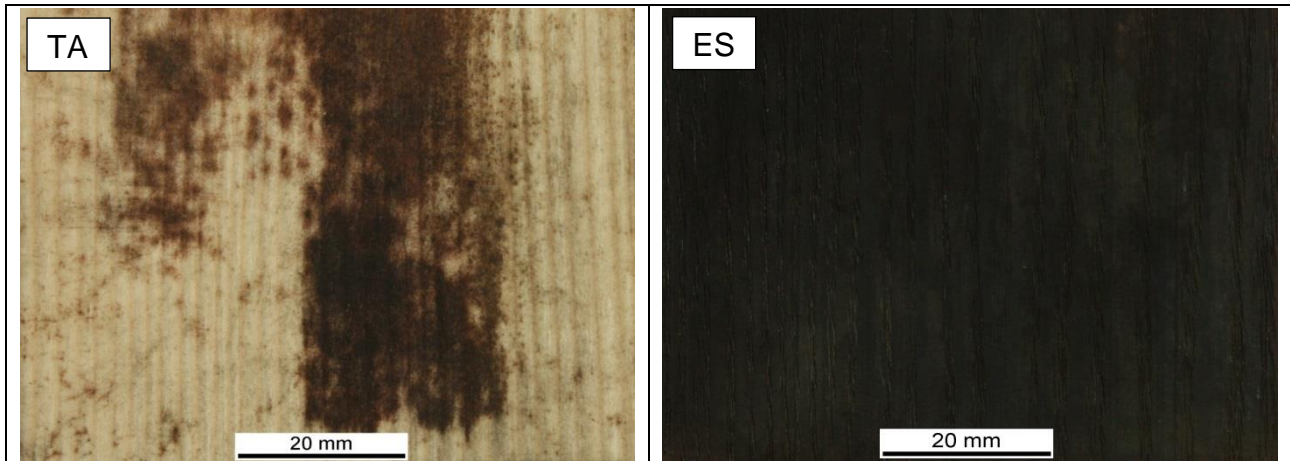


Bild 19: Makro- und mikroskopische Aufnahmen der Melaninschicht im Querschnitt. Oben: Melanierte Oberflächenbereiche bei einer Eschen- und Buchenprobe, mitte: Dünnschnitt einer Fichten- (links) und Eschenprobe (rechts), unten: Myzelstrukturen in einem Frühholzgefäß einer Eschenprobe.

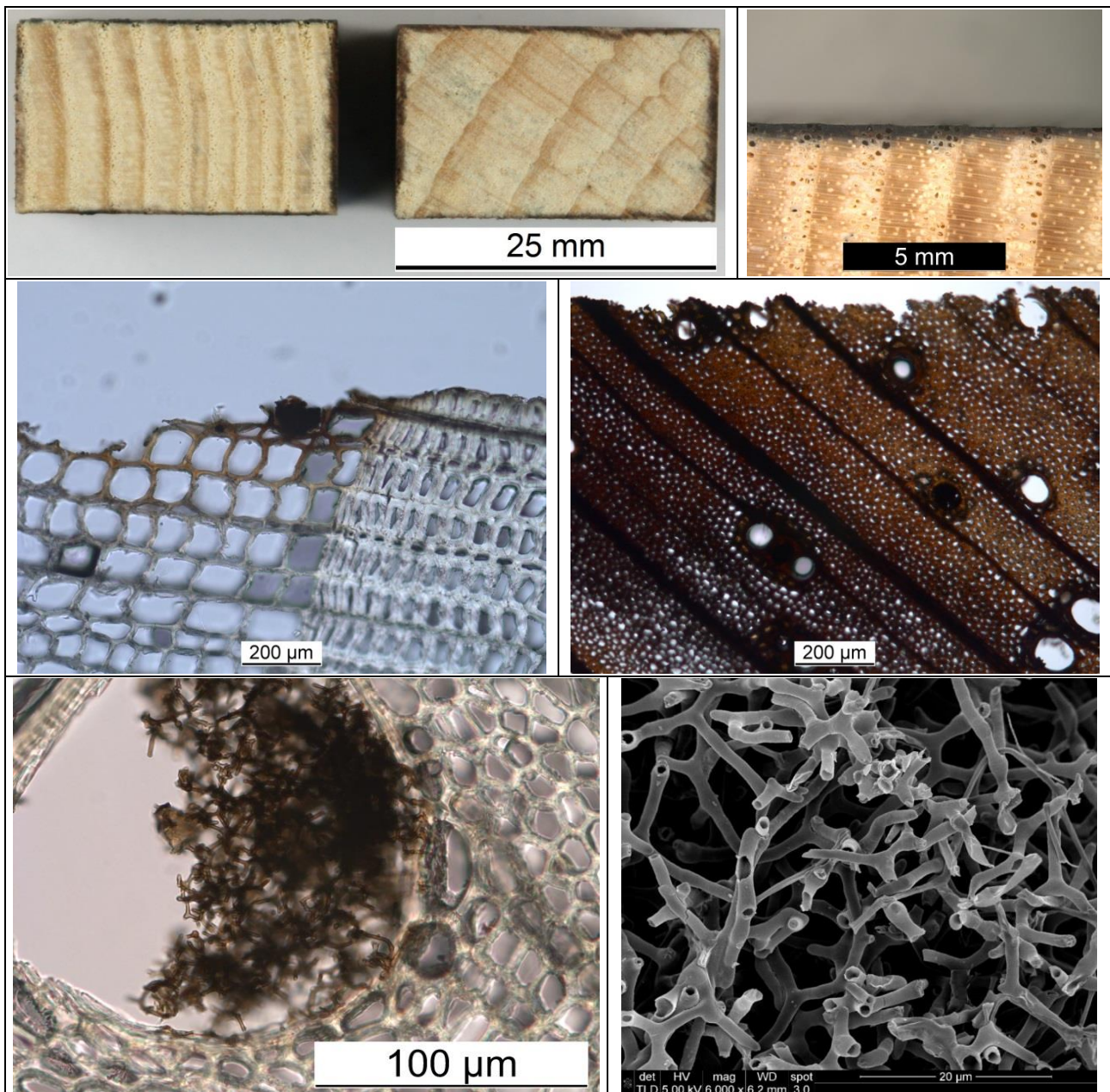


Bild 20: Farbwerte der Holzoberflächen nach der Besiedelung durch Lebkulturen von Schwärzepilzen in Abhängigkeit von Pilzart (Serie 0, oben) und Inkubationstemperatur (Serie 5, unten)

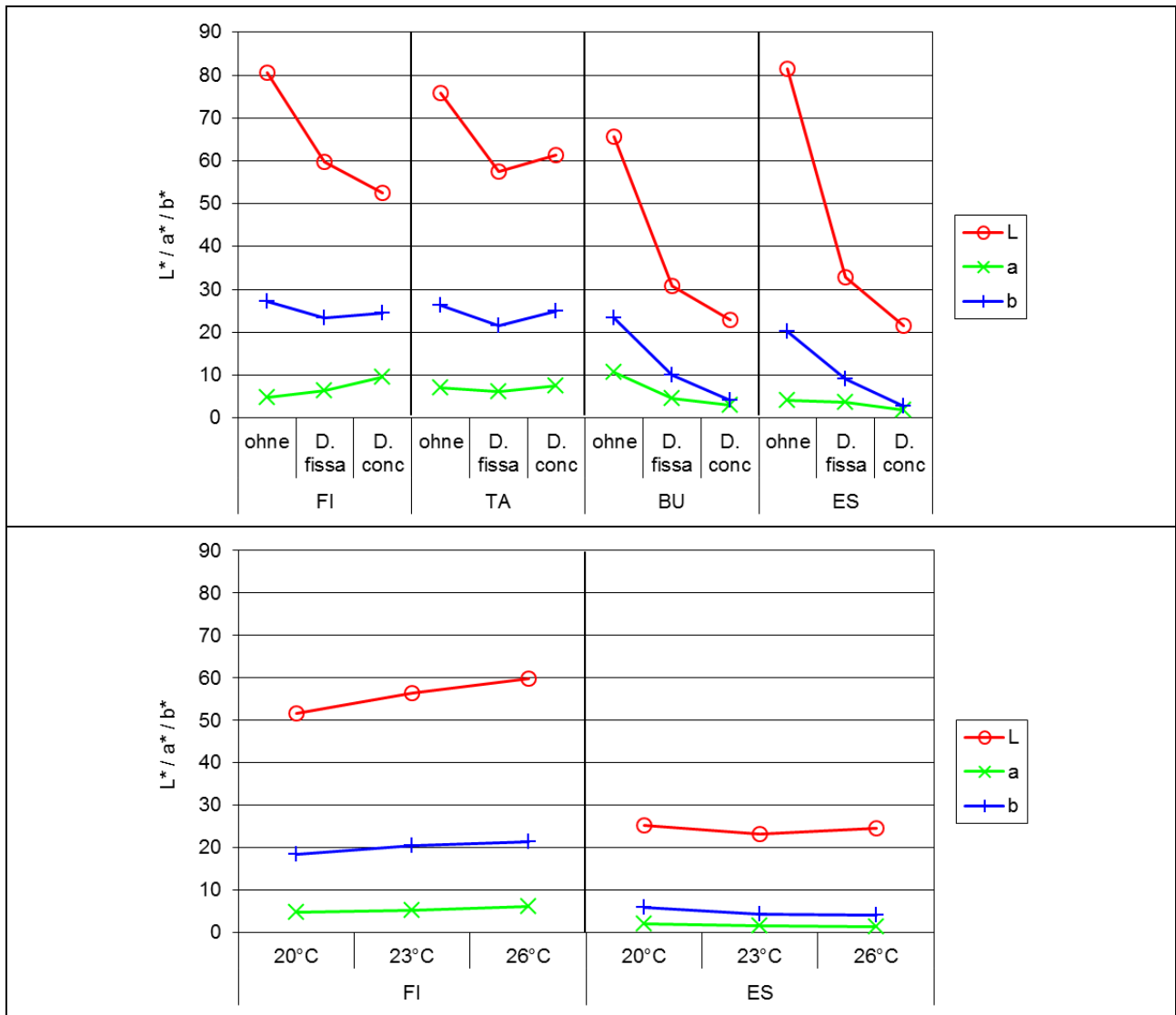
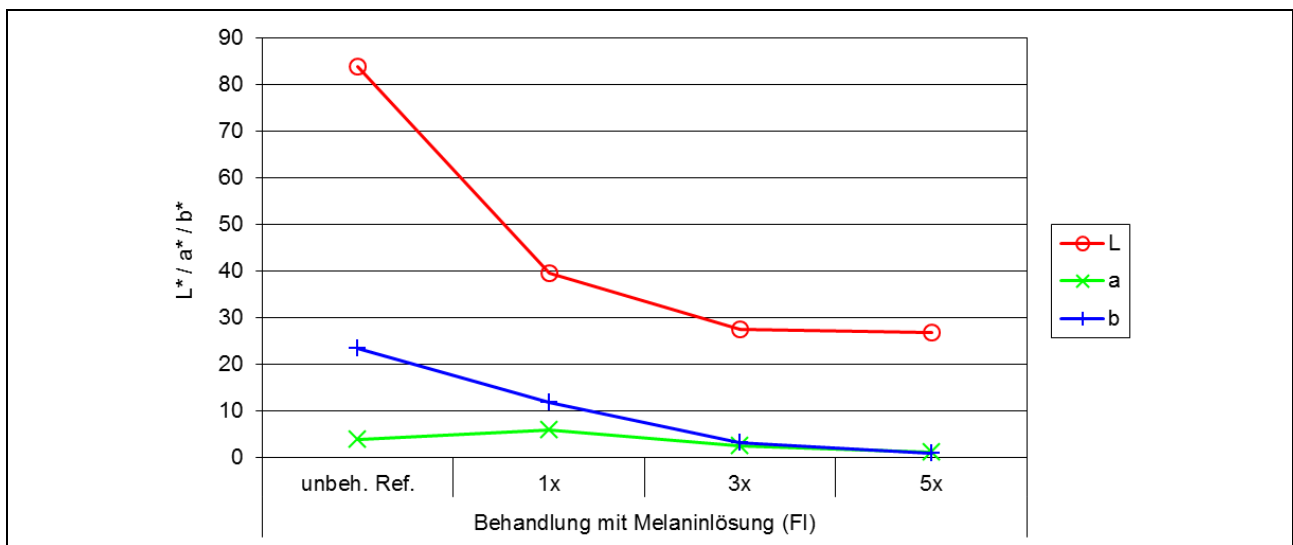


Bild 21: Farbwerte der Holzoberflächen (FI) nach der Behandlung mit Melanin-Lösung (Serie 7)



### 3.3 Witterungsbeständigkeit der melanisierten Holzoberflächen

Zur Quantifizierung der Witterungsbeständigkeit der melanisierten Holzoberflächen wurden künstliche und natürliche Bewitterungsversuche durchgeführt. Die Quantifizierung erfolgte anhand der Veränderung des visuellen Erscheinungsbildes sowie von Farbe und Kontaktwinkel im Verlauf der Bewitterung.

Die Ergebnisse der verschiedenen Bewitterungsversuche sind in den Bildern 22 bis 25 (Melanisierung durch Besiedelung mit Lebkulturen) sowie bis 26 bis 29 (Melanisierung mit einer konzentrierten wässrigen Lösung) dokumentiert und werden untenstehend detaillierter beschrieben.

Detailergebnisse / Beobachtungen zu den durch Besiedelung mit Lebkulturen melanisierten Oberflächen:

- Die Ergebnisse aus der künstlichen (Bilder 22 und 23) und der natürlichen (Bilder 24 und 25) Bewitterung stimmen sehr gut überein.
- Die Witterungsbeständigkeit der Holzoberflächen hängt wesentlich von deren Melanisierungsgrad ab. Bei den genügend stark melanisierten Proben war unabhängig von der Holzart sowohl die Farbänderung als auch die Rissbildung reduziert.

Bei den Nadelhölzern konnte die relativ dünne Melanischicht den Verwitterungsprozess nur geringfügig verzögern und nach 9 Monaten Freibewitterung waren melanisierte und nicht-melanisierte Referenzproben ähnlich vergraut (Bild 24). Die Melaninschicht war nach ca. 1500h künstlicher Bewitterung nicht mehr erkennbar (Bild 22).

In Übereinstimmung mit der visuellen Beurteilung des Melanisierungsgrades zeigten die mit *D. concentrica* melanisierten Eschenproben sowohl in künstlicher als auch bei natürlicher Bewitterung die beste Witterungsbeständigkeit (Bilder 22 und 24). Die mit *D. fissa* schwächer melanisierten Proben zeigten eine entsprechend schnellere Verwitterung.

- Die mit *D. concentrica* melanisierten Eschenproben waren äusserst farbstabil und die Gesamtfarbänderung  $\Delta E^*_{ab}$  betrug nach 2000h künstlicher Bewitterung weniger als 5 Einheiten und nach 12 Monaten Freibewitterung weniger als 15 Einheiten (Bilder 23 und 25 oben). Im Vergleich dazu lag die Gesamtfarbänderung der unbehandelten Referenzproben zwischen 20 und 40 Einheiten. Die Farbänderungen der mit *D. fissa* melanisierten Proben lagen insbesondere bei den Laubholzproben deutlich höher als bei den mit *D. concentrica* melanisierten Proben.
- Die anfänglich bei den melanisierten Oberflächen vorhandene Hydrophobie ging sowohl während der künstlichen als auch bei der natürlichen Bewitterung rasch verloren (Bilder 23 und 25 unten).

Eine zusätzliche Hydrophobierung der melanisierten Holzoberflächen war problemlos möglich und war auf den melanisierten Oberflächen ähnlich stabil wie auf den nicht-melanisierten Referenzproben (Bilder 23 und 25 unten). Die zusätzliche Hydrophobierung brachte aber keine dauerhafte Verbesserung der Lichtbeständigkeit (Bilder 23 und 25 oben).

Detailergebnisse / Beobachtungen zur Melanisierung mit einer konzentrierten wässrigen Lösung:

- Die mit Melaninlösung behandelten Oberflächen zeigten sowohl in natürlicher als auch in künstlicher Bewitterung eine deutlich geringere Farbbeständigkeit als die durch eine gezielte Besiedelung mit Schwärzepilzen melanisierten Proben. Schon nach kurzer Bewitterungszeit war bei den melanisierten Proben eine deutliche Aufhellung feststellbar (Bilder 26 und 28). Die Farbbeständigkeit wurde durch eine grössere Auftragsmenge tendenziell verbessert, die Hydrophobierung blieb unbeeinflusst (Bilder 27 und 29). Weder eine zusätzliche Hydrophobierung noch eine Klarlackbeschichtung verbesserten die Farbbeständigkeit, obwohl Auswaschungseffekte dadurch sicher verzögert wurden.
- Der Glanzverlust der Klarlackbeschichtung war unabhängig von der Melanin-Auftragsmenge (Bild 29 unten).

Nach ca. 1000h künstlicher Bewitterung traten bei der Klarlackbeschichtung als Folge von UV-Schäden auf der Holzoberfläche und der Unterfeuchtung der Beschichtung die bei transparenten Beschichtungen typischen streifenförmigen Verwitterungserscheinungen auf (Bild 28 unten links).

Bild 22: Verwitterungsverlauf von Pilz-inkubierten Proben in der künstlichen Bewitterung (Serie 0)

Zeitpunkt	Holzart	ohne Hydrophobierung										mit Hydrophobierung			
		D. fissa					D. concentrica					D. conc		ohne	
Start	FI														
	TA														
	BU														
	ES														
1000h	FI														
	TA														
	BU														
	ES														
2000h	FI														
	TA														
	BU														
	ES														

Bild 23: Veränderung von Farbe (Gesamtfaränderung  $\Delta E^*_{ab}$ , oben) und Kontaktwinkel (unten) bei Pilz-inkubierten Proben während der künstlichen Bewitterung (Serie 0)

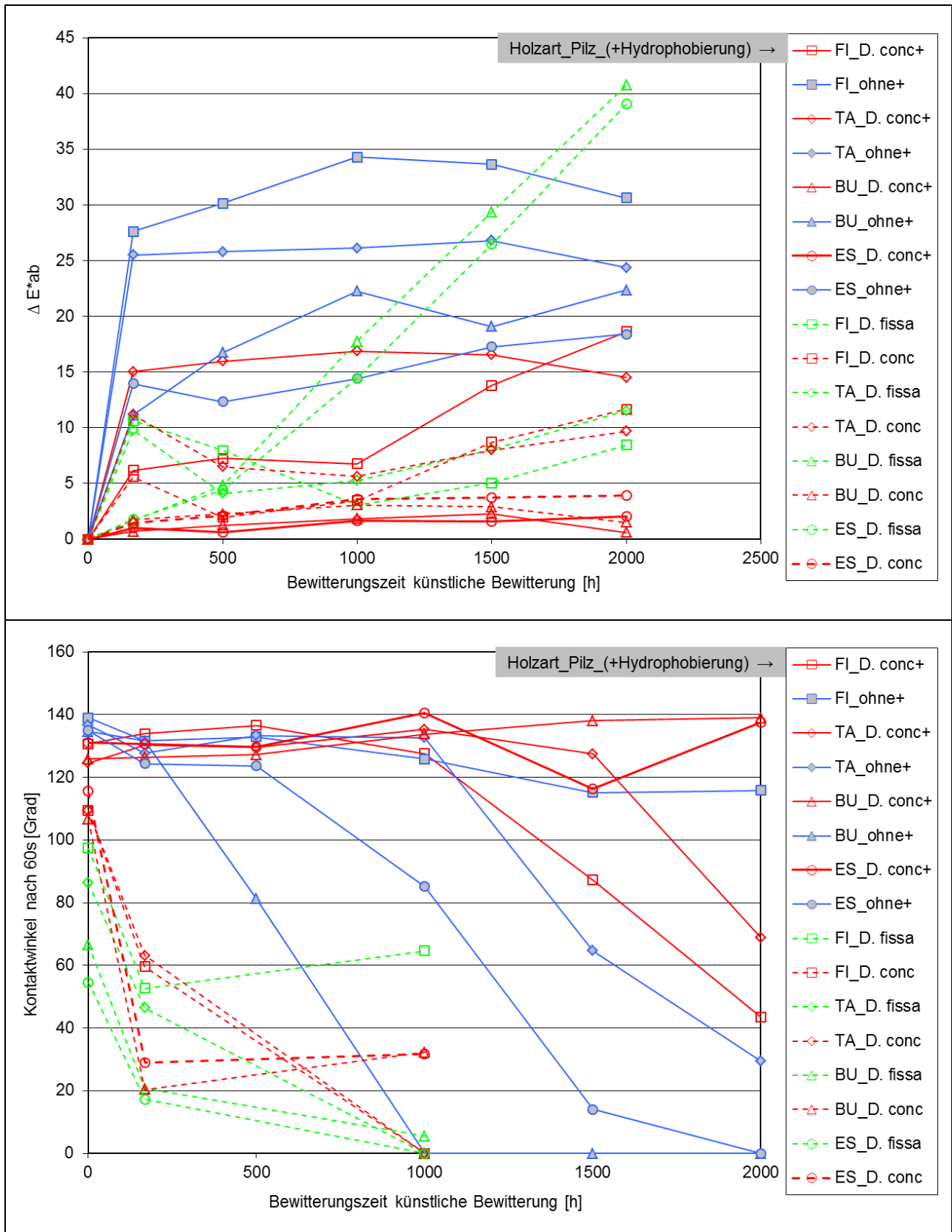


Bild 24: Verwitterungsverlauf von Pilz-inkubierten Proben in der natürlichen Bewitterung (Serie 0)

Zeitpunkt	Holzart	ohne Hydrophobierung			mit Hydrophobierung				
		D. fissa	D. conc	ohne	D. fissa	D. conc	ohne		
Start	FI	643	645	833	835	650	647	838	
	TA	693	695	884	891	698	694	883	
	BU					750	745	836	832
	ES					745	738	835	832
6 Monate	FI	643	645	833	835	650	647	838	
	TA	693	695	884	891	698	694	883	
	BU	746	741			738	745		
	ES	732	735			733	725		
12 Monate	FI	643	645	833	835	650	647	838	
	TA	693	695	884	891	698	694		
	BU	746	741			738	745		
	ES	732	735			733	725		

50 mm

Bild 25: Veränderung von Farbe (Gesamtfaränderung  $\Delta E^*_{ab}$ , oben) und Kontaktwinkel (unten) bei Pilz-inkubierten Proben während der natürlichen Bewitterung (Serie 0)

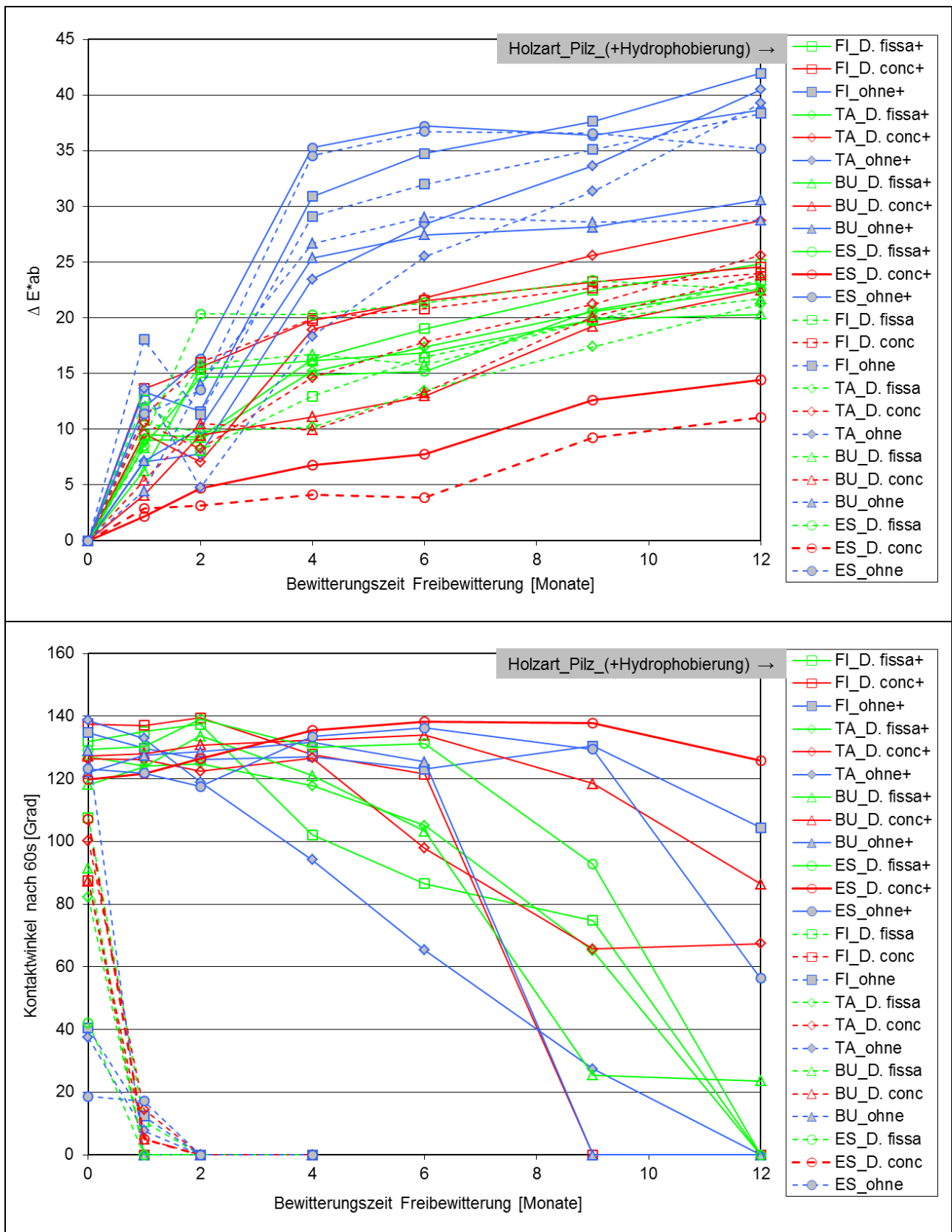


Bild 26: Verwitterungsverlauf der Melanin-behandelten Oberflächen in der natürlichen Bewitterung (Serie 7)



















Zeitpunkt	Hydrophobierung	natürliche Bewitterung			
		Melaninauftrag:	3x	5x	1x
Start	Nein				
	Ja				
1 Monat	Nein				
	Ja				
6 Monate	Nein				
	Ja				

Bild 27: Veränderung von Farbe (Gesamtfaränderung  $\Delta E^*_{ab}$ , oben) und Kontaktwinkel (unten) der Melanin-behandelten Oberflächen (ohne und mit zusätzlicher Hydrophobierung) während der natürlichen Bewitterung (Serie 7)

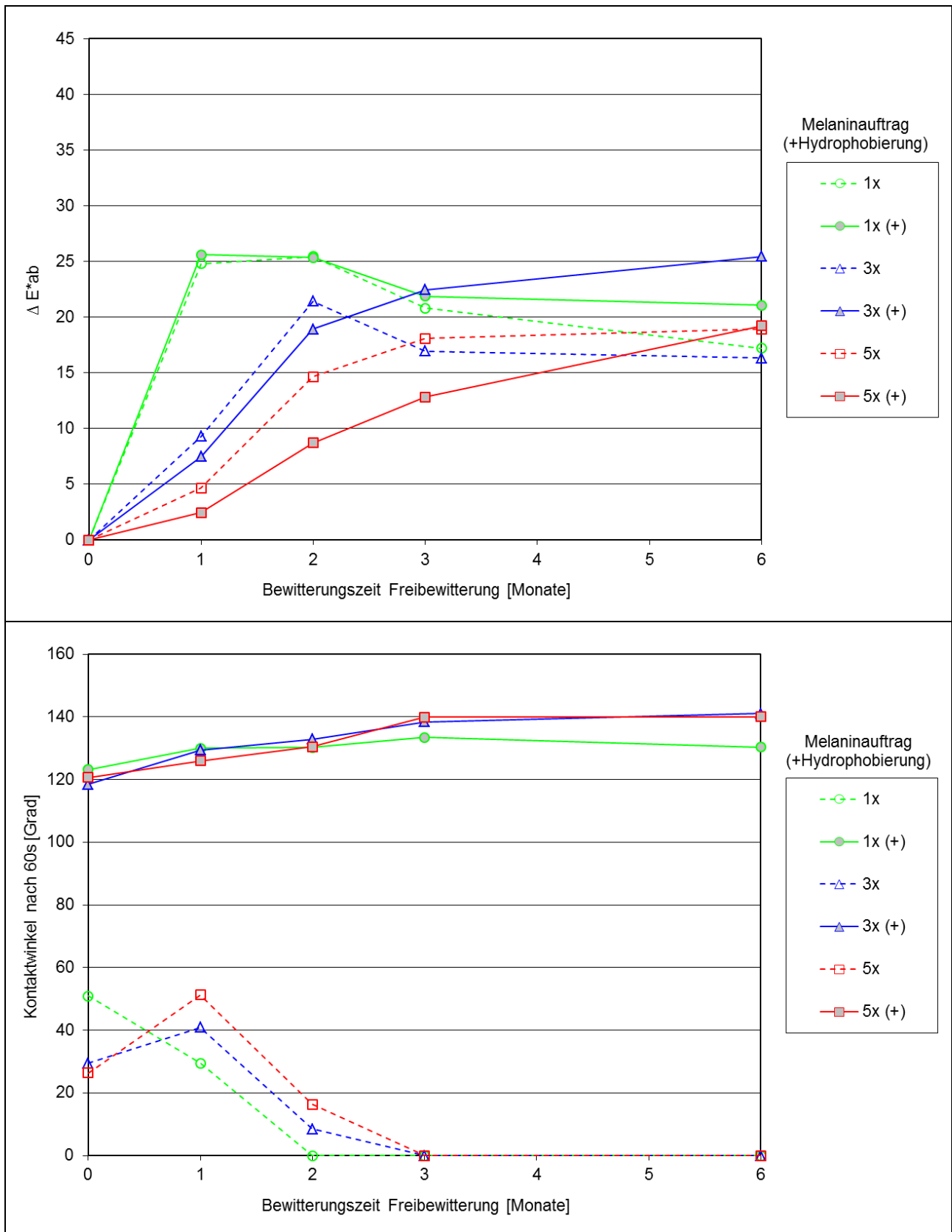


Bild 28: Verwitterungsverlauf der Melanin-behandelten Oberflächen mit zusätzlicher Klarlackbeschichtung


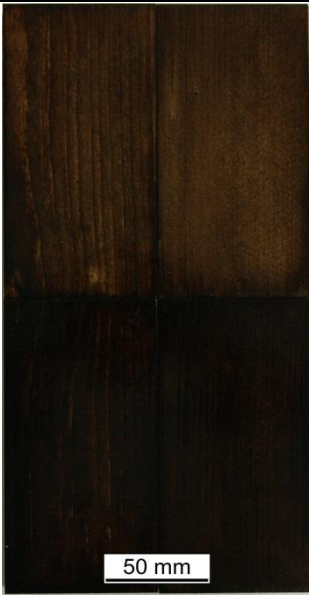




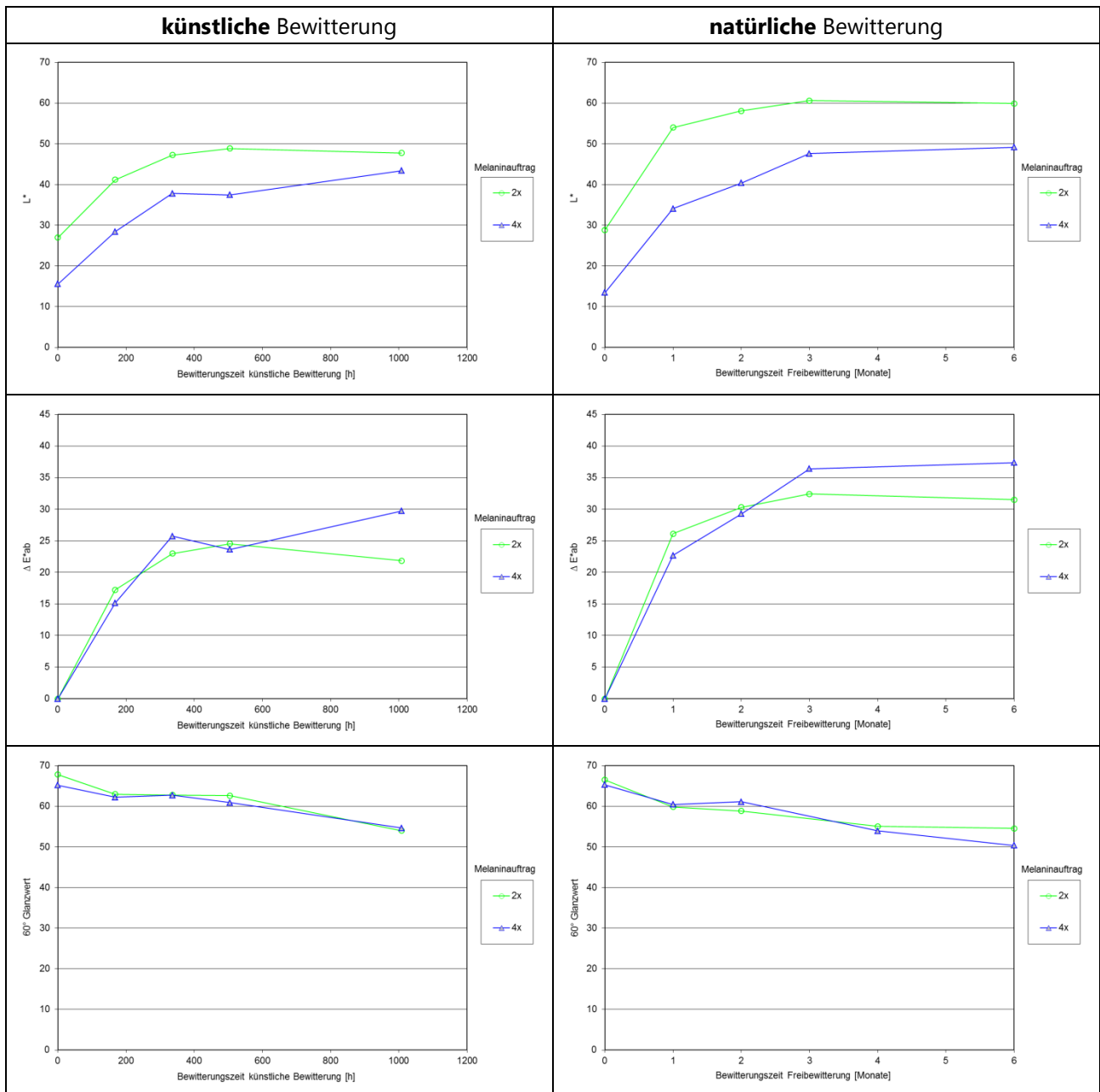
Melanin-Auftrag	künstliche Bewitterung		natürliche Bewitterung		
	Zeitpunkt		Zeitpunkt		
2x	Start				
4x					
2x	168h				
4x					
2x	1000h				
4x					

Bild 29: Veränderung von Farbe (oben: Helligkeit  $L^*$ , mitte: Gesamtfarbänderung  $\Delta E^*ab$ ) und Glanz (unten) der Melanin-behandelten Oberflächen (mit zusätzlicher Klarlack-Beschichtung) während der künstlichen und natürlichen Bewitterung (Serie 7)



## 4 Schlussfolgerungen

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.

### 4.1 Gesamtbeurteilung

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

#### 1. Demonstration der Machbarkeit einer gezielten Melanisierung von Holzoberflächen

- Die Melanisierung von Holzoberflächen durch eine gezielte Besiedelung mit Lebkulturen von geeigneten Schwärzepilzen ist grundsätzlich möglich. Vollständig melanierte Oberflächen haben einen homogenen dunklen (schwarzen) Farbton. Die stärkste Melanisierung wurde mit *D. concentrica* bei dampfsterilisierten (feuchten) Proben auf Vermiculit erzielt.
- Die eingesetzten Pilze unterscheiden sich bezüglich Wachstumsgeschwindigkeit und Intensität der Melanisierung. Das Pilzwachstum ist generell langsam und eine wirksame Melanisierung benötigt Wochen bis Monate. Dieser langsame Prozess könnte ein Hindernis sein für eine effiziente industrielle Umsetzung.
- Da die eingesetzten Pilze Laubholzspezialisten sind, erfolgt die Melanisierung bei Laubhölzern stärker als bei Nadelhölzern.
- Die Schwärzepilze sind wenig kompetitiv und können sich nicht gegen Fremdinfektionen durchsetzen. Dies kann zu Fehlschlägen bei der Inkubation führen.

#### 2. Quantifizierung der Schutzwirkung respektive der Erhöhung der Witterungsbeständigkeit

- Die Melanisierung der Holzproben erfolgt rundum in einer oberflächennahen Schicht von bis zu 1 mm Dicke.
- Bei einer genügend starken Melanisierung zeigen die Holzoberflächen eine hervorragende Witterungsbeständigkeit.
- Unter Bewitterung verlieren die melanierten Holzoberflächen die anfängliche (Eigen-)Hydrophobie relativ rasch. Eine zusätzliche konventionelle Hydrophobierung ist aber einfach möglich und dauerhaft.
- Die mit einer konzentrierten wässrigen Lösung melanierten Oberflächen zeigen in den durchgeführten eine deutlich geringere Farbbeständigkeit als die durch eine gezielte Besiedelung mit Schwärzepilzen melanierten Proben.

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

- Bezüglich Hochskalierung des Inkubationsprozesses erfolgte im Projekt ein erster Schritt mit grösseren Proben und Inkubationsgefässen.
- Der Wachstums- resp. Melanisierungsprozess muss überwacht werden können, um den optimalen Abbruchzeitpunkt zu bestimmen. Dies wurde bei den durchgeführten Laborinkubationen durch den Einbau einer Glasscheibe in den Deckeln der Kunststoffboxen realisiert.
- Zur Beeinflussung der Wachstumsgeschwindigkeit wurden verschiedene Optimierungen getestet. Die Ergebnisse zeigen, dass eine Beschleunigung nur beschränkt möglich zu sein scheint. Unklar ist zudem auch noch, ob ein schnelleres Pilzwachstum überhaupt zu einer besseren Melanisierung führt.
- Als alternative Möglichkeit wurden erste Versuche mit der direkten Melanisierung durch eine konzentrierte wässrige Lösung durchgeführt. Verbesserungen dieses Verfahrens sind aus den Ergebnisse aus einem zur Zeit laufenden Projekt zu erwarten.

## 4.2 Umsetzung / Forschungsbedarf

Für die Weiterentwicklung von Melanin im Witterungsschutz von Holzoberflächen bedürfen folgende Punkte noch einer eingehenderen Untersuchung:

Grundlagenaspekte:

- Charakterisierung des von Pilzen produzierten Melanins (Struktur, Lokalisierung der Melaninpigmente auf oder in der Holzzellwand)
- Temperatureinfluss auf den Melanisierungsprozess, insbesondere bei einer Inkubation auf Vermiculit
- Fixierung des Melanins an der Holzstruktur beim Auftrag als wässrige Lösung

Industrielle Umsetzung:

- Standardisierung und Beschleunigung des Inkubationsprozesses (inkl. Verminderung Infektionsgefahr)
- Weitere Hochskalierung zu grösseren Abmessungen (Fassadenschalung)
- Weiterentwicklung Behandlung mit Melanin-Lösung (Einbezug Ergebnisse aus laufendem Projekt)

## Literatur

- Arnold M. (2003). Properties and utilisation of native wood species - A review of activities at the EMPA Laboratory. In: Wood research - Knowledge and concepts for future demands; A tribute to Prof Dr Jürgen Sell. Forschungs- und Arbeitsbericht der EMPA Abt. Holz Nr. 115/50. Dübendorf, S. 63 -81.
- Arnold M. (2011). Witterungsschutz für Holzoberflächen im Aussenbereich. In: Zukunft bauen - Innovationen im Holzbau. Holzbau Schweiz, S. 18-19.
- Arnold M., Fischer A., Künniger T. (2010). Strukturhobeln - Charakterisierung und Auswirkungen einer innovativen Oberflächenbearbeitung für zu beschichtende Hobelware. Wissenschaftlicher Schlussbericht, WHFF-Projekt Nr. 2008.01.
- Arnold M., Künniger T., Fischer A., Bordeanu N., Risi W., Strub E. (2007). Dauerhafter Holzoberflächenschutz auf der Basis von Nanocomposites. Wissenschaftlicher Schlussbericht, KTI-Projekt 6948.2 IWS-IW.
- Butler M.J., Day A.W. (1998). Fungal melanins: a review. *Journal of Microbiology*, 44: 1115-1136.
- Fetzner R. 2012. Molekularbiologische Untersuchung des Sekundärmetabolismus in *Alternaria alternata*. Dissertation Universität Karlsruhe 111S.
- Greeley Beck H., Freitas S., Weber G., Robinson S.C., Morrell J.J. (2014). Resistance of fungal derived pigments to ultraviolet light exposure. International Research Group on wood protection IRG/WP 14-30642.
- Hamilton A. J., Gomez B. I. (2002). Melanins in fungal pathogens. *J Med Microbiol* 51: 189-191.
- Jacobson E. S. (2000). Pathogenic Roles for Fungal Melanins. *Clin Microbiol Rev* 13: 708-717.
- Kihara J., Moriwaki A., Tanaka N., Tanaka C., Ueno M., Arase S. (2008). Characterization of the BMR1 gene encoding a transcription factor for melanin biosynthesis genes in the phytopathogenic fungus *Bipolaris oryzae*. *FEMS Microbiol Lett* 281: 221-227.
- Lehringer C. (2011). Permeability improvement of Norway spruce wood with the white rot fungus *Physisporinus vitreus*. Dissertation Georg-August-Universität Göttingen.
- Meredith P., Riesz J. (2004). Radiative Relaxation Quantum Yields for Synthetic Eumelanin. In: *Photochemistry and Photobiology* 79: 211-216.
- Robinson S.C., Richter D.L., Laks P.E. (2007). Colonization of sugar maple by spalting fungi. *Forest Prod J* 57(4): 24-32.
- Rotem J. (1998). The genus *Alternaria*: biology, epidemiology, and pathogenicity. APS Press, St. Paul Minn.
- Roth L., Frank H., Kormann K. (1990). Giftpilze, Pilzgifte: Schimmelpilze, Mykotoxine, Vorkommen, Inhaltsstoffe, Pilzallergien, Nahrungsvergiftungen. 1. Auflage, ecomed vergesellschaft mbH.
- Schwarze F.W.M.R. (2008a). Diagnosis and prognosis of the development of wood decay in urban trees. ENSPEC, Rowville.
- Schwarze F.W.M.R., Spycher M., Fink S. (2008b). Superior wood for violins - wood decay fungi as a substitute for cold climate. *New Phytologist* 179, 1095-1104.
- Schwarze F.W.M.R., Landmesser H., Zraggen B., Heeb M. (2006). Permeability changes in heartwood of *Picea abies* and *Abies alba* induced by incubation with *Physisporinus vitreus*. *Holzforschung* 60, 450-454
- Tsuji G., Kenmochi Y., Takano Y., Sweigard J., Farrall L., Furusawa I., Horino O., Kubo Y. (2000). Novel fungal transcriptional activators, Cmr1p of *Colletotrichum lagenarium* and Pig1p of *Magnaporthe grisea*, contain Cys2His2 zinc finger and Zn(II)2Cys6 binuclear cluster DNA-binding motifs and regulate transcription of melanin biosynthesis genes in a developmentally specific manner. *Mol Microbiol* 38: 940-954.

## Normen

SN EN 927-3 (2012). Beschichtungsstoffe - Beschichtungsstoffe und Beschichtungssysteme für Holz im Aussenbereich - Teil 3: Freibewitterung

SN EN 927-6 (2006). Beschichtungsstoffe - Beschichtungsstoffe und Beschichtungssysteme für Holz im Aussenbereich – Teil 6: Künstliche Bewitterung von Holzbeschichtungen mit fluoreszierenden UV-Lampen und Wasser

SN EN ISO 2813 (2014). Beschichtungsstoffe - Bestimmung des Glanzwertes unter 20°, 60° und 85°

SN EN ISO 11664-4 (2011). Farbmeterik – Teil 4: CIE 1976 L\*a\*b\* Farbenraum