

Holger Militz

**Die Verbesserung der Imprägnierbarkeit von Fichtenholz mittels
chemischer und enzymatischer Vorbehandlung**



40951

Promotoren : dr. W. Pilnik
emeritus hoogleraar in de levensmiddelenleer
dr. ir. A.G.J. Voragen
hoogleraar in de levensmiddelenchemie

Holger Militz

**Die Verbesserung der Imprägnierbarkeit von Fichtenholz
mittels chemischer und enzymatischer Vorbehandlung**

Proefschrift

ter verkrijging van de graad van
doctor in de landbouw- en milieuwetenschappen,
op gezag van de rector magnificus,
dr. H.C. van der Plas,
in het openbaar te verdedigen
op woensdag 19 december 1990
des namiddags te vier uur in de aula
van de Landbouwniversiteit te Wageningen

BIBLIOTEK
LANDBOUW UNIVERSITEIT
WAGENINGEN

Stellungen (Thesen)

1. Der Abbau von Hoftüpfelmembranen von Fichtenholztracheiden führt nicht zwangsläufig zu einer Verbesserung der Imprägnierbarkeit des Fichtenholzes.
Kapitel 4
2. Die erhöhte Abbauproduktivität von Enzymen bei Temperaturen zwischen 30 - 40 °C ist für die Behandlung von Rundholz und Schnittholz unerheblich.
Kapitel 3
3. Die Einwirkung von Pectinesterasen auf die Holzzellwand führt zu einer verbesserten Fixierung kupferhaltiger Holzschutzmittel.
Kapitel 3
4. Aus der Holzzellwand lassen sich Uronsäuren auch mit Enzympräparaten, die keine Pectinesterasen und keine Polygalacturonasen besitzen, herauslösen.
Kapitel 2.2
5. Die verbesserte Imprägnierbarkeit von Fichtenholz nach Behandlung mit Enzymen beruht vor allem auch auf dem Abbau von Kreuzungsfeldtüpfelmembranen.
Kapitel 5
6. Der geringe Erfolg bei der enzymatischen Vorbehandlung von intaktem Kernholz im Vergleich zu Splintholz ist nicht durch Unterschiede in der chemischen Zusammensetzung der Zellwände zu erklären.
Kapitel 2
7. Der Verzicht auf den Gebrauch von Tropenholz führt in den wirtschaftlich entwickelten Ländern zu Umweltproblemen.
8. Die lokale Holzschutzbehandlung von Fensterrahmen mit toxischen Schutzsalzen ist aus ökologischen Gesichtspunkten den herkömmlichen Methoden vorzuziehen.
9. Die Weiterentwicklung der Hochtemperaturtrocknung von Holz bedroht Hersteller von Bläueschutzmitteln.
10. Beim Abbau von Holzzellwandstrukturen muss den Bakterien eine viel wichtigere Rolle zugeschrieben werden als bisher angenommen.
11. Die Eigentumsverhältnisse in der ehemaligen DDR behindern eine rasche wirtschaftliche Entwicklung in den neuen Ländern der Bundesrepublik Deutschland.
12. Die fortschreitende Arbeitszeitverkürzung bedingt auch eine fortschreitende Zerstörung der Umwelt.

H. Militz

"Die Verbesserung der Imprägnierbarkeit von Fichtenholz mittels chemischer und enzymatischer Vorbehandlung"

Wageningen, 19.12.1990

Kurzfassung

Militz, H. (1990): Die Verbesserung der Imprägnierbarkeit von Fichtenholz mittels enzymatischer und chemischer Vorbehandlung. Dissertation, Landbouwniversiteit Wageningen. 220 Seiten, 90 Abbildungen, 40 Tabellen. Zusammenfassungen in niederländisch und englisch.

Fein gemahlenes Fichtenholz (*Picea abies* (L.) Karst.) wurde mit verschiedenen Enzympräparaten inkubiert, die Enzymkonzentration, Dauer, Temperatur und Pufferkonzentration dabei variiert. Die aus der Zellwand herausgelöste Menge an Uronsäuren und neutralen Zuckern wurde qualitativ und quantitativ bestimmt. Die hierbei effektivsten Enzympräparate waren stets solche mit einem breiten cellulolytischen und hemicellulolytischen Wirkungsspektrum. Spezifische Pectinasen waren wenig effektiv. Splintholz und Kernholz wurden gleichstark abgebaut. Durch enzymatische Vorbehandlung intakten Fichtenholzes liess sich die Imprägnierbarkeit verbessern. Das Ausmass der Verbesserung hängt vom Enzympräparat, der Enzymkonzentration, der Behandlungsdauer, der Behandlungstemperatur und der Herkunft des Holzes ab. Der Erfolg der enzymatischen Vorbehandlung ist beim Splintholz grösser als beim Kernholz. Mittels Rasterelektronenmikroskopie war der Abbau des Torus und der Margo der Hoftüpfelmembranen sowie der einseitig behöften Tüpfel zwischen Tracheiden und Parenchym nachzuweisen. Es fand keine Reduktion der Druckfestigkeit und des E-moduls statt. Vorbehandlungen von intakten Fichtenschnittholz mit Laugen, Säuren und Komplexbildnern erbrachten keine Verbesserung der Imprägnierbarkeit.

Keywords:

Fichtenholz (*Picea abies*), Hoftüpfel, Imprägnierbarkeit, Eindringung, Holzschutzmittel, Enzyme, Cellulase, Pectinase, Hemicellulase, Polyuronide, Uronsäure, Komplexbildner, Säurebehandlung, Laugenbehandlung.

Danke

Für die Unterstützung bei meiner Arbeit danke ich meinen Anleitern, Prof. Dr. W. Pilnik und Prof. Dr. A.G.J. Voragen, Landbouwniversiteit Wageningen, die mir die Möglichkeit gegeben haben, Teile der Forschungsarbeit in den Forschungseinrichtungen der Sectie Levensmiddelenchemie en -microbiologie durchführen zu können. Der besondere Dank gilt Ihnen für die Hilfe und Diskussionsbereitschaft bei der Erstellung meiner Dissertation.

Der TNO als meinem Arbeitgeber bin ich zu Dank verpflichtet, die diese Arbeit durch ihre finanzielle Unterstützung ermöglichte. Besonders danke ich in diesem Zusammenhang meinem Institutsleiter, Ir. G.J.W. Oldeman, für das Zustandekommen der Arbeit, für sein Verständnis und seinen persönlichen Einsatz während der letzten 3 Jahre. In den Dank eingeschlossen sind alle Kollegen des Institutes, die mir bei den vielen kleinen und grossen Arbeiten zur Seite standen.

Mein ganz besonderer Dank gilt Ap van den Driessche, Mitarbeiter an der Landbouuniversiteit Wageningen. Durch seinen persönlichen Einsatz bei der Ausführung vieler Analysen und die hervorragende freundschaftliche Zusammenarbeit bei der "Abrundung" der Dissertation wurde die Arbeit in diesem Umfange erst ermöglicht. Auch allen anderen Mitarbeitern der Landbouuniversiteit, insbesondere Herrn H. Schols, danke ich für ihre Unterstützung.

Wertvolle Anregungen für meine Arbeit bekam ich von Mitarbeitern der Bundesforschungsanstalt für Forst- und Holzwirtschaft und der Universität Hamburg. In diesem Zusammenhang danke ich besonders Prof. Dr. H. Nimz, Dipl.Holzwirt S. Goetsch und Frau C. Schumacher.

Ir. W. Homan danke ich für seinen persönlichen Einsatz und die gute Zusammenarbeit bei der Durchführung seiner Diplomarbeit.

Die vorliegende Arbeit wurde teilweise im Rahmen eines EG-Forschungsprogrammes durchgeführt. Für die Finanzierung dieser Forschung danke ich hiermit.

Der Röhm GmbH, Darmstadt, danke ich für die Bereitstellung vieler Enzympräparate, die Ausführung einiger Analysen und die interessanten Diskussionen.

Ohne das Verständnis und die Unterstützung meiner Freundin Ute Krause wären die letzten Monate vor Fertigstellung der Arbeit noch anstrengender gewesen.

Resume

Militz, H. (1990): De verbetering van de impregneerbaarheid van vurehout d.m.v. enzymatische en chemische voorbehandeling. Proefschrift in het Duits, Landbouwwuniversiteit Wageningen. 220 pagina's, 90 afbeeldingen, 40 tabellen. Samenvattingen in het Nederlands en Engels.

Fijn gemalen vurehout (*Picea abies* (L.) Karst.) werd met verscheidene enzympreparaten geïncubeerd. De enzymconcentratie, de incubatietijd, de temperatuur en de bufferconcentratie werden daarbij gevarieerd. Het uit de celwand opgeloste mengsel van uronzuur en neutrale suikers werd zowel kwalitatief als kwantitatief bepaald. De enzympreparaten met een breed cellulolytisch en hemicellulolytisch spectrum werkten het meest effectief. Specifieke pectinasen waren weinig effectief. Spint- en kernhout werden even sterk afgebouwd. Door enzymatische voorbehandeling van intact vurehout laat zich de impregneerbaarheid verbeteren. De mate van verbetering hangt af van het enzympreparaat, de enzymconcentratie, de incubatietijd, de temperatuur en de herkomst van het hout. De gevolgen van enzymatische voorbehandeling zijn groter voor het spinthout dan voor het kernhout. Door gebruik te maken van rasterelektronenmicroscopie was de afbouw van de torus en de margo van de hofstippelmembranen, als ook de eenzijdige stippels tussen tracheïden en parenchym aan te wijzen. Er vond geen reductie plaats van de druksterkte evenwijdig op de vezel en de E-modulus. Voorbehandeling van het intacte vurehout met logen, zuren of chelaten leverde geen verbetering van de impregneerbaarheid op.

Sluutelwoorden:

Vurehout (*Picea abies*), hofstippel, impregneerbaarheid, indringing, houtverduurzamingsmiddel, enzym, enzymbehandeling, chemische behandeling, cellulase, pectinase, hemicellulase, polyuronide, uronzuur, chelaten, zuurbehandeling, loogbehandeling.

Dank

Voor de ondersteuning bij mijn arbeid dank ik mijn begeleiders Prof. Dr. W. Pilnik en Prof. Dr. A.G.J. Voragen van de Landbouwwuniversiteit Wageningen, die mij de mogelijkheid gegeven hebben delen van mijn onderzoek op de sectie Levensmiddelenchemie en -microbiologie uit te voeren. In het bijzonder ben ik hun dank verschuldigd voor hun hulp en hun discussiebereidheid tijdens de voltooiing van mijn proefschrift.

Het TNO als werkgever ben ik dank verschuldigd, omdat mijn werk mogelijk werd gemaakt door hun financiële ondersteuning. In het bijzonder dank ik in deze mijn instituutleider ir. G.J.W. Oldeman voor de totstandkoming van mijn werkzaamheden, zijn inzicht en zijn persoonlijke inzet gedurende de laatste drie jaar. Hierbij ingesloten zijn alle collega's van het instituut, die mij met vele kleine en grote zaken terzijde stonden; mijn dank hiervoor.

Mijn bijzondere dank geldt Ap van den Driessche, medewerker aan de Landbouwniversiteit Wageningen voor zijn motiverende persoonlijke inzet bij de uitvoering van een aantal analyses en de vriendschappelijke samenwerking bij de afronding van mijn proefschrift. Ook alle andere medewerkers van de Landbouwniversiteit, in het bijzonder Dhr. H. Schols, dank ik voor hun ondersteuning.

Waardevolle opmerkingen over mijn werkzaamheden ontving ik van medewerkers van de "Bundesforschungsanstalt für Forst- und Holzwirtschaft und der Universität Hamburg". In deze samenhang gaat mijn dank vooral uit naar Prof. Dr. H. Nimz, Dipl. Holzwirt S. Goetsch en Mevr. C. Schumacher.

Ir. W. Homan bedank ik voor zijn persoonlijke inzet en goede samenwerking tijdens zijn afstudeeropdracht.

De voor u liggende werkzaamheden werden voor een gedeelte uitgevoerd in het kader van een EG-Onderzoeksprogramma. Mijn dank voor de financiering van dit onderzoek.

De firma Röhm GmbH in Darmstadt, dank ik voor het ter beschikking stellen van enzympreparaten, de uitvoering van een aantal analyses en de interessante discussies.

Zonder het inzicht en de ondersteuning van mijn lieve vriendin Ute Krause waren de laatste maanden ter voltooiing van mijn proefschrift nog moeilijker geweest.

Abstract

Militz, H. (1990) : Improvement of the permeability of spruce by means of enzymatic and chemical pre-treatment. Dissertation in German, Agricultural University of Wageningen. 220 pages, 90 figures, 40 tables, summaries in Dutch and in English.

Finely ground spruce (*Picea abies* (L.) Karst.) was incubated with different enzyme preparations. The enzyme concentration, incubation time, temperature and buffer concentration were varied. The nature and quantity of uronic acids and neutral sugars released from the cell walls were determined. The most effective enzyme preparations were shown to be those with a broad cellulolytic and hemicellulolytic spectrum of activity. Specific pectinases were found not to be particularly effective. Sapwood and heartwood were broken down in equal degrees. Enzymatic preliminary treatment of intact spruce improved the permeability of the timber. The extent of the improvement was dependent on the enzyme preparation applied, the enzyme concentration, the incubation time, the incubation temperature and the origin of the timber. Enzymatic preliminary treatment was more effective in sapwood than in heartwood. Scanning electron microscopy made it possible to demonstrate the decomposition of the torus and the margo of the bordered pits as well as the decomposition of the pits between tracheids and parenchyma. The compression strength and the modulus of elasticity were not reduced. Preliminary treatment of intact spruce with alkali, acids and chelating agents did not result in improved permeability.

Key words:

Spruce (*Picea abies*), bordered pits, permeability, penetration, wood preservatives, enzymes, cellulase, pectinase, hemicellulase, polyuronide, uronic acids, chelating agents, treatment with acids, treatment with alkali.

Abkürzungen

APM-Verfahren	=	Alternating Pressure Method
Ara	=	Arabinose
AAS	=	Atomabsorptionsspektrometrie
CDTA	=	Trans-1,2-diaminocyclohexan-N,N,N',N'-tetraessigsäure
CKB-Salz	=	Chrom-Kupfer-Borsalz
CMC	=	Carboxymethylcellulose
E.C.	=	Commission on Enzymes of the International Union of Biochemistry
EDTA	=	Ethyldiaminotetraessigsäure
E-modul	=	Elastizitätsmodulus
Gal	=	Galactose
GalA	=	Galacturonsäure
Glc	=	Glucose
GLC	=	Gas Liquid Chromatography
GluU	=	Glucuronsäure
HPGPC	=	High Performance Gel Permeation Chromatography
HPLC	=	High Performance Liquid Chromatography
LSD	=	Less Significant Difference
Man	=	Mannose
Me-GluU	=	Methyl-Glucuronsäure
MHDP	=	Metahydroxydiphenyl
ML	=	Mittellamelle
NaAc	=	Natriumacetat
Na-HMP	=	Natrium-hexametaphosphat
NTA	=	Nitriloessigsäure
OPM-Verfahren	=	Oscillating Pressure Method
PAL	=	Pectatlyase
PG	=	Polygalacturonase

PL	=	Pectinlyase
PvAc-Leim	=	Polyvinylacetatleim
PW	=	Primärwand
REM	=	Rasterelektronenmikroskopie
r.F.	=	relative Luftfeuchtigkeit
Rha	=	Rhamnose
S	=	Sekundärwand (S1-S2-S3)
u	=	Holzfeuchte (Masse Wasser / Masse Trockensubstanz Holz)
Xyl	=	Xylose

Inhalt

Seite

1 Einleitung und Literaturbesprechung

1.1 Allgemeine Einleitung	1
1.2 Anatomie der Nadelholzellwand	1
1.2.1 Mikroskopischer Aufbau des Nadelholzes	1
1.2.2 Feinstruktureller Aufbau der Zellwand	4
1.2.3 Mikroskopischer, feinstruktureller und chemischer Aufbau des Hoftüpfels	7
1.3 Chemischer Aufbau der Zellwandkomponenten	9
1.4 Enzymatische Vorbehandlung von Holz	18
1.4.1 Enzymatische Abbaumechanismen	18
1.4.1.1 Klassifizierung von Enzymen	18
1.4.1.2 Kinetische Aspekte der Enzymanwendung	23
1.4.2 Hoftüpfelabbau mit Enzymen	25
1.4.3 Zielsetzung eigener Versuche	26
1.5 Chemische Vorbehandlung von Holz	27
1.5.1 Hoftüpfelabbau mit Chemikalien	27
1.5.2 Zielsetzung eigener Versuche	29

2. Enzymatischer Abbau von Zellwandsubstanzen

2.1 Einleitung	31
2.2 Bestimmung der Enzymwirksamkeit an Holzmehl	31
2.2.1 Abbau von Polysacchariden zu Uronsäuren und neutralen Zuckern	31
2.2.1.1 Material und Methoden	31
2.2.1.2 Versuchsdurchführung und Ergebnisse	36
2.2.2 Analytische Erfassung abgebauter Zellwandpolymere	48
2.2.2.1 Material und Methoden	48
2.2.2.2 Versuchsdurchführung und Ergebnisse	52
2.3 Bestimmung der Enzymwirksamkeit an intakten Holzproben	59
2.3.1 Material und Methoden	59
2.3.2 Versuchsdurchführung und Ergebnisse	60
2.4 Enzymaktivität bei Langzeitinkubation	63
2.4.1 Einleitung	63
2.4.2 Material und Methoden	64
2.4.3 Ergebnisse	65

3. Enzymatische Vorbehandlung von Fichtenholz	70
3.1 Enzymversuche mit intakten Kleinproben	70
3.1.1 Einleitung	70
3.1.2 Material und Methoden	70
3.1.2.1 Material	71
3.1.2.2 Methoden	72
3.1.3 Versuchsdurchführung und Ergebnisse	77
3.1.3.1 Vorversuche	77
3.1.3.2 Behandlung von Kernholz und Splintholz	77
3.1.3.3 Behandlung mit Cellulasen und Pectinasen	84
3.1.3.4 Wiederverwendung von Enzymen	86
3.1.3.5 Einfluss von Detergentien auf die Wirksamkeit der Enzyme	86
3.1.3.6 Abbau von Zellwandpolymeren und Eindringung von Flüssigkeiten	89
3.1.3.7 Behandlung mit an Holzmehl effektivsten Enzymen	91
3.1.3.8 Zusammenfassung der Enzymversuche mit Kleinproben	92
3.2 Enzymversuche mit Rundholz und Schnittholz	95
3.2.1 Einleitung	95
3.2.2 Enzymversuche mit Rundholzpfählen	95
3.2.2.1 Vorversuche	95
3.2.2.2 Einfluss des Tränkverfahrens	100
3.2.2.3 Vergleich wirksamer Handelspräparate	106
3.2.2.4 Beregnung mit Enzymen	109
3.2.3 Enzymversuche mit Schnittholz	114
3.2.3.1 Behandlung mit CA/DSP5	114
3.2.3.2 Variation der Behandlungsdauer	116
3.2.3.3 Beregnung mit Enzymen	120
3.2.3.4 Kurztauchversuch	123
3.3 Permeabilität von Holz	125
3.3.1 Permeabilität gegenüber Luft	125
3.3.2 Permeabilität gegenüber Wasser	131
3.4 Festigkeitseigenschaften enzymbehandelten Holzes	137
3.5 Auslaugung von Holzschutzmitteln aus enzymbehandeltem Holz	139
4. Chemische Vorbehandlung von Holz	142
4.1 Einleitung	142
4.2 Chemische Vorbehandlungen	142
4.2.1 Angewandte Chemikalien	142
4.2.2 Versuche mit Kleinproben	144
4.2.2.1 Vorversuch	144
4.2.2.2 Behandlung mit Laugen, Komplexbildnern und Säuren	151
4.2.2.3 Auswahl von Chemikalien für Schnittholzversuch	155
4.2.3 Versuche mit Schnittholz	158
4.2.4 Festigkeit des Holzes nach chemischer Vorbehandlung	162

5. Rasterelektronenmikroskopie	166
6. Diskussion der Versuchsergebnisse	174
6.1 Chemische Vorbehandlung	174
6.1.1 Vorbehandlungen mit Laugen	174
6.1.2 Vorbehandlung mit Säuren	175
6.1.3 Vorbehandlung mit Komplexbildnern	176
6.1.4 Vorbehandlung mit Calciumacetat	177
6.1.5 Anwendung chemischer Vorbehandlungen in der Praxis	177
6.2 Enzymatische Vorbehandlung	178
6.2.1 Abbau von Polysacchariden des Holzes	178
6.2.2 Verbesserung der Imprägnierbarkeit	185
6.2.3 Anwendung enzymatischer Vorbehandlung in der Praxis	188
7. Zusammenfassung	192
8. Anhang	198
9. Literatur	210

1 Einleitung und Literaturbesprechung

1.1 Allgemeine Einleitung

Fichtenholz (*Picea abies* (L.) Karst.) ist eine der wichtigsten Holzarten innerhalb Europas mit sehr grossem Vorkommen in Skandinavien und Mitteleuropa.

In allen Bereichen des Innenausbaus wird das Holz der Fichte seit jeher angewandt. Aufgrund seiner geringen natürlichen Dauerhaftigkeit muss das Holz jedoch in Verwendungsbereichen, in denen es langfristig hoher Feuchtigkeit ausgesetzt ist, mit chemischen Holzschutzmitteln geschützt werden. Hierbei ist ein grosser Nachteil, dass es nur sehr schwer mit Holzschutzmitteln zu imprägnieren ist und die zu erreichenden Eindringtiefen der Mittel ins Holz für einen dauerhaften Schutz oftmals nicht ausreichend sind.

Die Gründe für diese schlechte Imprägnierbarkeit sind in der anatomischen Struktur des Holzes zu suchen. Wie bei allen Nadelhölzern erfüllen beim Fichtenholz die Tracheiden sowohl die Aufgabe der Gewebefestigung als auch des Wasser- und Nährstofftransportes im Baum. Der Flüssigkeitstransport zwischen den benachbarten Tracheiden geschieht beim lebenden Baum vor allem durch Zellwandöffnungen, sogenannte Tüpfel. Bei der Trocknung des Holzes schliessen sich jedoch diese Strukturen, wodurch jeglicher Flüssigkeitsaustausch zwischen den Zellen unterbunden wird. Durch diesen Tüpfelverschluss wird somit auch die Eindringung von Holzschutzmitteln ins Fichtenholz extrem erschwert.

Den Tüpfelverschluss durch mechanische Behandlung des Holzes rückgängig zu machen und damit die Imprägnierbarkeit zu verbessern, war bis heute bereits das Ziel diverser Versuche (Phillips 1933, Bellmann 1968, Bamber u. Johnstone 1968, Banks 1973, Bergman 1973, Morgan 1976, Coggins 1981, Boutelje 1983), welche jedoch bisher zu keinem zufriedenstellenden Ergebnis führten. Andere Versuche zeigten hingegen, dass sich die Tüpfelmembranen durch bestimmte Enzyme aus der Zellwand herauslösen lassen (Suolahti u. Wallen 1958, Dunleavy u. Fogarty 1971, Adolf et al. 1972, 1974, Adolf 1975 u. 1976).

In den nachfolgend beschriebenen Versuchen soll untersucht werden, ob sich die Hoftüpfelmembranen der Fichtenholztracheiden durch eine Vorbehandlung mit Enzymen (*Kapitel 2 und 3*) oder mit Chemikalien (*Kapitel 4*) mit dem Ziel der besseren Imprägnierbarkeit aus dem Zellverband entfernen lassen.

1.2 Anatomie der Nadelholzzellwand

1.2.1 Mikroskopischer Aufbau des Nadelholzes

Das Holz der Nadelbäume zeigt im Gegensatz zu den phyllogenetisch jüngeren Laubhölzern einen einfachen Aufbau. Es besteht im wesentlichen aus zwei Zelltypen, den Tracheiden und den Parenchymzellen, die je nach Ausbildung Funktionen wie Wassertransport (Frühholztracheiden), Festigkeit (Spätholztracheiden) sowie Leitung und Speicherung von Nähr- und Reservestoffen (Parenchymzellen) übernehmen (Bosshard 1974, Stamm 1964, Grosser 1977, Jane et al. 1970).

In *Abb. 1* wird der anatomische Aufbau des Nadelholzes vereinfacht dargestellt. Aus ihr ist ersichtlich, dass der Aufbau anisotrop ist. Die Zellelemente sind hauptsächlich in Axialrichtung (Längstracheiden, Längsparenchym) angeordnet. Anteilsmässig geringer sind die radial gerichteten, den Holzstrahl formenden Zellelemente wie Holzstrahlparenchym und Holzstrahltracheiden (Butterfield u. Meylan 1980).

TRACHEIDEN

Beim Nadelholz ist die Tracheide der am meisten vorkommende Zelltyp. Er macht über 90 % des Nadelholzkörpers aus (Kollmann u. Cote 1968). In überwiegender Anzahl kommen die Tracheiden axialgerichtet als Längstracheiden vor. Diese toten Zellelemente leiten im Baum Wasser und sorgen für die Festigkeit des Holzes. Sie entstehen in der Kambialzone aus den Kambialinitialzellen, worauf ihre langgestreckte Form, die Zellen sind ca. 100x länger als breit, beruht.

Aus *Abb. 1* ist ebenfalls zu ersehen, dass Unterschiede zwischen den im Frühjahr gebildeten, dünnwandigen und weillumigen Frühholztracheiden und den später im Jahr geformten, dickwandigeren Spätholztracheiden bestehen. Durch ihren strukturellen Aufbau bedingt sind die Frühholztracheiden vor allem für die Saftleitung im Baum verantwortlich, die Spätholztracheiden vor allem für die Festigkeit. Die Zelllänge der Fichtentracheiden variiert je nach geographischer Herkunft des Baumes und räumlichem Vorkommens im Stamm zwischen 2-5 mm, der Durchmesser zwischen 20 - 40 μm .

Der Wasser- und Nährstoffaustausch zwischen aneinandergrenzenden Tracheiden wird durch Öffnungen in den Zellwänden, die Hoftüpfel, ermöglicht. Diese Hoftüpfel kommen vor allem in den Radialwänden der Längstracheiden vor. Sie ermöglichen dadurch einen tangentialen Transport von Flüssigkeiten (Stamm 1964). Dagegen wird der radiale Flüssigkeitsaustausch bei der Fichte hauptsächlich durch die radial gerichteten Tracheiden der Holzstrahlen ausgeführt (Bosshard 1974). Der Aufbau der Hoftüpfel wird näher in *Abschnitt 1.2.3* beschrieben.

In den radial gerichteten, vor allem aus Parenchymzellen bestehenden Holzstrahlen kommen bei einigen Holzarten (u.a. der Fichte) radial verlaufende Tracheiden vor. Diese Holzstrahltracheiden dienen in erster Linie dem radialen Wassertransport. Sie sind mit einer Länge von ca. 100 μm und einem Durchmesser von 10 - 20 μm erheblich kleiner als die Längstracheiden. Der Kontakt zu anderen Zellelementen wird, wie bei den Längstracheiden, durch Tüpfel ermöglicht (Panshin u. de Zeeuw 1980).

PARENCHYMZELLEN

Die Parenchymzellen dienen vor allem der Speicherung und Leitung von Nähr-, Wuchs- und Reservestoffen. Ihrer Funktion entsprechend, besitzt dieser Zelltyp weniger die langgestreckte, auf Festigkeit ausgerichtete Zellform der Tracheiden, sondern ist mehr rechteckig geformt und erheblich kürzer. Im Gegensatz zu manchen anderen Nadelhölzern und den meisten Laubhölzern kommen beim Fichtenholz nur radial gerichtete, den Holzstrahl formende, Parenchymzellen vor (Wagenführ 1984, Bosshard 1974).

Ein anderer im Fichtenholz vorkommender parenchymatischer Zelltyp ist die Epithelzelle. Diese Exkretzellen liegen in direkter Nachbarschaft zu den Harzkanälen und sondern Harz in diese Hohlräume ab.

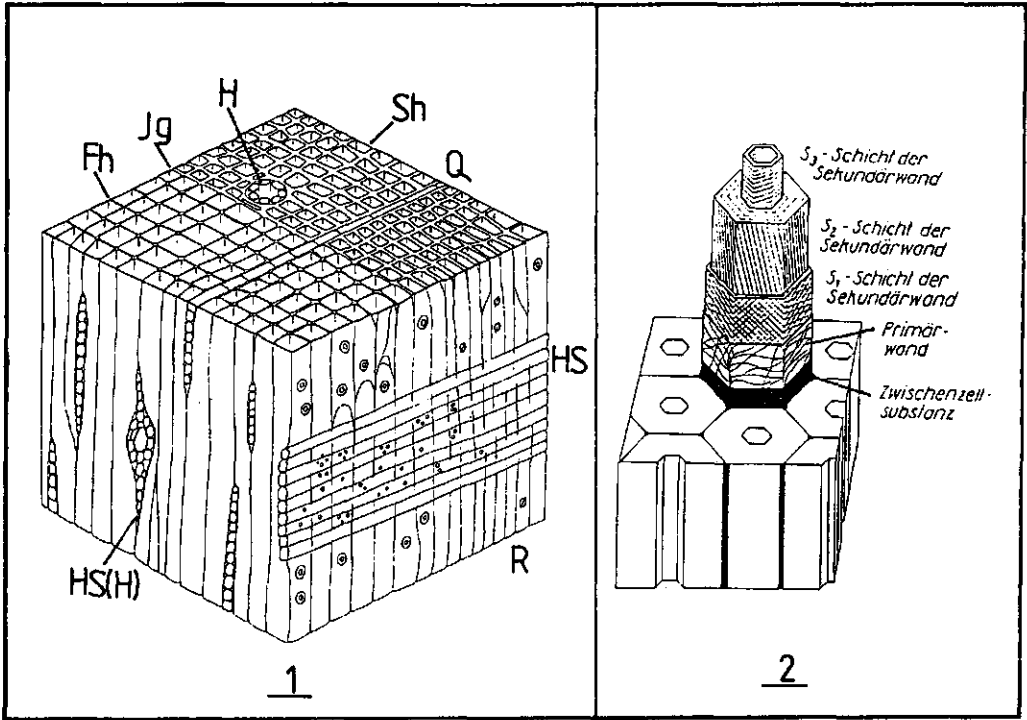


Abb. 1 : Anatomischer Aufbau des Nadelholzes (schematisch, Wagenführ 1984). Q = Querschnitt, T = Tangentialschnitt, R = Radialschnitt, Fh = Frühholztracheiden, Sh = Spätholztracheiden, Jg = Jahrringgrenze, HS = Holzstrahl, H = Harzkanal, HS(H) = harzgangführender Holzstrahl.

Abb. 2: Anatomischer Aufbau der Zellwand des Holzes (nach: Wardrop 1954).

Längstracheiden:	93 - 95 %
Holzstrahltracheiden:	< 1 %
Holzstrahlparenchym:	5-7 %
Längsparenchym:	-
Harzkanäle:	0.5 - 1 %

Tab. 1: Prozentualer Raumanteil der Zellarten im Gewebe von Fichtenholz .

Zelltyp	Grösse [µm]
<u>Längstracheiden</u>	
Länge	1100..3400..6300
Höhe	
tangential	21..30..40
radial Frühholz	30.3
radial Spätholz	17.7
<u>Holzstrahltracheiden</u>	
Länge	120 ± 47
Höhe	17 ± 4
<u>Holzstrahlparenchym</u>	
Länge	161 ± 83
Höhe	19 ± 3

Tab. 2 : Zelldimensionen von Fichtenholz (*Picea abies*) (aus: Trendelenburg u. Mayer-Wegelin 1955)

1.2.2 Feinstruktureller Aufbau der Nadelholzzellwand

Die Versuche, die in der vorliegenden Arbeit dargestellt werden, beschäftigen sich mit dem Abbau ganz bestimmter Zellwandbestandteile -der Hoftüpfel- durch chemische bzw. enzymatische Behandlung. Voraussetzung dafür ist die genaue Kenntnis über die strukturelle Zusammensetzung der Zellwand und der abzubauenen Tüpfel. In *Abschnitt 1.2.2* wird deshalb der feinstrukturelle Zellwandaufbau von Nadelhölzern beschrieben.

Bereits durch Anwendung lichtmikroskopischer Verfahren wurde erkannt, dass die Holzzellwand aus verschiedenen Schichten aufgebaut ist. Es bedurfte jedoch der Elektronenmikroskopie, um genaueren Aufschluss über den Aufbau zu erhalten und um zu erkennen, dass Zellwandschichten mit unterschiedlicher Anordnung und Packungsdichte der Mikrofibrillen bestehen (Wardrop 1954, 1958, Wardrop u. Harada 1965, Frey-Wyssling 1959, Harada 1965). Unter Zuhilfenahme dieser Unterscheidungsmerkmale lässt sich die Zellwand, von aussen nach innen, in folgende Schichten unterteilen (siehe auch *Abb. 2*).

- Mittellamelle (ML)
 - Primärwand (PW)
 - Sekundärwand: (S)
 - S1
 - S2
 - S3
- (-Warzenschicht)

MITTELLAMELLE

Die Mittellamelle, nach der Zellkernteilung als Trennwand zwischen den neu entstehenden Tochterzellen gebildet, formt die Verbindungsschicht zwischen benachbarten Zellen. Chemisch gesehen besteht die Mittellamelle, auch Interzellulärschicht genannt, vor allem aus Lignin und Pectin (Wagenführ 1984, Moskaleva u. Brjanceva 1973), jedoch wurden auch Proteine in Verbindung mit Calcium (Necesy 1964) sowie Silizium (Moskaleva u. Goncarova 1968) in ihr nachgewiesen. Auffallend ist, dass die Mittellamelle resistenter gegen chemische und mechanische Degradierung ist als andere Zellwandschichten (Bosshard 1974). Im Verhältnis zur Sekundärwand ist die Mittellamelle dünn (ML + PW ca. 0.1 - 0.2 μm ; Fengel u. Stoll 1973).

PRIMÄRWAND

Bereits während der Zellteilung lagert der Mittellamelle die Primärwand auf. Da keine klare Phasengrenze zwischen diesen beiden Schichten besteht, ist sie auch im Elektronenmikroskop nur schwer von der Mittellamelle zu unterscheiden und wird oftmals mit ihr zusammen aufgeführt. Mit einer Dicke von 0.1 - 0.2 μm machen sie zusammen nur ca. 4 % der gesamten Zellwandsubstanz aus. Im Gegensatz zur Mittellamelle besteht die Primärwand jedoch aus einem zerstreut angeordneten Netzwerk aus Cellulosefibrillen, in deren Zwischenräumen Pectin, Lignin und Hemicellulosen eingelagert sind (Frey-Wyssling 1959, Strasburger 1981, Trendelenburg u. Mayer-Wegelin 1955).

SEKUNDÄRWAND

Vor Abschluss der Zellwanddifferenzierung lagert der Primärwand die Sekundärwand auf (Takabe et al 1989). Im Elektronenmikroskop ist ein deutlicher Übergang von ungerichtetem Fibrillenverlauf (Streuungstextur) von der Primärwandseite der Sekundärwand hin zu gerichtetem Fibrillenverlauf mit definiertem Fibrillenwinkel in der S2-Schicht zu erkennen (siehe auch *Abb. 2*). Zur besseren Unterscheidung der Zellwandschichten wird deshalb die Sekundärwand unterteilt in S1, S2 und S3.

SEKUNDÄRWAND 1 (S1)

Dieser an die Primärwand grenzende Teil weist eine, der Primärwand ähnliche Streuungstextur auf (Bucher 1957, Meier 1955, Stemsrud 1956). Eine Tendenz zur schwachen Parallelstruktur mit Fibrillenwinkel von 60-80° erkannte Liese (1970). Diese S1 hat zudem einen laminaren Aufbau, bestehend aus 3 - 6 Lamellen. Mit einer Dicke von 0.1 - 0.35 μm macht die S1 ca. 5 - 10 % der gesamten Zellwanddicke aus. Die chemische Zusammenstellung dieser und der anderen Zellwandschichten ist *Tab. 4* zu entnehmen. Moskaleva u. Brjanceva (1973) wiesen zusätzlich zu den in dieser Tabelle genannten Komponenten -mittels histochemischer Verfahren- Pectinvorkommen in der Grenzschicht zwischen Primärwand und S1 nach.

SEKUNDÄRWAND 2 (S2)

Mit einer Dicke von 1 - 10 μm macht die S2 ca. 80 % der Zellwanddicke aus (Liese 1970). Sie besteht aus schraubig angeordneten, parallel liegenden Cellulosefibrillen (Fibrillenwinkel 5-30°). Im Frühholz lassen sich innerhalb der S2 20-30 aufeinandergepackte Lamellen unterscheiden; in den dickeren Spätholzzellwänden

sind es sogar 150. Chemisch gesehen besteht die S2 zu grossen Teilen aus Cellulose (51 %), Hemicellulose (32 %) und Lignin (17 %). Andere Autoren (Moskaleva u. Brjanceva 1973) finden auch hier zusätzlich Pectine in der Grenzschicht zwischen S1 und S2.

SEKUNDÄRWAND 3 (S3)

Diese, zur Lumenseite gewandte dünne Schicht (0.5 - 1.0 μm) wird von einigen Autoren der S2 zugeordnet (Wardrop u. Dadswell 1957), von anderen jedoch aufgrund ihrer Entstehungsgeschichte, ihrer Textur und ihrer besonderen Beständigkeit gegenüber Säuren und hohe Temperaturen als individuelle Schicht genannt (Meier 1955). Ähnlich der S2 ist das Mengenverhältnis der Zellwandkomponenten Cellulose, Hemicellulose und Lignin. Auch in dieser Schicht konnten Pectine nachgewiesen werden (Moskaleva u. Brjanceva 1973) sowie hohe Vorkommen an Glucuronoarabinoxylan (Takabe et al. 1989).

WARZENSCHICHT

Bei einigen Nadel- und Laubhölzern ist auf die S3 die sogenannte Warzenschicht aufgelagert. Aufklärung über Vorkommen und Struktur dieser Schicht ist vor allem Liese (1956, 1963) zu verdanken. Nach Liese ist das Vorkommen, die Verteilung und die Grösse der Warzen sehr variabel und abhängig von Holzart, Wuchsgebiet und Zellform. Diese Warzenschicht ist gegenüber Chemikalien und enzymatischem Pilzangriff widerstandsfähiger als die dahinterliegenden Zellschichten (Jayme u. Azzola 1966). Takabe et al. (1989) stellen in ihr vor allem Hemicellulosen fest.

	ML/PW	S1	S2	S3
Cellulose	0.5	4	37	4 [%]
Hemicellulose	0.5	5	22	3
Lignin	3	7	13	1

Tab. 3: Verteilung von Cellulose, Hemicellulosen und Lignin [%] auf die verschiedenen Zellwandschichten bei Fichtenholz (aus: Wagenführ 1984; nach: Panshin u. de Zeeuw 1980)

	ML/PW	S1	S2	S3
Cellulose	13	26	51	50
Hemicellulose	17	30	32	37
Lignin	$\frac{70}{100}$	$\frac{44}{100}$	$\frac{17}{100}$	$\frac{13}{100}$

Tab. 4: Chemische Zusammensetzung [%] der Zellwandschichten lignifizierter Nadelholzzellen (aus: Wagenführ 1984; nach: Panshin u. de Zeeuw 1980)

1.2.3 Mikroskopischer, feinstruktureller und chemischer Aufbau der Hoftüpfel

VORKOMMEN

Die Tracheide ist der im Nadelholz am meisten vorkommende Zelltyp. Das tracheideale Gewebe ist nicht nur für die Festigkeit, sondern auch für den Wassertransport des Baumes zuständig. Deshalb ist eine gute Verbindung zwischen angrenzenden Tracheiden notwendig. Dass die Wasserleitung im lebenden Baum nicht durch die Zellwand geschieht, sondern durch Öffnungen in ihr, den sogenannten Hoftüpfeln, wurde bereits frühzeitig unter dem Lichtmikroskop erkannt (Sanio 1873, Bailey 1913).

Die Hoftüpfel kommen in grosser Häufigkeit in den Radialwänden und den überlappenden Zellbereichen der Frühholztracheiden, weniger in Spätholztracheiden vor (50 - 300 Stück je Tracheide; Stamm 1964). Sie garantieren so den axialen und tangentialen Wassertransport. Artspezifisch kommen auf den Tangentialwänden wenig oder keine Hoftüpfel vor.

Mikroskopisch gesehen besteht der Hoftüpfel aus einer Tüpfelmembran, die als durchlaufende Mittellamelle und Primärwand gesehen werden kann, sowie bei vielen Nadelhölzern aus einem verdickten, runden Mittelteil, dem Torus. Im Tüpfelbereich hebt sich die Sekundärwand von der Tüpfelmembran ab und überwölbt sie, wodurch in der mikroskopischen Aufsicht ein Hof entsteht (Wagenführ 1984, siehe *Abb. 3*). Diese Ausbildungsform des doppelt behöften Tüpfels kommt ausschliesslich zwischen angrenzenden Tracheiden vor. Zwischen Parenchymzellen werden hingegen in der Regel unbehoftete, einfache Tüpfel ausgebildet. In einigen Fällen können jedoch auch schwach differenzierte Höfe bei interparenchymatischen Tüpfeln vorkommen (Laming 1974). Bei den Zellverbindungen zwischen Tracheiden und Parenchymzellen befindet sich an der Tracheidenseite ein Hof; die Parenchymzellenseite bleibt unbehoft (siehe *Abb. 3*).

Deutliche Unterschiede in der Anordnung und Ausformung des Tüpfels bestehen zwischen verschiedenen Baumarten und Gattungen (Bosshard 1974). Diese artspezifischen Unterschiede macht man sich bei der mikroskopischen Holzartenbestimmung zunutze. Untersuchungen der morphologischen Struktur der Tüpfel an 120 Nadelholzarten (Bauch et al. 1972) führten zur Einteilung in verschiedene "Strukturtypen" der Hoftüpfel. Als charakteristisches Gattungs- und Artmerkmal ist jedoch nicht nur der doppelt behofter Tüpfel zu gebrauchen. Auch die sogenannten Kreuzungsfeldtüpfel an den Berührungsstellen der Längstracheiden mit dem Holzstrahlparenchym bilden charakteristische Strukturen aus, die zu diagnostischen Zwecken herangezogen werden können (siehe auch *Abb. 4*).

FEINSTRUKTUR

Untersuchungen über den Feinbau der Hoftüpfel wurden erst durch Elektronenmikroskope möglich und von verschiedenen Autoren durchgeführt (Liese u. Fahnenbrock 1952, Frey-Wyssling u. Bosshard 1953, Eicke 1975, Kraher u. Cote 1963, Harada 1964, Liese 1965). Frey-Wyssling u. Bosshard (1953) erkannten, dass die Schliesshaut der Tüpfel 3-lamellig aufgebaut ist und die Fibrillenordnung betreffend den Primärwänden und der Mittellamelle entspricht. Die Margo selbst

besteht aus einem dichten Flechtwerk von Elementarfibrillen und gröberen Haltefäden. Der Torus ist als beidseitige Verdickung auf die doppelte Primärwand aufgelagert und besitzt eine Textur aus konzentrisch verlaufenden Fibrillen.

Spätere Untersuchungen ergaben, dass eine ungeordnete Primärwandstruktur der Margo nur in den ersten Jahrringen zu finden ist, jedoch bei älteren Zellelementen durch Fibrillenverschiebung eine Bündelung stattfindet, die die Margo als gebänderte Schicht erscheinen lässt. Diese Umlagerung geht nach Jayme u. Fengel (1959) mit dem Hoftüpfelverschluss einher.

Studien der Wandschichtung des Hoftüpfels mittels Lichtmikroskopie (Polarisations- und Phasenkontrastmikroskopie) sowie Elektronenmikroskopie (Abdruck- und Ultradünnschichtverfahren) führten zur Beschreibung des Hoftüpfels in Modellform (Harada u. Cote 1967, Jutte u. Spit 1963). Die Hoftüpfelmembran besteht nach Jutte u. Spit (1963) aus den durchlaufenden Primärwänden der aneinanderliegenden Zellen und der Mittellamelle. Der Hof wird geformt aus den Zellwandschichten S1, S2 und S3 (Abb. 5). Auf das Vorkommen von Warzenstrukturen auch im Tüpfelbereich wiesen bereits Wardrop et al. (1959) hin. Die Grösse des Torus variiert in den Frühholztracheiden des Fichtenholzes zwischen 7 - 10 µm, die Hoftüpfelöffnung (Porus) ist 4 - 6 µm gross.

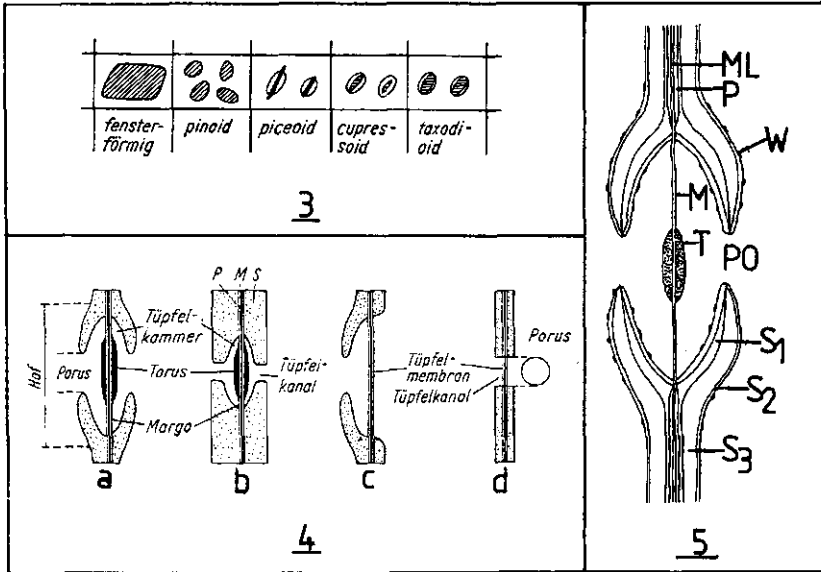


Abb. 3 : Aufbau der Nadelholztüpfel-Typen (Wagenführ 1984). a) Frühholzhof-tüpfel; b) Spätholzhof-tüpfel; c) halbbehörter Tüpfel zwischen Tracheide und Parenchymzelle; d) einfacher Tüpfel zwischen Parenchymzellen. Primärwand (P), Mittellamelle (M), Sekundärwand (S).

Abb. 4 : Kreuzungsfeldtüpfelung bei Nadelhölzern

Abb. 5 : Feinbau des Nadelholz-Hoftüpfels nach Harada u. Cote (1967). Mittellamelle (ML), Primärwand (P), Sekundärwand (S1, S2, S3), Warzenschicht (W), Margo (M), Torus (T), Porus (PO).

CHEMISCHE ZUSAMMENSETZUNG

Untersuchungen über die chemische Zusammensetzung der Nadelholz-Hoftüpfel führten zunächst zu widersprüchlichen Aussagen. So fanden Jayme u. Fengel (1961), Sachs (1963) den Torus der Hoftüpfel lignifiziert vor. Bamber (1961) hingegen wies auf nicht-lignifizierte Tüpfelmembranen hin.

Untersuchungen von Bauch et al. (1968), Bauch u. Berndt (1973) sowie von Bauch et al. (1974) zeigten auf, dass zwischen verschiedenen Baumarten, innerhalb einer Art, ja sogar zwischen den Tüpfeln benachbarter Tracheiden Unterschiede in der chemischen Zusammensetzung bestehen können. Im Splintholz der meisten untersuchten Arten fanden sie den Torus vor allem bestehend aus Pectin sowie Cellulose und Hemicellulose. Bei einigen Arten, nicht jedoch bei der Fichte, können schon im Splintholztüpfel phenolische Komponenten vorkommen, die sich jedoch mit Äthanol/ Benzol extrahieren lassen.

Bei der Verkernung fast aller untersuchter Arten findet eine Inkrustierung der Margo und teilweise auch des Torus mit phenolischen Stoffen statt, die zusätzlich oftmals von Lignineinlagerungen begleitet ist. Bei anderen Arten bleibt die Lignifizierung ganz aus. Auch Pew et al. (1964) wiesen Chinonmethidstrukturen, die als wichtiger Baustein der Ligninsynthese gelten, bereits im Torus des Splintholztüpfels nach. Die vorliegende Literatur zusammenfassend, kann für die chemische Zusammensetzung des Fichtenholztüpfels folgendes ausgesagt werden:

1) Im Splintholz bestehen die Margofibrillen aus Cellulose und Hemicellulose. Im Torus kommen vor allem Pectine vor, die in ein Gerüst aus Hemicellulose und Cellulose eingebettet sind. Im Splinttüpfel des Fichtenholzes können keine phenolischen Stoffe nachgewiesen werden.

2) Die Margo des Kernholztüpfels besteht aus Cellulose und Hemicellulose mit Einlagerungen phenolischer Art, eventuell auch Ligninstoffen. Der Torus ist aus Pectin, Cellulose und Hemicellulose aufgebaut und kann darüberhinaus mit phenolischen Stoffen und Lignin inkrustiert sein.

1.3 Chemischer Aufbau der Zellwandkomponenten

Für den gezielten Abbau bestimmter Zellwandteile, im vorliegenden Fall der Hoftüpfel, ist neben der Beachtung anatomischer Gegebenheiten des Fichtenholzes eine genaue Kenntnis des chemischen Aufbaus der Zellwandkomponenten notwendig.

Wie bei allen verholzten Zellstrukturen besteht auch die Zellwand des Fichtenholzes vor allem aus Cellulose, Hemicellulose und Lignin. Prozentual weitaus weniger machen Pectine, Tannine und andere Gerbstoffe, akzessorische Bestandteile u.a. aus. Eine Übersicht über die Zellwandbestandteile geben *Abb. 6* sowie *Tab. 5*. Als Holocellulose werden die nach Delignifizierung verbleibenden Polysaccharide verstanden. Im vorliegenden Kapitel werden die für die Problemstellung dieser Arbeit wichtigsten Zellwandkomponenten beschrieben. Da im Holzbereich für die Komponenten Cellulose, Lignin und Hemicellulose umfassende Buchwerke bestehen (Fengel u. Wegener 1984, Nikitin 1966, Browning 1967, Wise u. Jahn 1952), sollen diese hier nur kurz umschrieben werden. Eine Beschreibung der chemischen Zusammenstellung der Zellwandkomponenten ist ausserdem zum Verständnis und zur Wertung der in *Kapitel 2* beschriebenen Zuckeranalysen von Wichtigkeit.

Holocell.	Cell.	Hemi	Pentosan	Lignin	Eth.benz. extrakt	Wasser extrakt	
80.9	46.0	15.3	8.3	27.3	2.0	2.0	(1)
82.5	40.4	31.1	-	28.2	1.4		(2)
1 = Fengel 1966 a, b, Fengel 1967							
2 = Wegener 1974, Fengel et al 1978							

Tab. 5: Mengenmässiges Vorkommen der Zellwandbestandteile [%] im Fichtenholz (*Picea abies*) (nach: Fengel u. Wegener 1984).

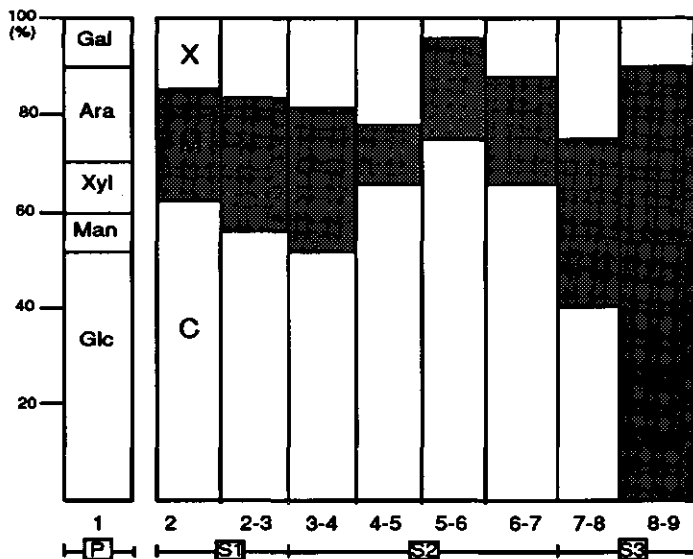


Abb. 6: Verteilung der Polysaccharide in der Zellwand. Cellulose (C), Galacto-glucomannan (M), Arabino-4-O- Methylglucuronoxylan (X) (nach: Takabé et al. 1989)

CELLULOSE

Cellulose ist prozentual gesehen der wichtigste Zellwandbestandteil (siehe Abb. 6, Tab. 5). Sie ist ein Polysaccharid, das ausschliesslich aus durch β -1,4 Bindungen verknüpften D-Glucoseeinheiten aufgebaut ist (siehe Abb. 7). Bei der Cellulose handelt es sich, im Gegensatz zur aus α -1,4-D Glucosebausteinen aufgebauten Stärke, um ein lineares, langgestrecktes Kettenmolekül. Die Kettenlänge variiert stark zwischen verschiedenen Pflanzentypen, Teilen einer Pflanze und sogar zwischen räumlich benachbarten Polymerketten (Nikitin 1966). Die Molekülgrösse der Cellulose wird ausgedrückt durch die Anzahl der glykosidisch aneinander gebundenen Anhydro-Glucoseeinheiten (auch Polymerisationsgrad DP genannt) und beträgt im Fichtenholz ca. 8000.

Mehrere Cellulosemoleküle lagern sich zu Elementarfibrillen (1.5 - 3.0 nm) zusammen, diese wiederum zur nächst grösseren Unterscheidungseinheit, den Mikrofibrillen (10 -

25 nm). Diese formen schliesslich ganze Zellwandschichten und bilden das Grundgerüst der Zellwand (Ranby 1954, Fengel u. Wegener 1984).

Für den Aufbau solcher supramolekularer Strukturen aus Glucoseeinheiten sowie Verknüpfungen mit anderen Zellwandbestandteilen sind in erster Linie die an den Glucosebausteinen befindlichen funktionellen Gruppen verantwortlich, wobei den Hydroxylgruppen eine wesentliche Rolle zukommt. Alle hydroxylhaltigen organischen Verbindungen, somit auch die Cellulose, zeigen zusätzlich zu den gewöhnlichen chemischen Bindungen eine Wechselwirkung zwischen den am Sauerstoff gebundenen H-Atom und freiem Elektronenpaar am Sauerstoff. Diese Wasserstoffbrückenbindungen besitzen zwar nur 1/10 der Stärke vieler chemischer Bindungen, haben jedoch aufgrund der vielfältigen Verbindungsmöglichkeiten eine wichtige Funktion. Daneben beruhen viele physikalische und chemische Verhaltensmuster auf dem Vorkommen freier Hydroxylgruppen an Cellulosebausteinen.

LIGNIN

Neben der Holocellulose ist Lignin der wichtigste Zellwandbestandteil bei verholzten Pflanzen. Anteile von 20 - 40% (je nach Pflanzenteil) zeigen auch dessen quantitative Bedeutung auf. Im Gegensatz zur überwiegend kristallin aufgebauten Cellulose ist das Ligninmolekül von amorpher Struktur und besitzt keinen übermolekulären und gestreckten Aufbau, sondern formt mehr kugelartige und teils vernetzte Gebilde. Aus dessen strukturellem Aufbau resultiert die versteifende und wenig elastische Funktion des Lignins in der Pflanzenzellwand. Durch wenig freie Hydroxylgruppen bedingt nimmt Lignin erheblich weniger Feuchtigkeit auf als Hemicellulose.

Das Ligninmolekül besteht chemisch aus vielen Phenylpropaneinheiten, die untereinander verknüpft sind. Die Synthese eines solchen Makromoleküls läuft über komplizierte Vorstufen (Shikimisäurecyclus und andere Vorstufen) vom Glucosebaustein hin zu den Grundbausteinen des Ligninmoleküls (Abb. 9). Diese Bausteine werden dann, vor allem durch Radikalmechanismen, zu Dimeren und weiter zum Makromolekül miteinander verknüpft. Ein vereinfachtes Modell für Fichtenholzlignin (Adler 1977), bestehend aus 16 C₉-Bausteinen, zeigt Abb. 10.

Für inter- und intramolekulare Bindungen zwischen Lignin und anderen Zellwandbestandteilen sind seine funktionellen Gruppen wichtig. Als besonders reaktive Gruppen sind hierbei die phenolischen OH-Gruppen, die dazu benachbart stehenden Wasserstoffatome am Ring, die OH-Gruppen in den Seitenketten, die Ätherbindungen der Seitenketten und die Methoxygruppen zu nennen (Nikitin 1966, Fengel u. Wegener 1984, Fry 1988). Neueren Versuchen von Takabe et al. (1989) an Tracheiden von *Cryptomeria japonica* zufolge beginnt die Lignifizierung in den Zellecken, setzt sich dann fort in der Mittellamelle, Primärwand, S1 und findet zuletzt in der S2 statt. Auch die Warzenschicht wird stark lignifiziert.

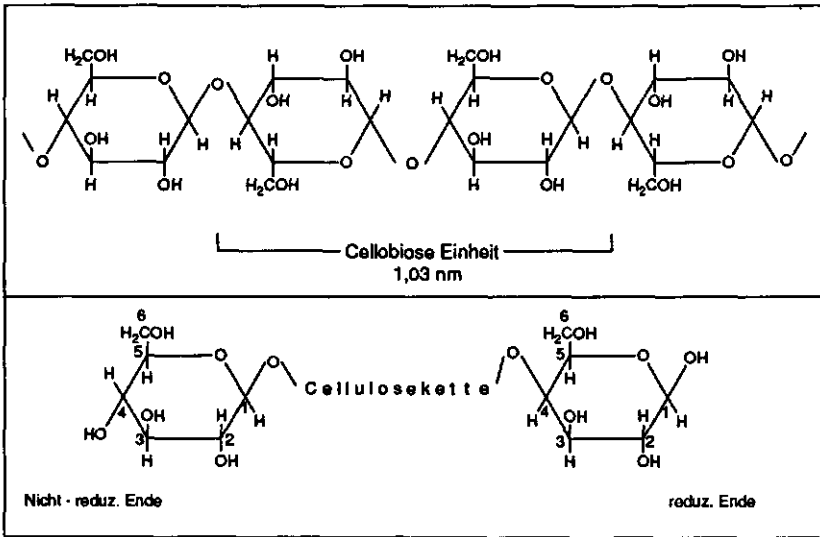


Abb. 7 : Cellulosemolekül, aufgebaut aus β -1,4-D-Glucoseeinheiten.

Cellulosekette Poly- β -1,4-D-glucosan		Breite 8,17 x 3,9 Å	Länge 5,15 Å
Elementarzelle 10 Glucosemoleküle, die 5 Celluloseketten angehören		8,17 x 7,84 Å	10,3 Å
Elementarfibrille (Kristallitstrang) (Micellarstrang) (Primärfibrille) Glucoseketten im Kristallgitter der Elementarzelle angeordnet		60 - 100 Å x 30 - 50 Å	150 - 200 Å
Mikrofibrille (Grundfibrille) (Sekundärfibrille) mehrere gebündelte Elementarfibrillen		80 - 100 Å x 200 - 300 Å	500 - 800 Å
Makrofibrille (Hauptfibrille, Lamelle) mehrere gebündelte Mikrofibrillen		600 - 4000 Å	bis ~ 3 μ m

Abb. 8: Aufbau von Cellulose-Makrofibrillen aus Glucosebausteinen, modellförmig dargestellt anhand einer Baumwollfaser.

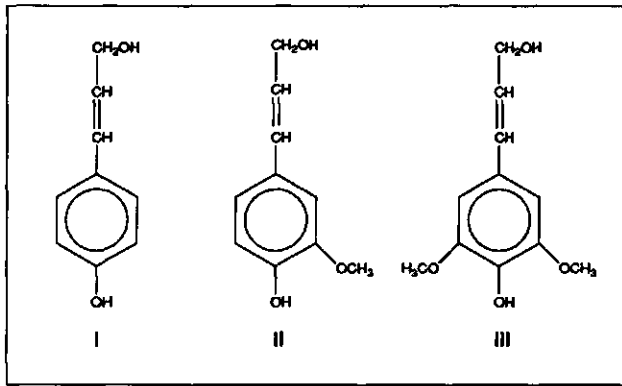


Abb. 9: Grundbausteine des Lignin-Makromoleküls.
 I *p*-Coumarylalkohol
 II Coniferylalkohol
 III Sinapylalkohol

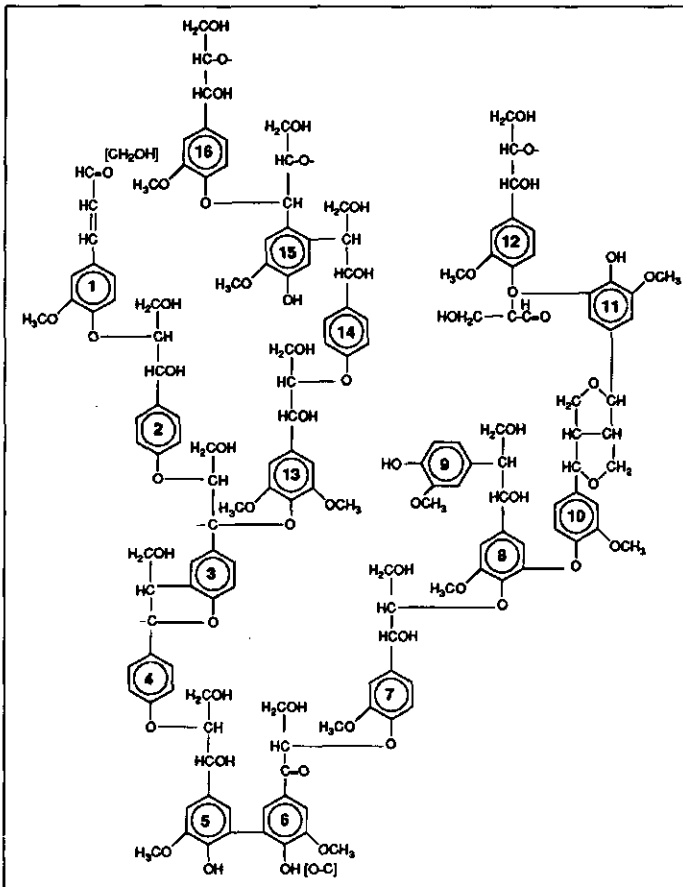


Abb. 10: Struktur des Fichtenlignins, bestehend aus verknüpften Phenylpropaneinheiten (Fengel u. Wegener 1984 nach: Adler 1977).

HEMICELLULOSEN

Die Hemicellulosen, oftmals zusammen mit der Cellulose als Holocellulose aufgeführt, stellen mengenmässig einen wichtigen Teil dar. Im Gegensatz zur kristallinen Cellulose besitzt das verzweigt aufgebaute Hemicellulosenmolekül keinen übermolekularen Bau. Aufgrund seiner verzweigten Struktur und dem Vorkommen vieler stark hydrophiler Gruppen sind grosse Teile der Hemicellulosen in Wasser oder Alkali löslich.

Die Löslichkeit der Hemicellulosen in unterschiedlichen Lösungsmitteln wird von einigen Autoren herangezogen, um die Hemicellulosen von anderen Zellwandbestandteilen zu unterscheiden. So bietet Fry (1988) als Klassifizierungsmerkmal der Hemicellulose an: "Non-cellulosic wall polysaccharides other than pectins....They are extractable by NaOH but not by cold chelating agents."

Davon abweichend definiert man im technischen Sektor, z.B. bei der Papierherstellung, als Hemicellulosen alle im Alkaliextrakt anfallenden Polyosen und kurzkettigen Cellulosen (Fengel u. Wegener 1984). Eine Zuordnung von Kohlenhydraten zu Zellwandbestandteilen gibt Aspinall (1973). Demnach gehören zur Gruppe der Hemicellulosen alle Xylane und Glucomannane der pflanzlichen Zellwand (siehe Tab. 6). Genauer beschreiben Fengel u. Wegener (1984) die am Aufbau des Hemicellulosenmoleküls beteiligten Zucker (siehe Abb. 11) und verweisen dabei auch auf Xylane und Mannane als Grundelemente des Moleküls.

Der Aufbau der Hemicellulosen und das Verhältnis der Zuckerbausteine zueinander ist zwischen Laubhölzern und Nadelhölzern verschieden. Im Hinblick auf die Versuche werden die Nadelholzxylane und -mannane im folgenden kurz beschrieben.

Cellulose	Glucan
Hemicellulose	Xylane, Glucomannane
Pectine	Galacturonane, Arabinane, Galactane u./o. Arabinogalactane mit linearen Ketten
andere Polysaccharide	Arabinogalactane (hochverzweigt), Fuco-xyloglucane
Glycoproteine	

Tab. 6: Zuordnung pflanzlicher Kohlenhydratbausteine zu Zellwandbestandteilen (Aspinall 1973)

NADELHOLZ XYLANE

Bei den Nadelhölzern fehlen im Vergleich zu den Xylanen des Laubholzes die Acetylgruppen. Sie besitzen jedoch L-Arabinofuranosebausteine, die durch α -(1,3)-Bindungen an die Xylanhauptkette gebunden sind. Durch diese Struktur bedingt sind die Nadelholzxylane den Arabino-4-O-Methylglucurono-Xylanen zuzuordnen. Die chemische Struktur eines solchen Bausteins stellt Abb. 12 dar.

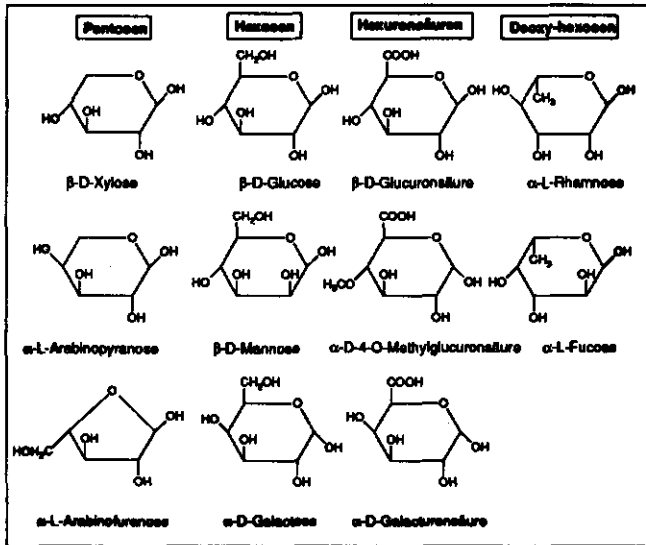


Abb. 11: Zuckerbausteine der Hemicellulosen (Fengel u. Wegener 1984)

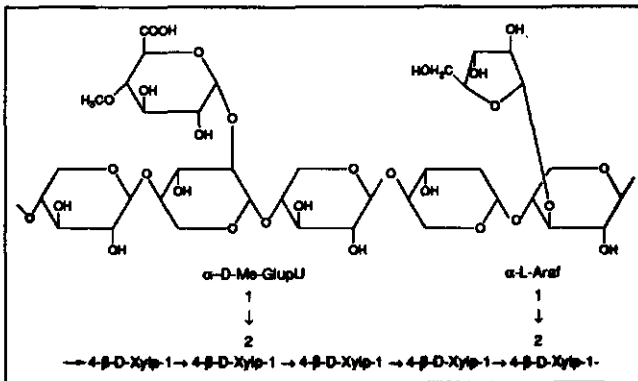


Abb. 12: Teilstruktur des Arabino-4-O-Methylglucuronoxylans der Nadelhölzer (Fengel u. Wegener 1984)

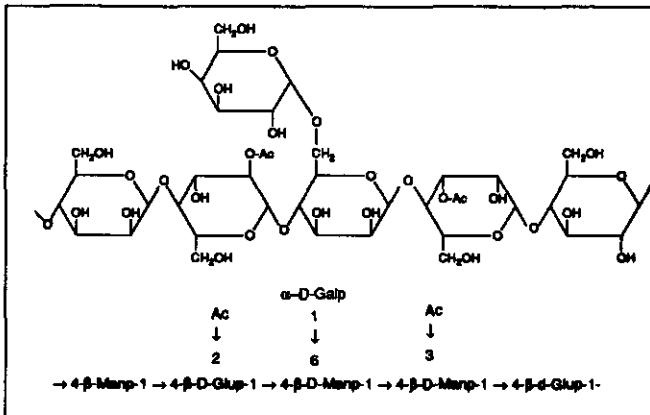


Abb. 13: Teilstruktur des O-Acetyl-Galactoglucomannans der Nadelhölzer

Für die Bewertung der in *Kapitel 2* beschriebenen Zuckeranalysen sind Vergleichswerte aus der Literatur von in Hemicellulosen vorkommenden Zuckern von Interesse. Die im Arabino-4-O-Methylglucuronoxylan enthaltenen Zucker kommen nach Timell (1967) in folgendem Verhältnis vor:

Xyl : Me-GluU 5 - 6 : 1
Xyl : Ara 6 - 10 : 1

Als Mittelwert des Verhältnisses der 3 Komponenten untereinander wird Xyl : MeGluU : Ara mit 8 : 1.6 : 1 angegeben. Andere Werte finden Zinbo u. Timell (1967) für Fichtenholzxyane. Demzufolge kommen die Komponenten Xyl : Me-GluU : Ara im Verhältnis 7.4 : 1.25 : 1 vor.

NADELHOLZ MANNANE

Nadelholz enthält ca. 20-25 % Mannane mit Glucomannanen im Hauptglied, an welche Acetylgruppen und Galactosebausteine geknüpft sind (Fengel u. Wegener 1984). Demzufolge sind die Nadelholzmannane O-Acetyl-Galactoglucomannane zu nennen. Abhängig von der Separationsmethode findet man stark variierende Verhältniszahlen der Zuckerbausteine (Rogers u. Thomson 1969, Fengel 1979). Für wasserlösliche Galactoglucomannane findet man Mittelwerte von Man : Glu : Gal 3 : 1 : 1, bei alkalilöslichen 3 : 1 : 0.2 (Timell 1967).

PECTIN

Pectine kommen weitverbreitet in der Pflanzenwelt vor. Im Zellverband beschränkt sich ihr Vorkommen auf die Mittellamelle und Primärwand (Fry 1988, Takabe et al. 1989). Der histochemische Nachweis der veresterten Pectine kann durch Einfärben mit alkalischem Hydroxylamin-Eisenchlorid geführt werden (McCready u. Reeve 1955, Gee et al. 1959), nicht so spezifisch ist die Färbung mit Rutheniumrot (Aspinall 1973). Fry(1988) definiert die Pectine als "Polysaccharide, die reich an D-Galacturonsäure sind, deren Seitenketten und chemisch ähnliche Polysaccharide". Eine andere Definition ist auf die Löslichkeit des Pectinmoleküls gerichtet: "Pectine sind durch Komplexbildner zu lösende Polysaccharide und chemisch ähnliche Polysaccharide".

Strukturell werden Pectine charakterisiert durch eine lineare Hauptkette von D-Galacturonsäurebausteinen (GalA), die durch α -(1-4) Bindung glykosidisch miteinander verbunden sind. Die Carboxylgruppen dieser Säuren sind teilweise mit Methylalkohol verestert. Der Methylierungsgrad (DM) ist definiert als Anteil methylierte GalA pro 100 GalA. Native Pectine kommen, abhängig vom Reifegrad, meist hochverestert vor (DM > 70). Bei Ananaspectin fanden Voragen et al. (1983) jedoch niedrig veresterte Pectine (DM 25). Unveresterte GalA kann untereinander und mit anderen Zellwandpolymeren über Ca-Brücken verbunden sein. Diese Ca-Brücken behindern u.a. die Löslichkeit der Pectine (Doesburg 1965, Joslyn 1962). Die GalA können am O2 oder O3 acetyliert sein. McComb u. McCready (1957) fanden schwach acetylierte Pectine, Voragen et al. (1986) fanden bei Kartoffeln höher acetylierte Pectine.

Jarvis (1984) beschreibt die Pectine als "block-polymers". Manche Teile des Pectinmoleküls ("blocks") bestehen vor allem aus unverzweigten α -D-Galacturonsäurebausteinen, andere Teile des selben Moleküls sind verzweigt und enthalten Rhamnose, Galactose und Arabinose (DeVries et al. 1983). Die in der

Pectinhauptkette vorkommenden Rhamnoseeinheiten sind oftmals der Anknüpfungspunkt für diese neutralen Zucker. Diese verzweigten Stellen sind gegen enzymatischen Angriff widerstandsfähiger als unverzweigte (McNeill et al. 1980). Die Pectine einiger Pflanzen enthalten zudem geringe Mengen an Xylose (z.B. in der Frucht von Äpfeln, jedoch nicht in Citruschalen; DeVries et al. 1984).

Literaturangaben zur Pectinstruktur im Holz orientieren sich stark an den Resultaten an anderem Pflanzenmaterial. Jayme u. Hahn (1960) finden bei Buche, Pappel und Fichte weniger als 1 % Galacturonsäure, Allsop u. Misra (1940) hingegen finden in Kambiumzellen von Kiefer, bei denen noch keine Sekundärwand aufgelagert ist, 16.6 % und im Splintholz 1.3 % Galacturonsäuren. Grosse Unterschiede im Pectingehalt innerhalb einer Holzart konstatieren auch Thornber u. Northcote (1962), die im Kiefernkernholz 1 %, im Splint 1.3 % im Kambium 8.4 % und im Phloem sogar 10 % nachweisen können. Bei neueren Untersuchungen von Westermarck et al. (1986) wurde der Uronsäuregehalt in verschiedenen Bereichen des Fichtenholzes untersucht. Sie fanden durchschnittlich 1.9 % Uronsäure im Holz, in jungen Pflanzenteilen jedoch 10.6 %. Die Zellwand der Parenchymzellen besteht diesen Versuchen zufolge zu 3.4 % aus Uronsäuren. Mit einer speziellen Präparationstechnik untersuchten die Autoren die zusammengesetzte Mittellamelle von älteren Fichtentracheiden und entdeckten in dieser Schicht 5.1 % Uronsäuren.

Angaben zur Pectinstruktur von Gewebekulturen einer Ahornart geben Talmadge et al. (1973) anhand eigener Analysen. Demnach besteht die Pectingrundkette aus Galacturonsäure- und Rhamnoseeinheiten. Jeder 8. Baustein ist eine Rhamnoseeinheit, die durch α -(1,2)- und α -(1,4)-Bindungen an die Galacturonsäure gekoppelt ist. Ungefähr 50 % der Rhamnose in der Grundkette ist mit Galactanen verknüpft, die Teile der Seitenketten ausmachen.

Über den Grad der Veresterung der Holzpectine wurde bisher wenig publiziert. Die Aussagen sind zudem noch widersprüchlich. So kommt Lütke (1965) nach Isolierung von Fichtenholzpectinen mit Ammoniumoxalat zum Ergebnis, dass diese schwach methyliert sind. Demhingegen lassen Meshitsuka et al. (1983) substratspezifisch angreifende Enzyme (endo-PL, endo-PG) auf Holz einwirken und kommen anhand der freikommenden Pectinmengen zum Schluss, dass es sich beim Birkenholz um hochveresterte Pectine handeln muss.

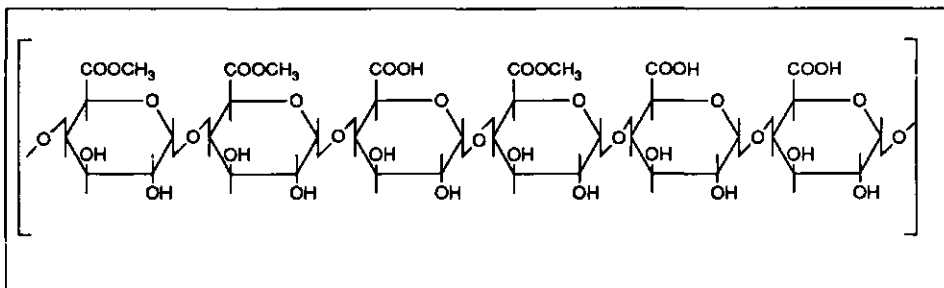


Abb. 14: Teil eines Pectinmoleküls mit einem Veresterungsgrad von 50 %.

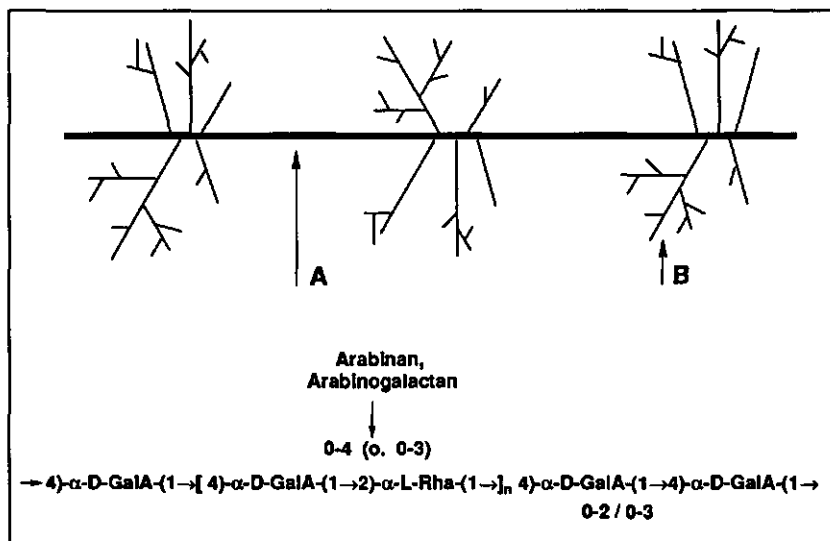


Abb. 15: Struktur der Rhamnogalacturonsäure-Grundkette und "Blockstruktur" der Pectine: unverzweigte Bereiche (A) (Homogalacturonane) und verzweigte Bereiche (B).

1.4 Enzymatische Vorbehandlung von Holz

1.4.1 Enzymatische Abbaumechanismen

1.4.1.1 Klassifizierung von Enzymen

Enzyme spielen bei vielen Fragen des pflanzlichen Zellwandaufbaus, der Zellwanddifferenzierung und des Abbaus von Zellwandkomponenten eine fundamentale Rolle. Diese aus Proteinen aufgebauten Biokatalysatoren sind in der Lage, viele spezifischen biochemischen Reaktionen zu katalysieren. Eigens von Pflanzenzellen synthetisiert, steuern sie zur gewünschten Veränderung von Zellwandbestandteilen bei. Zellwandverändernde Enzyme werden jedoch nicht allein durch Pflanzen selbst synthetisiert, sondern auch von phytopathogenen Mikroorganismen zum Abbau von Pflanzenmaterial verwendet. Umfassende Artikel zu der Thematik der enzymatischen Mechanismen beim Zellwandabbau liefern Pilnik u. Rombouts (1981), Dey u. Brinson (1984), McCleary u. Matheson (1986), Rombouts u. Pilnik (1980, 1986).

Enzymreaktionen besitzen im Gegensatz zu vielen chemischen Reaktionen bezüglich des zu verändernden Substrates sowie der angewandten Abbaumechanismen einen sehr hohen Grad an Spezifität. So verändert ein spezifisches Enzym stets nur eine Art Substrat und das, chemisch gesehen, stets auf die gleiche Weise. Diese hohe Spezialisierung gilt nur für reine Enzyme. Die in den vorliegenden Versuchen verwendeten Handelsenzyme hingegen besitzen Abbauproduktivitäten auf verschiedene Zellwandpolymere.

Nachdem die Bezeichnung und Klassifizierung der Enzyme über viele Jahre hinweg nicht einheitlich geregelt war, teilt die "Commission on Enzymes of the International

Union of Biochemistry" (E.C.) die Enzyme anhand des Reaktionstyps ein, der vom Enzym katalysiert wird. Eine Beschreibung der Gruppen gibt Whitaker (1972). Im folgenden werden lediglich die in der vorliegenden Arbeit verwendeten Enzymtypen beschrieben.

PECTINASEN

Pectolytische Enzyme greifen die Rhamnogalacturonsäurekette der Pectine an. Die Seitenketten hingegen werden nicht durch pectolytische Enzyme abgebaut. Eine Übersicht der pectolytischen Enzyme geben Rombouts u. Pilnik (1980). Sie unterscheiden dabei zunächst verseifende Enzyme (Pectinesterasen) und Depolymerasen (Polygalacturonasen, Lyasen).

PECTINESTERASEN

Pectinesterasen (E.C. 3.1.1.11.) verseifen die Methylestergruppen des Pectinmoleküls. Sie sind spezifisch auf Galacturonsäureester gerichtet. Eine Verseifung beginnt stets neben freien Carboxylgruppen und neben reduzierenden Endgruppen in der Galacturonsäurekette. Einige Methylester, z.B. die der Mono-, Di, Tri- Galacturonsäure, sind resistent gegen den Abbau der Pectinesterase (Deuel u. Stutz 1958).

Pectinesterase kommt in vielen Früchten und Gemüsen vor (Heutink 1986), wird jedoch auch von Mikroorganismen produziert (Rombouts u. Pilnik 1980). Ihr pH Optimum hängt von ihrer Herkunft ab und variiert von pH 4-5 bei Pilzen bis hin zu pH 7 -8 bei Tomaten, Orangen und einigen Bakterien.

Pectinesterasen spielen bei der Änderung von Pectinen bei der Reifung und bei der Verarbeitung von reifen Früchten eine wichtige Rolle. Bedeutend ist dies insofern, da nur niedrig veresterte Pectine mit Ca-salzen Brücken formen können, die zur Verfestigung und Versteifung von Zellgeweben beitragen. Ein hoher Veresterungsgrad verhindert solche Ca-Brückenformung (Pilnik et al. 1986).

Auch für die Lösung von Pectinstrukturen aus der Holzzellwand kann der Veresterungsgrad des Pectinmoleküls wichtig sein. Niedrig veresterte Pectine im Holz können mit Ca- oder Mg-Salzen Brücken formen und sind dadurch schwerer aus dem Zellwandverband zu lösen als nicht vernetzte Strukturen.

DEPOLYMERASEN

Hydrolasen sowie Lyasen (Transeliminassen) katalysieren die depolymerisierende Spaltung des Pectinmoleküls.

*** Hydrolasen**

Eine hydrolytische Spaltung des Pectinmoleküls kann durch zwei Enzymtypen erreicht werden:

- Endoenzyme greifen die α -(1-4) Bindungen "at random" innerhalb der Kette an;
- Exoenzyme greifen die Kette im allgemeinen vom nicht-reduzierenden Ende her an und bauen so die Kette Stück für Stück ab. Exopectatlyasen jedoch können die Polysaccharide am reduzierenden Ende angreifen (Rombouts u. Pilnik 1980).

Zur Gruppe der Hydrolasen zählen die Polygalacturonasen (PG). Diese Enzyme hydrolisieren die α -(1-4) Bindung neben nicht veresterten Galacturonsäureeinheiten. Unterschieden werden eine Exo-PG (E.C. 3.2.1.67), welche die Polygalacturonsäure zu Galacturonsäure abbaut und eine andere Exo-PG (E.C. 3.2.1.82), welche die Polygalacturonsäure zu Digalacturonsäure abbaut. Der optimale pH-Wert dieser Exo-PG liegt zwischen 4.5 - 5.5. Der optimale pH der Endo-PG (E.C. 3.2.1.82) liegt bei 4 - 5.

*** Lyasen**

Im Gegensatz zu den Hydrolasen spalten Lyasen die glykosidische Bindung der Pectine β -transeliminativ (Abb. 16). Neben Lyasen, die die glykosidische Bindungen nur neben Methylestergruppen spalten, den sogenannten Pectinlyasen (E.C. 4.2.4.10), kommen auch solche vor, die nur neben freien Carboxylgruppen wirken (Pectatlyasen; E.C. 4.2.4.4). Auch bei Lyasen kann unterschieden werden in Enzyme, die das Pectinmolekül vom reduzierenden Ende her angreifen (Exo-Enzyme) und den Endo-Enzymen, die die Ketten in Bruchstücke zerkleinern. Es konnte jedoch noch keine Exo-Pectinlyase nachgewiesen werden (Rombouts u. Pilnik 1986).

Ein Enzym, welches die Spaltung von Galacturonsäuren und Rhamnose nur in den verzweigten Gebieten verursacht, wurde von Schols et al. (1989) isoliert. Der optimale pH-Wert dieses Enzyms lag bei 3-4, die optimale Temperatur bei 40-50 °C.

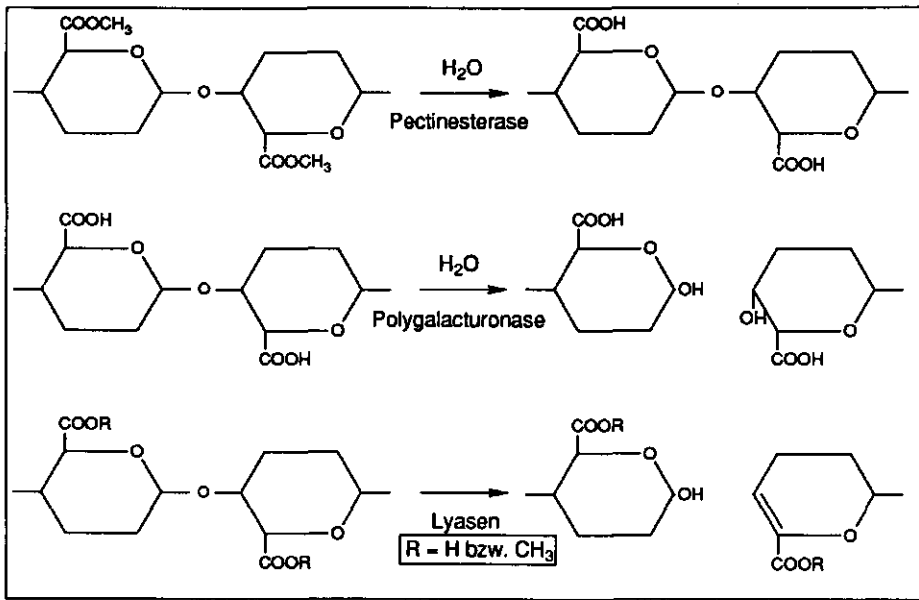


Abb. 16: Enzymatischer Abbau von Polygalacturonsäure durch Pectinesterase, Polygalacturonase bzw. Pectinlyase.

CELLULASEN

cellulolytische Enzyme werden von vielen Mikroorganismen und höheren Pflanzen produziert. Kristalline Cellulose wird prinzipiell von folgenden Enzymtypen zu Oligomeren und Monomeren abgebaut:

- endo- β -Glucanasen (E.C. 3.2.1.4), welche die glykosidische Bindung in den amorphen Bereichen der Cellulosekette angreifen;
- exo-Glucanasen, welche Cellobiose (Cellobiohydrolase, E.C. 3.2.1.91) oder Glucose (Glucohydrolase, E.C. 3.2.1.74) produzieren und in den kristallinen Bereichen angreifen;
- β -Glucosidasen (auch Cellobiasen genannt, E.C. 3.2.1.21), welche Cellobiose zu Glucose hydrolisieren.

Zahlreiche endo-Glucanasen greifen auch Xylane an (Beldman et al. 1988).

ARABINANASEN

Arabinanasen hydrolisieren Arabinane der Seitenketten (z.B. Arabinogalactane, Arabinoxylane). Die folgenden vier Arabinase-Typen wurden isoliert (Voragen et al. 1987, Rombouts et al. 1988):

- endo-Arabinanase (E.C. 3.2.1.99) greifen die α -(1-5) Bindung der Hauptkette an;
- zwei Typen α -L-Arabinofuranosidasen (E.C. 3.2.1.55);
- exo-Arabinanase (ohne E.C., Kaji 1984).

GALACTANASEN

Galactanasen wurden in Pilzen, Bakterien und verschiedenen höheren Pflanzen entdeckt, wobei zwei Typen unterschieden werden:

- β -(1-4) Galactanasen (E.C. 3.2.1.89), welche die β -(1-4) Bindung der Galactane und Arabinogalactane des Typs I abbauen;
- β -(1-3) Galactanasen (E.C. 3.2.1.90), welche die β -(1-3) Bindung angreifen und Arabinogalactane des Typs II abbauen.

XYLANASEN

Xylanasen wurden in Bakterien, Algen, Moosen und einigen höheren Pflanzen nachgewiesen. Es werden hierbei drei Typen unterschieden:

- exo-Xylanasen (E.C. 3.2.1.37);
- endo-Xylanasen, die keine Arabinose lösen (E.C. 3.2.1.8);
- endo-Xylanasen (E.C. 3.2.1.8), die auch Verzweigungen abbauen und Arabinose herauslösen. Dieser von Dekker u. Richards (1976) gefundene Xylanasetyp konnte bisher jedoch nicht auch in anderen Versuchen nachgewiesen werden.

MANNANASEN

Mannanasen werden von vielen Organismen produziert. Man unterscheidet:

- exo-Mannanasen (E.C. 3.2.1.78) und
- endo-Mannanasen (E.C. 3.2.1.78),

die beide die β -(1-4) Bindung zwischen Mannosebausteinen der Mannane, Galactomannane und Glucomannane abbauen. Das pH-Optimum der Enzyme variiert zwischen pH 3 - 6.

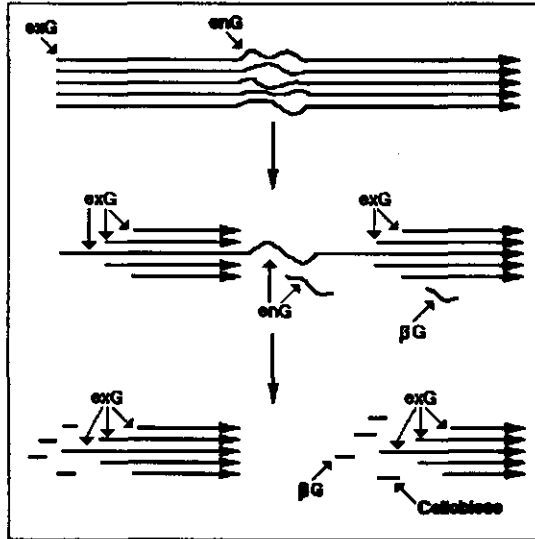


Abb. 17 : Schematische Darstellung des enzymatischen Abbaus von Cellulose durch endo-Glucanasen (enG), exo-Glucanasen (exG) und β -Glucosidasen (B-G); aus: Renard (1989) nach: Klosov u. Rabinowich (1980).

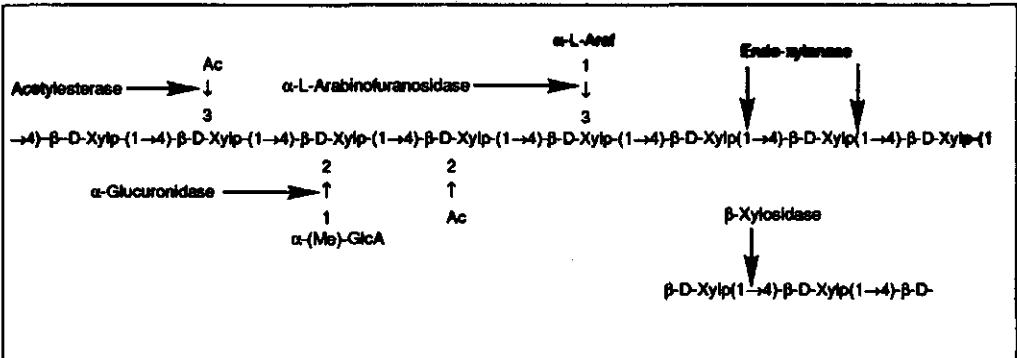


Abb. 18 : Abbau von Xylanen (Biely 1985). Zum Abbau des Xylaneinmoleküls sind neben der Xylanase auch α -Arabinofuranosidasen, α -Glucuronidasen und Acetyltransferase notwendig.

1.4.1.2 Kinetische Aspekte der Enzymanwendung

Ein Abbau von Hoftüpfelmembranen im Fichtenholz mittels pectinabbauender Enzyme sowie mittels Cellulasen und Hemicellulasen darf aus wirtschaftlichen und verfahrenstechnischen Gründen keine langen Zeiträume in Anspruch nehmen. Darum müssen Enzyme gefunden werden, die das vorliegende Substrat "Holz" auf schnellstmögliche Weise verändern. Die Reaktionsgeschwindigkeit einer Enzymreaktion hängt jedoch nicht alleine vom eingesetzten Enzym ab, sondern ist in mehr oder weniger starkem Masse von anderen Faktoren wie zum Beispiel der Temperatur, dem pH-Wert und der Enzym- und Substratkonzentration abhängig. Die Optima der Enzymreaktion bei Veränderung dieser Faktoren sind für alle Enzyme unterschiedlich und müssen darum für die in Frage kommenden Enzyme in Kombination mit dem Substrat "Holz" untersucht werden.

* Temperatur

Wie bei vielen anderen Reaktionsabläufen spielt auch bei Enzymreaktionen die Temperatur eine wichtige Rolle. Tendentiell kann gesagt werden, dass eine Temperaturerhöhung zur erhöhten Enzymaktivität führt, wobei das Temperaturoptimum abhängig vom Enzymtyp für viele Enzymreaktionen zwischen 30 - 40 °C liegt. In *Abb. 19* ist das Verhältnis von Aktivität und Temperatur schematisch aufgezeigt.

Bei sehr niedrigen Temperaturen (unter 0 °C) agieren die Enzyme sehr langsam, sind jedoch nicht vollkommen inaktiv. Demgegenüber ist eine vollkommene und irreversible Inaktivierung von Enzymen durch Denaturierung bei höheren Temperaturen über 70 - 90 °C zu erreichen. Eine Denaturierung beginnt bereits mehr oder weniger stark auch schon bei niedrigeren Temperaturen. Das führt dazu, dass eine Temperaturerhöhung zwei gegenläufige Effekte verursacht: die Steigerung der Enzymaktivität sowie die Denaturierung von Enzymen. Eine Aussage über Temperaturoptima ist daher stets nur in Kombination mit der in Versuchen angewandten Einwirkzeiten möglich. Für länger dauernde Versuche kann dies unter Umständen bedeuten, dass eine Erniedrigung der -meist in Kurzzeitversuchen ermittelten- Temperaturoptima aufgrund niedrigerer Denaturierungsraten von Vorteil ist.

* pH-Wert

Jede Enzymreaktion besitzt einen optimalen pH-Wert, der für die meisten Enzyme zwischen pH 3 und pH 7 liegt (siehe *Abb. 19*). Sehr hohe sowie sehr niedrige pH-Werte können zur Denaturierung der Enzyme führen.

Das Optimum des pH's ist jedoch nicht nur abhängig vom jeweiligen Enzymtyp, sondern in gewissem Masse auch vom Substrat, der Inkubationszeit, der Ionenkonzentration und den Temperaturbedingungen.

* Enzymkonzentration

Wenn sich alle anderen Faktoren in ihrem Optimum befinden und das Substrat im Überangebot bereitgestellt wird, besteht eine direkte Proportionalität zwischen Reaktionsrate und Enzymkonzentration (siehe auch *Abb. 19*).

*** Substratkonzentration**

Bei vorgegebener Enzymkonzentration steigt die Reaktionsrate mit der Substratkonzentration zunächst proportional an (Abb. 19). Dies ist jedoch nur bis zu einem bestimmten "Optimumpunkt" der Fall, von dem ab sich die Umsetzungsrate sehr verlangsamt. Zu erklären ist dieser Verlauf dadurch, dass bei vorgegebener Enzymkonzentration und steigender Substratkonzentration der Punkt erreicht wird, an dem alle vorkommenden Enzyme am Substrat gebunden sind und praktisch keine frei verfügbaren Enzyme mehr vorkommen. Mit höherer Enzymkonzentration verschiebt sich dieser Punkt nach oben; die Form der Kurve verändert sich jedoch nicht.

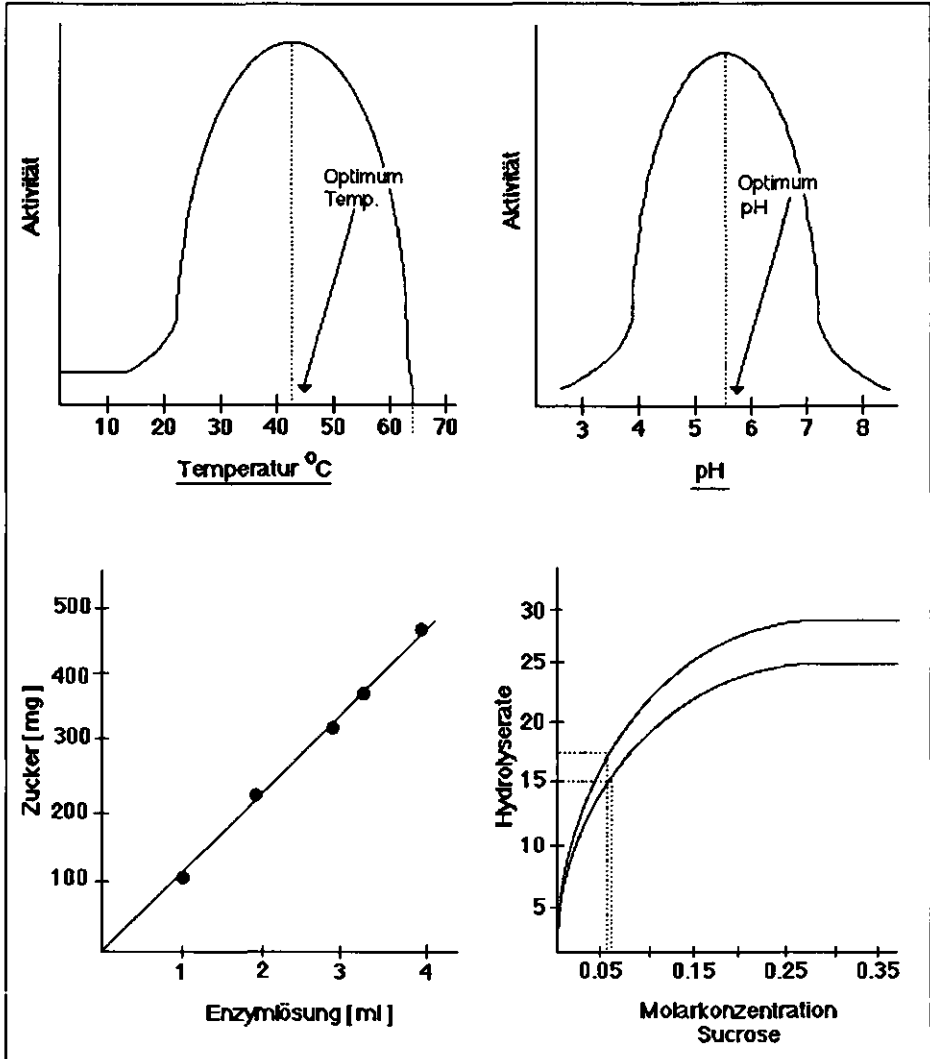


Abb. 19 : Schematische Darstellung der Enzymaktivität , abhängig von der Temperatur, dem pH-Wert, der Enzymkonzentration und der Substratkonzentration.

1.4.2 Hoftüpfelabbau mit Enzymen

Die Permeabilität von Fichtenholz für Flüssigkeiten ist, im Vergleich zu vielen anderen Holzarten, sehr gering. Diese Eigenschaft beruht auf dem holzanatomischen Aufbau, insbesondere dem Vorkommen und der Struktur des sich bei der Trocknung schliessenden Hoftüpfels (siehe *Abschnitt 1.2*).

Im Laufe der Jahre wurden erhebliche Anstrengungen unternommen, um diesen Hoftüpfelverschluss auf physikalisch-technischem Wege rückgängig zu machen. Heissdampfverfahren (Nicholas u. Thomas 1968, Bamber u. Johnstone 1968), verschiedene Trocknungsverfahren (Lantican et al. 1965, Ohkoshi et al. 1987), Ultraschallverfahren (Borgin u. Corbett 1970, Morishita et al. 1986), um nur einige Versuche zu nennen, wurden mit unterschiedlichem Erfolg erprobt, konnten sich aber nicht in der Praxis durchsetzen.

Der Einfluss von Mikroorganismen auf die Permeabilität von Holz wurde in den 50er und 60er Jahren in verschiedenen Laboratorien eingehend untersucht. So wurden Trichoderma-Arten gefunden, die die Wegsamkeit in einigen Holzarten erhöhten (Lindgren u. Harvey 1952, Ellwood u. Ecklund 1959, Johnson u. Giovik 1970). Bereits 1958 beschrieben jedoch Suolahti u. Wallen, dass auch bestimmte Bakterienarten nach längerer Einwirkung die Permeabilität von Holz erhöhen können. Aufgrund der Beobachtungen, dass das Holz bei Bakterienbefall umso permeabler ist, je weniger Pectine es enthält, kamen sie zu dem Schluss, dass Bakterien in der Lage sind, die pectinreichen Hoftüpfel abzubauen. Weitere Untersuchungen in den Folgejahren unterstützten diese Vermutungen (Knuth u. McCoy 1962, Liesø u. Karnop 1968, Greaves 1970, Dunleavy u. McQuire 1970, Dunleavy u. Fogarty 1971). Vor allem in wassergelagertem Holz können aerobe und anärobe Bakterien einen Hoftüpfelabbau verursachen (Adolf et al. 1972).

Mikroorganismen bauen Zellwandkomponenten durch den Einsatz von Enzymen ab. Enzyme, die unterschiedliche chemische Bestandteile abbauen, werden auch technisch hergestellt und von unterschiedlichen Produzenten vermarktet.

Nicholas u. Thomas (1968) führten Untersuchungen durch, um mit derartigen Handelspräparaten Hoftüpfelmembranen abzubauen und dadurch die Imprägnierbarkeit von Holz zu verbessern. Sie verwendeten für die Behandlungen von Kiefernholzproben ungereinigte Enzyme, die sie als Cellulase, Hemicellulase und Pectinase bezeichneten und bestimmten die Permeabilität dieser Holzproben vor und nach Behandlung. Durch die "Pectinase" und durch den Einsatz der "Cellulase" liess sich die Permeabilität deutlich erhöhen. Dieses wurde durch den Abbau der Hoftüpfelmembranen (Margo) sowie die Auflösung von Teilen des Torus erreicht.

Versuche an verschiedenen mitteleuropäischen Holzarten mit ebenfalls ungereinigten Handelspräparaten wurden von Bauch et al. (1970) durchgeführt. Die Permeabilität der untersuchten Hölzer liess sich im Splint mittels einer "Pectinase" z.T. deutlich erhöhen. Mit einem "Cellulase"-präparat wurden ähnlich gute Ergebnisse erzielt. Im Kernholz erreichten die angewandten Enzympräparate keine Permeabilitätsveränderung. Dieses führten die Autoren auf durch im Kernholz vorkommender Polyphenole zurück, die die Enzymwirkung beeinträchtigen können.

In Folgeuntersuchungen von Bauch et al. (1973) sowie Adolf (1975, 1976) wurde auch Fichtenholz in die Versuche mit einbezogen. Mit einem "Pectinasepräparat" sowie

einem "Cellulasepräparat" verbesserten die Autoren die Tränkbarkeit des Holzes.

Meyer (1974) behandelte verschiedene nordamerikanische Hölzer mit einem "Pectinasepräparat" und einem "Cellulasepräparat". Er erreicht an einer Kiefernart (*Pinus contorta*) erhebliche Veränderungen der Permeabilität, wohingegen die Behandlung einer Fichtenart (*Picea glauca*) zu keiner Verbesserung führt. Gründe für die so unterschiedliche Anfälligkeit der Holzarten auf den enzymatischen Abbau sind nach Meyer in der unterschiedlichen Pectinstruktur der verschiedenen Holzarten zu suchen. Versuche von Thomas (1975) wiesen auf den Einfluss phenolischer Verbindungen auf die Wirksamkeit von "Pectinasen" und "Cellulasen" hin. So wurde der enzymatische Abbau von Kernholzhofthüpfeln erst durch Vorextraktion von Polyphenolen möglich.

Neuere Untersuchungen von Morishita et al. (1986) und Ohkoshi et al. (1987) an verschiedenen japanischen Holzarten weisen auf einen in den Versuchen der Jahre 1958 bis 1975 nicht berücksichtigten Aspekt hin. So setzten diese japanischen Autoren spezifische pectinabbauende Enzyme ein, deren Hauptaktivität entweder auf hochveresterte bzw. auf niedrig veresterte Pectine gerichtet war. Anhand dieser Versuche erkannten sie, dass bei den verschiedenen Holzarten die angewandten Pectinasen unterschiedlich wirksam waren. Bei einigen der getesteten Holzarten wurden durch den Einsatz der Pectinlyasen bessere Ergebnisse erreicht als mit Cellulasen, bei anderen waren es hingegen die Polygalacturonasen und Pectinesterasen, die die Tüpfelmembranen stärker abbauten. Sie schlossen daraus, dass die Pectinstrukturen je Holzart andersartig aufgebaut sind.

1.4.3 Zielsetzung eigener Versuche

Bei erster Betrachtung der angeführten Literatur der Jahre 1958 bis 1976 scheinen weitere Versuche zur Verbesserung der Permeabilität von Fichtenholz mittels enzymatischer Vorbehandlung nicht lohnenswert. Mehrere Gründe jedoch sprechen dafür, unter Zugrundelegung der in diesen Versuchen aufgebauten Kenntnis erneute Untersuchungen durchzuführen.

Die meisten der oben genannten Versuche wurden mit ungereinigten Handelsenzymen durchgeführt, über deren Aktivitätsspektrum keine Angaben gemacht wurden und die anhand der Herstellerangaben als "Pectinase", "Cellulase" bzw. "Hemicellulase" bezeichnet wurden. Es ist jedoch sehr wahrscheinlich, dass alle diese Präparate auch andere als die angegebenen Aktivitäten besitzen. Will man bestimmte Zellwandpolysaccharide gezielt abbauen, ist die Kenntnis der im Handelspräparat vorkommenden Aktivitäten wichtig.

Die oben genannten Autoren kommen zudem über die für die Vorbehandlung von Holz wichtigen Parameter zu widersprüchlichen Aussagen. Bauch et al. (1970) sowie Adolf (1976) weisen anhand ihrer Versuche darauf hin, dass eine verbesserte Permeabilität mit Enzymvorbehandlung nur an frischem Fichtenholz zu erzielen ist. Dagegen stellt sich nach Morishita et al. (1986) die Wirksamkeit der Enzyme bei der Behandlung getrockneten Holzes nur wenig schlechter dar. Aussagen über die notwendige Dauer einer wirksamen Vorbehandlung von Holzproben reichen von 7 Tagen (Adolf 1976) bis hin zu 4 Wochen (Tschernitz 1973).

Für die praktische Anwendung von Enzymen für die Vorbehandlung von Holz sind die letztgenannten Aspekte wichtig. So würde eine kurzzeitige Enzymbehandlung von

saftfrischem und getrocknetem Holz von wenigen Tagen für einige Anwendungsgebiete praktisch vertretbar, eine lange Vorbehandlung mit vorhergehender Sortierung frischen und trockenen Holzes jedoch aller Wahrscheinlichkeit nach nicht praktikabel sein. Aus diesen Gründen stand für eigne Versuche im Vordergrund, den Abbau der Hoftüpfel durch kurze Vorbehandlungszeiten zu erreichen. Dies kann durch eine Auswahl spezifisch wirkender Enzyme bzw. Enzymkombinationen erreicht werden.

Bei einer Kombination verschieden wirkender Enzympräparate miteinander sowie bei Variation verschiedener Behandlungsparameter (Puffer, Einwirkzeit, Konzentration, Temperatur) waren zahlreiche Versuche notwendig. Diese Versuche an intakten Holzproben durchzuführen, ergäbe einen nicht vertretbaren Zeit- und Arbeitsaufwand. Aus diesem Grunde wurden in erster Instanz die Wirksamkeit von Enzymen beim Herauslösen von Pectinen und neutralen Zuckern aus fein gemahlenem Holzmehl untersucht und die gelösten Zucker analysiert (*Kapitel 2*).

Anhand dieser Analysen wurde eine Vorselektion unter den Enzymen getroffen. Mit den selektierten Präparaten wurden dann Fichtenholz-Kleinproben behandelt und deren Wirksamkeit bei der Verbesserung der Holzschutzmittelaufnahme und -eindringung untersucht (*Abschnitt 3.1*). Enzyme, die in diesen Versuchen die besten Resultate erzielten, wurden dann für die Behandlung von Rund- und Schnittholz verwendet (*Abschnitt 3.2 u. 3.3*). Einen Überblick über alle durchgeführten Enzymversuche gibt *Abb. 20*.

1.5 Chemische Vorbehandlung von Holz

1.5.1 Hoftüpfelabbau mit Chemikalien

Einleitung

Eine Lösung von Pectinstoffen und Hemicellulosen ist nicht nur mit Enzymen zu erreichen. Auch mit verschiedenen Chemikalien lassen sich die Zellwandpolymere des Holzes abbauen. Der Vorteil von Chemikalien gegenüber den empfindlichen biochemischen, oftmals nur unter sehr genau einzuhaltenden Versuchsbedingungen optimal arbeitenden Enzymen liegt in der unproblematischen Aufbewahrung und Behandlung. Zudem ist zu erwarten, dass ein Abbau der Hoftüpfel beim Einsatz geeigneter chemischer Stoffe durch die Anwendungsmöglichkeit höherer Temperaturen und Konzentrationen kürzere Vorbehandlungszeiten erfordert als eine Enzymbehandlung. Diesen möglichen Vorteilen stehen jedoch auch Nachteile gegenüber. Reine Enzyme bauen die verschiedenen Zellwandpolymere sehr selektiv ab, ohne dabei andere Bestandteile ungewollt anzugreifen. Die meisten Handelsenzyme sind zwar aufgrund diverser Haupt- und Nebenaktivitäten weniger selektiv als reine Enzyme, lassen sich jedoch noch selektiver einsetzen als Chemikalien, welche neben gewollten Abbauschritten sicherlich eine Reihe ungewollter verursachen.

Ein Nachteil gegenüber den toxikologisch wenig problematischen Enzymen liegt in der Giftigkeit vieler Chemikalien und der Gefahr beim Umgang mit den Stoffen. Die für die Vorbehandlungen in Frage kommenden und schliesslich verwendeten Chemikalien werden in *Abschnitt 4.2.1* aufgelistet und besprochen. Bei der Auswahl geeigneter Stoffe wurde auf die Gesundheits- und Umweltgefährdung der

Chemikalien besonders geachtet.

Literaturbesprechung

Einige wenige Versuche wurden bisher unternommen, die Permeabilität von Holz durch eine chemische Vorbehandlung zu verbessern. Bereits in 1952 publizierten Sanderman u. Jonas Versuche, bei denen die Permeabilität von kleinen Fichtenproben gegenüber CO₂ nach unterschiedlichen Vorbehandlungen gemessen wurde. Sie gingen davon aus, dass Pectinstoffe für den behinderten Flüssigkeitstransport im Holz verantwortlich seien, die man mit Basen, Säuren oder Ammoniumoxalat lösen könnte. Eine andere Möglichkeit, um die Permeabilität des Holzes zu verbessern, wurde in der Vorbehandlung des Holzes mit Ca-acetat gesehen. Dieser Stoff sollte das Pectin der Hoftüpfel unquellbar machen und so einen Tüpfelverschluss verhindern.

Die Versuche zeigten, dass sich die Permeabilität ungetrockneten Holzes lediglich durch eine Vorbehandlung mit Methanol verbessern liess, wogegen Vorbehandlungen mit Ca-acetat, Na-sulfit und Salzsäure zu keiner starken Verbesserung führen. Eine Behandlung mit Natronlauge führte sogar zu einer sehr starken Verschlechterung der Permeabilität. Getrocknetes Holz wurde mit den gleichen Chemikalien, aber höheren Behandlungstemperaturen vorbehandelt. Hierbei erwies sich Ca-acetat als sehr erfolgreich, HCl, Ammoniumoxalat und Na-sulfit verbesserten die Permeabilität auch; dagegen war Oxalsäure weniger effektiv. Sandermann und Jonas sehen den Erfolg der Methanol- und Ca-acetatbehandlung in der chemischen Veränderung des Pectins, durch das ein Dichtquellen der Tüpfelmembran verhindert werden soll.

Yoshimoto et al. (1972) behandelten Mikroschnitte von *Cryptomeria* und einer Kiefernart mit NaOH und konstatierten die Auflösung der Tori unter den gewählten Versuchsbedingungen. Bereits vor den Versuchen geschlossene Hoftüpfel waren durch diese Behandlung hingegen weitaus schlechter abbaubar.

Auch Imamura et al. (1974) entfernten die Tori aus Tüpfelmembranen von Tracheiden jungen Holzes mit 5 % KOH. An älteren Holzproben erreichten sie diesen Effekt erst mit einer 24 % KOH-Lösung. Sie vermuteten deshalb, dass bei der Alterung des Holzes eine Veränderung der chemischen Zusammenstellung des Tüpfels stattfindet.

Tschernitz (1973) führte Versuche mit mehreren Chemikalien an grösseren Pseudotsuga-Holzproben durch, um das Eindringen von Holzschutzmitteln zu verbessern. Er variierte jedoch die Versuchsbedingungen nicht und kam anhand weniger Versuchsreihen zum Schluss, dass lediglich eine Vorbehandlung von Douglasienholz mit Ammoniumoxalat das Eindringen von Holzschutzmitteln verbesserte.

Mit einer Äthanol-Benzolextraktion verbesserten Charuk u. Razumova (1974) die Permeabilität von Kiefernholzproben. Sie folgerten anhand dieser Ergebnisse, dass bei der Kiefer nicht allein der Hoftüpfelverschluss, sondern auch die Verstopfung der Zellverbindungen mit Harzen, Terpenen und Fetten für eine schlechte Imprägnierung verantwortlich sein muss.

In leider lückenhaft beschriebenen Versuchen von Johannsson u. Nordman-Edberg (1987) wurden durch kurzdauernde Vorbehandlungen von Fichtenholz mit Ammoniumoxalat, EDTA und NTA (Nitrilotriacetic acid) geringfügig verbesserte

Holzschutzeindringungen erreicht.

Die genannten Versuche von Sandermann u. Jonas (1952), Tschernitz (1973) und Johannsson u. Nordman-Edberg (1987) zeigen, dass sich die Permeabilität des Holzes und somit auch die Eindringung von Holzschutzmitteln durch eine Vorbehandlung mit bestimmten Chemikalien verbessern lässt. Die beschriebenen Versuche lassen jedoch viele zur Vorbehandlung von Fichtenholz wichtige Fragen offen. Sandermann u. Jonas (1952) führten ihre Versuche lediglich an Kleinproben und ohne anschließende Tränkversuche durch. Sie ermittelten zudem die Permeabilität des Holzes gegenüber CO₂, was nicht für die Permeabilität gegenüber Flüssigkeiten heranzuziehen ist. Tschernitz (1973) verwendete für seine Versuche Douglasienholz und variierte die Versuchsparameter bezüglich der Temperatur, Behandlungszeit, Konzentration etc. nicht. Die geringe Wirkung mit anderen Chemikalien als Ammoniumoxalat kann deshalb unter Umständen auf die gewählten Versuchsbedingungen zurückgeführt werden. Johannsson et al. (1987) verwendeten in ihren Experimenten verschiedene Chemikalien, jedoch stets nur in einer Konzentration und bei einer Temperatur. Diese Ergebnisse sind insofern nicht auch auf andere Versuchsumstände übertragbar.

1.5.2 Zielsetzung eigener Versuche

Die Ergebnisse der wenigen, an intakten Holzproben durchgeführten Versuche zur Verbesserung der Permeabilität wertend, ergibt sich kein deutliches Bild über die Möglichkeiten und Probleme bei einer chemischen Vorbehandlung von Fichtenholz. Es fehlen zunächst Aussagen über optimal wirkende Chemikalien, über notwendige Behandlungszeiten, über Behandlungstemperaturen und -konzentrationen. Hinzu kommt, dass keiner der Autoren Festigkeitsuntersuchungen mit dem behandelten Holz durchführte. Dieses ist jedoch unter allen Umständen erforderlich, da ein Abbau von Cellulose und Lignin der Zellwand zu einer Reduktion der Festigkeiten führen muss.

Die in *Kapitel 4* beschriebenen eigenen Versuche richteten sich deshalb in erster Linie auf die Auswahl geeigneter Chemikalien für Vorbehandlungen von Fichtenholz. Umfangreiche Versuche mit Kleinproben sollten im folgenden zu einer Auswahl effektiver Stoffe für weitere Versuche an Holzproben in Praxisabmessungen führen. Mit allen erfolgversprechenden Mitteln wurden zudem Behandlungen durchgeführt, die Aussagen über den Einfluss der Vorbehandlung auf die Festigkeitseigenschaften des Holzes zulassen. Eine Übersicht über alle chemischen Versuche gibt *Abb.20*.

Enzymversuche		
Art der Versuche	Kapitel	Versuchsmethode
Versuche mit Holzmehl		
- Analytische Erfassung der enzymatisch herausgelösten Zellwandpolysaccharidfragmente	2.2.2.	- Chromatographie : HPLC / HPGPC / GLC
- Bestimmung der Enzymwirksamkeit anhand Menge herausgelöster Uronsäuren und neutralen Zucker	2.2.1.	
Versuche mit intakten Kleinproben		
- Bestimmung der Enzymwirksamkeit anhand Menge herausgelöster Uronsäuren und neutralen Zucker	2.2.3.	- Autoanalyzer: Uronsäurebestimmung / Totalzuckerbestimmung
- Bestimmung der Enzymaktivität auf Standardsubstrate bei Langzeitinkubation (teilweise mit intakten Kleinproben, teilweise ohne Holz)	2.4.	- Autoanalyzer: reduzierende Endgruppenbestimmung
- Bestimmung der Effektivität von Enzymvorbehandlungen anhand der Aufnahme und Eindringung von Holzschutzmitteln in vorbehandelte Proben	3.1.	- Enzymbehandlung intakten Holzes → Imprägnierung der Proben mit Holzschutzmitteln → Bestimmung der Aufnahme und Eindringung des Mittels ergibt Effektivität der Enzymbehandlung.
Versuche mit Rundholz/Schnittholz		
- Bestimmung der Effektivität von Enzymvorbehandlungen anhand der Aufnahme und Eindringung von Holzschutzmitteln in vorbehandelte Proben	3.2	
Chemische Vorbehandlung		
Versuche mit intakten Kleinproben		
- Bestimmung der Effektivität von chemischen Vorbehandlungen anhand der Aufnahme und Eindringung von Holzschutzmitteln in vorbehandelte Proben.	4.2.2	
Versuche mit Rundholz / Schnittholz		
- Bestimmung der Effektivität von chemischen Vorbehandlungen anhand der Aufnahme und Eindringung von Holzschutzmitteln in vorbehandelte Proben	4.2.3	- Vorbehandlung von intakten Holzproben mit Chemikalien → Imprägnierung der Proben mit Holzschutzmitteln → Bestimmung der Aufnahme und Eindringung des Mittels ergibt Effektivität der Enzymbehandlung

Abb. 20 : Art der durchgeführten Versuche, Versuchsmethode und Kapitelangabe.

2 Enzymatischer Abbau von Zellwandsubstanzen

2.1 Einleitung

Das Ziel der vorliegenden Versuche war die Wirkung einiger kommerzieller Enzymprodukte mit bekannten Aktivitäten bei der Vorbehandlung von Fichtenholz zu untersuchen. Dies konnte aus naheliegenden Gründen nicht an Praxisabmessungen (Rundholz, Schnittholz) geschehen. Zeitaufwand, Arbeitsaufwand und fehlende technische Möglichkeiten verbieten derartige Grossversuche. Deshalb wurden die in Frage kommenden Enzymprodukte zunächst mittels analytischer Methoden hinsichtlich ihrer Aktivität beim Abbau von Holzzellwandsubstanz untersucht. Als Substrat wurde fein gemahlene Holzmasse verwendet. Zum Screening des enzymatischen Abbaus hat ein solches Substrat im Vergleich zu intakten Holzproben den Vorteil, dass die Enzyme zum Abbau nicht erst in die Holzstruktur eindringen müssen. Ausserdem wurde die Holzzellwand durch den Mahlvorgang beschädigt und dadurch die Zellwandkomponenten für einen Enzymangriff besser zugänglich. Auf diese Weise erhält man schneller aussagekräftige Ergebnisse.

In ersten Versuchen (*Abschnitt 2.2.1*) wurde untersucht, wie die verschiedenen Handelsenzyme die Polyuronide, Hemicellulosen und Cellulose aus dem gemahlene Fichtensplint- und Fichtenkernholz abbauen. Durch Variation von Einwirkzeit, Temperatur, pH-Wert der Enzymlösungen und Enzymkonzentration sollten zudem Aufschlüsse über die Wirksamkeit einiger Enzyme gewonnen werden.

In einer weiteren Versuchsreihe wurden die durch Enzyme abgebauten Zellwandpolysaccharide chromatographisch untersucht (*Abschnitt 2.2.2*). Enzymatische Behandlungen von kleinen Holzblöcken (im folgenden "Kleinproben" genannt) mit anschliessender Analyse der aus dem Holz gelösten Zucker sollten einen Eindruck über die Enzymwirksamkeit an intakten Holzproben ergeben (*Abschnitt 2.3*). Die Langzeitaktivität einiger Enzyme hinsichtlich des Abbaus von Cellulose, Pectinen und Hemicellulosen wurde in *Abschnitt 2.4* untersucht.

2.2 Bestimmung der Enzymwirksamkeit an Holzmasse

2.2.1 Abbau von Polysacchariden zu Uronsäuren und neutralen Zuckern

2.2.1.1 Material und Methoden

*Enzympräparate

Zum Abbau pectinhaltiger und cellulosehaltiger Zellwandstrukturen kommt eine Reihe von Handelsenzymen in Frage. Diese Enzyme sind zwar auf den Abbau bestimmter Zellwandpolymere gerichtet, besitzen jedoch meist in mehr oder weniger starkem Masse Nebenaktivitäten auch auf andere Zellwandkomponenten. Auf Basis der Literatur und Produktinformationen von Enzymfabrikanten wurde eine Vorauswahl möglicherweise geeigneter Produkte getroffen. So wurden für die Versuche vor allem

solche Enzyme ausgewählt, von denen aufgrund von Erfahrungen mit anderen mehrjährigen Pflanzen Abbauwirkungen auf Holzpectine, Cellulose und Hemicellulosen erhofft werden konnten. Eine Übersicht über alle in diesen Versuchen angewandten Enzyme gibt Tab. 7. Die in dieser Tabelle angegebenen pH-Optima und Temperatur-Optima sowie Aktivitäten und Nebenaktivitäten sind den Herstellerangaben entnommen.

***Puffer**

Anhand Tab. 7 ist zu ersehen, das die meisten Enzyme bei pH 4 - pH 5 ein Aktivitätsoptimum haben. Die Enzyme wurden deshalb in den eignen Versuchen meist in einem 0.1 M Natriumacetatpuffer auf einen pH-Wert von 5 eingestellt.

***Dialyse von Enzymen**

In einigen der Handelsenzyme, vor allem den puderförmigen, sind in grossen Mengen durch den Hersteller zu Stabilisierungszwecken Zucker beigefügt. Diese Zucker beeinflussen die Analysenresultate unerwünscht und wurden deshalb meist vor den Tests durch 2-fache Dialyse entfernt. Dies geschah bei 4 °C gegen Puffer, um einem Aktivitätsverlust in dieser Versuchsphase zuvorzukommen. Die Dialysemembran wurde dabei regelmässig erneuert, da aufgrund der Cellulaseaktivität der Enzyme mit einem Abbau der Membran gerechnet werden kann.

***Fungizid**

Anfangs wurde bei einigen Testserien als Fungizid 0.01 % Natriumazid beigegeben. Dieses Fungizid sollte verhindern, dass Mikroorganismen die Enzymeffektivität negativ beeinflussen. Da jedoch Natriumazid eine störende Wirkung auf die spektrometrische Bestimmung von Uronsäuren haben kann, wurde in späteren Versuchsserien auf das Fungizid verzichtet.

*** Holz**

Für alle Analysen wurde Fichtenholz (*Picea abies* (L.) Karst.) deutscher Mittelgebirgslage verwendet. Das Holz wurde unmittelbar nach dem Fällen entrindet, gesägt und aufgelattet bei ca. 20°C / 60 % relativer Luftfeuchtigkeit getrocknet. Die sich unter diesen klimatischen Umständen einstellende Holzfeuchtigkeit beträgt ca. 12 - 14 %*.

Für die Versuche wurde das Splint- und Kernholz eines Brettes verwendet, in einer Hammermühle vorverkleinert und dann mit einer Siebmühle feingemahlen. Um definierte Korngrössen für die Versuche zu erhalten, erfolgte dann eine Siebung in einer Laborsiebmaschine "Haver u. Böcker". Für alle analytischen Versuche wurde mit einer Siebfraktion zwischen 150 µm und 450 µm gearbeitet. Eine Bestimmung der Stoffeuchte des Holzmehls vor Beginn der Analysen ergab die auf das Trockengewicht bezogenen Feuchtigkeiten (Splintholz 8 %, Kernholz 7 %).

* Definition Holzfeuchtigkeit: Verhältnis von Masse Wasser in Trockenmasse Holz [%].

Enzym	Abk.	Aktivitäten	pH-Opt.	Temp.opt.
Röhm:				
Rohapect D5L	D5L	PL	4 - 5	40 - 45
Rohapect DSP 5	DSP5	PG	4 - 5	
Rohament P	P	P	3 - 5	40
Rohament CT	CT	C	3.5 - 5	
Rohament CA	CA	C, HC	4 - 5	65
Rohament 7069	7069	C, HC		40
Gist Brocades:				
Rapidase C 80 liq.	C80	PL, PG, PE	4.5 - 5	50 - 55
Rapidase C 600	C600	PL, PG, PE, C, HC	4.5 - 5	
Maxazym CL 2000	CL	C, HC	5	30
Hemi II	Hemi	HC		
Novo:				
Ultra SPL	SPL	PG, PE, PL, C, G, A	4.5	35
Pectinex 3xLAP18	3xL	PL, PG, PE, HC	4	45 - 60
Gamanase	Gama	HC	5	30
Ultra SP 359	SP359	HC, C, PE, Gl	5 - 7	40
Cellulast	Cellu	C	4.8	40
Ceremix	Cere	Am, Gl, Pro	5 - 6	37
Ultra AFP	AFP			
Amano:				
PATE 10511 H	PATE	PAL	>7	
<i>Kluyveromyces</i>	Klu	PG		

- | | | | |
|-----|---|-----|---|
| P | = pectolytisch, nicht näher definiert | C | = cellulolytisch, nicht näher definiert |
| HC | = Hemicellulase-Aktivität | PG | = Polygalacturonase-Aktivität |
| PE | = Pectinesterase-Aktivität | PL | = Pectinlyase-Aktivität |
| A | = Arabinanase-Aktivität | G | = Galactanase-Aktivität |
| Gl | = Glucanase-Aktivität | Pro | = Proteinase-Aktivität |
| Am | = Amylase-Aktivität | | |
| PAL | = Pectatlyase-Aktivität. Fordert pH >7 und Ca ⁺⁺ | | |

Tab. 7: In Versuchen verwendete Handelsenzyme mit Hauptaktivitäten, pH und Temperaturoptima laut Herstellerangaben.

Analysengeräte und -methoden

Cellulosebestimmung:

Die Cellulosebestimmungen wurden nach Up de Graff (1969) ausgeführt. Bei dieser Methode werden Lignin, Hemicellulosen und Pectin in einer Salpetersäure-Essigsäurevorbehandlung von der Cellulose getrennt und die verbleibende Cellulose nach Abbau zu Furfuralderivaten mit Anthronreagenz gefärbt. Die anschließende spektrophotometrische Bestimmung erfolgte bei 620 nm und die Auswertung anhand einer Eichkurve mit Glucose.

Uronsäurebestimmung:

Zur Bestimmung der Uronsäuremenge wurde der MHDP-Test (Ahmed u. Labavitch 1977) angewandt. Er beruht auf der Detektierung von Zellwanduronsäuren. Dafür werden Proben zuerst mit Schwefelsäure hydrolysiert, wobei Uronsäureeinheiten freigesetzt werden, dann wird Tetraborat zugefügt. Anschliessend wird eine Meta-Hydroxydiphenyllösung (MHDP) zugefügt, welche mit den aus der Uronsäure entstandenen Furfuralderivaten Farbkomplexe formt. Zur Korrektur von Neutralzuckern wird ein Blanco mit ausgeführt. Spektrophotometrische Bestimmung dieser Lösung bei 520 nm und Vergleich mit Uronsäurelösungen ergeben die Uronsäurekonzentration.

Autoanalyzer:

Ein Grossteil der Analysen wurde im Autoanalyzer der LUW/Levensmiddelentechnologie (Skalar-Analyzer SA 20/40; Range Orcinol: 0-400 ppm Glucose; Range MHDP: 0-100 ppm Pectin) durchgeführt. Der oben beschriebene MHDP-Test zur Bestimmung von Uronsäuren wurde ebenfalls in dieser Apparatur nach Thibault (1979) durchgeführt. Ein zweiter Test, der parallel zu diesem Uronsäuretest durchgeführt wurde, ist die Bestimmung des Neutralzuckeranteiles einer Lösung. Hierbei wurde die Probe mit Orcinol-Schwefelsäure gemischt und bei 98 °C hydrolysiert (nach: Tollier u. Robin 1979). Alle sich formenden Zucker bilden mit dem Orcinol eine Gelb-Braunfärbung, deren Absorption bei 420 nm gemessen wird und mittels einer Glucosestandard-Eichlinie auf die Lösungskonzentration umgerechnet wird. Die gegenseitige Beeinflussung der Analysenergebnisse der MHDP-Färbung und Orcinol-Färbung wurde rechnerisch berücksichtigt.

Bei der Methode färben alle in Lösung gegangenen Zucker. Die Verwendung einer Glucoseeichlinie bei der Errechnung des Totalzuckeranteiles der Lösung führt deswegen zu einem fehlerhaften Wert. Da jedoch zum einen bei der enzymatischen Behandlung des Holzes zum grossen Teil Glucosebausteine in Lösung gehen (siehe Analysen *Abschnitt 2.2.2*), zum anderen die bei der photometrischen Bestimmung angewandte Glucoseeichlinie "gemittelt" zwischen den Eichlinien der anderen relevanten Zucker (Xylose, Arabinose, Galactose, Mannose) liegt, wird dieser Messfehler in Kauf genommen.

Bestimmung der Wirksamkeit von Enzymen beim Abbau von Holzsubstanz

Alle im folgenden Abschnitt beschriebenen Versuche sind auf die gleiche Weise durchgeführt worden.

Fein gemahlene Holzmehl wurde in Pufferlösung bzw. Wasser suspendiert und unter andauerndem Schwenken mit unterschiedlichen Enzymen 24 h bei 40 °C inkubiert. Nach Einwirkung der Enzyme wurde das Holz abzentrifugiert, die Flüssigkeit 10 min bei 100 °C inaktiviert und im Autoanalyzer der Uronsäuregehalt und Neutralzuckergehalt bestimmt. Diese Werte wurden mit den nicht behandelten Blancos (Enzymblanco und Holzblanco) korrigiert. Zum Vergleich wurde die in der Enzymflüssigkeit nach der Inkubation gefundene Menge Uronsäure prozentual auf die Gesamtmenge der im Holz vorkommenden Uronsäuren bezogen (1.4 % im Splint, 1.7 % im Kern).

Analysen der durch die Enzymbehandlung herausgelösten Polysaccharide zeigten, dass im Zuckergemisch vor allem die Cellulose- und Hemicellulosenbausteine Glucose, Xylose, Arabinose, Mannose und Galactose vorkommen. Die im Orcinoltest

des Autoanalyzers analysierte Menge an Neutralzuckern wurde deshalb aus Gründen der Anschaulichkeit prozentual auf die Gesamtmenge der im Holz vorkommenden Cellulose und Hemicellulosen (ca. 75 % der Holzsubstanz) bezogen.

Alle Behandlungen wurden stets in zweifacher Ausführung durchgeführt. Die angegebenen Resultate sind die errechneten Mittelwerte. Thibault (1979) sowie Tollier u. Robin (1979) wiesen auf die gute Reproduzierbarkeit der angewandten Uronsäure- und Neutralzuckerbestimmungsmethoden hin. Dieses konnte in den eignen Analysen bestätigt werden. Tab. 8 zeigt einige typische Analysenresultate. Aufgrund der hohen Übereinstimmung der Werte der Wiederholungsproben und der sich in den verschiedenen Versuchen erweisenden hohen Reproduzierbarkeit der Analysenergebnisse lässt sich die geringe Anzahl der Wiederholungsproben rechtfertigen.

Enzym	Konzentration [%]	Uronsäure		neutr.Zucker	
		A	B	C	D
CT	0.1	.20	14.21	5.90	7.86
		.24	16.89	5.84	7.78
CL 2000	0.1	.22	16.06	7.51	10.01
		.23	16.55	7.42	9.89
CT/3XL	0.05 + 0.05	.15	10.50	5.13	6.84
		.16	11.11	5.18	6.90
CL 2000/3XL	0.05 + 0.05	.19	13.75	6.16	8.21
		.18	13.20	6.06	8.08
CT	0.4	.21	13.33	10.79	14.38
		.21	15.08	10.36	13.81
CL 2000	0.4	.31	22.14	9.83	13.10
		.31	21.95	10.89	14.52
CT/3XL	0.2 + 0.2	.19	13.56	5.47	7.29
		.19	13.73	6.07	8.09
CL 2000/3XL	0.2 + 0.2	.22	15.86	6.82	9.09
		.23	16.75	6.72	8.96
SP359	0.1	.01	.90	1.28	1.71
		.02	1.09	1.37	1.83
C600	0.1	.12	8.35	5.45	7.26
		.13	9.12	5.30	7.06

Tab. 8: Einige typische Analysenresultate der Uronsäure- und Neutralzuckerbestimmungen im Autoanalyzer. Angegeben sind stets zwei Wiederholungsproben. A = Uronsäure in Reaktionsflüssigkeit, ausgedrückt [%] zum gesamten Zuckervorkommen in der Flüssigkeit. B = Wert von "A" umgerechnet auf die Gesamtmenge Uronsäure in der Holzsubstanz. C = Neutrale Zucker in Reaktionsflüssigkeit, ausgedrückt [%] zum gesamten Zuckervorkommen in der Flüssigkeit. D = Wert von "C", gerechnet auf die Gesamtmenge Cellulose und Hemicellulosen in der Holzsubstanz.

2.2.1.2 Versuchsdurchführung und Ergebnisse

Bestimmung des Pectin- und Cellulosegehaltes

An einer Reihe von Proben des fein gemahltem Fichtenholzmehles wurden mit den oben genannten Methoden der Cellulosegehalt und der Uronsäuregehalt bestimmt. Die Mittelwerte dieser Analysen sind in Tab. 9 angegeben. Bei allen weiteren Versuchen wurde die durch Enzymbehandlung aus dem Holz gelöste Menge Uronsäure prozentual auf die hier analysierte Gesamtmenge Uronsäure (1.4 % im Splint bzw. 1.7 % im Kernholz) bezogen.

Uronsäuren kommen im Holz vor allem als Baustein der Pectine (Galacturonsäuren) vor. Ausserdem kommen in den Hemicellulosen Glucuronsäuren und auch Galacturonsäuren vor, die jedoch anteilmässig im Vergleich zur Mannose, Xylose, Galactose und Arabinose gering sind (Fengel u. Wegener 1984). Deshalb und aus Gründen der Anschaulichkeit wird bei den folgenden Versuchen oftmals von "Pectinabbau" gesprochen.

	Uronsäure	Cellulose	[%]
Splintholz	1.4	41.0	
Kernholz	1.7	38.3	

Tab. 9: Cellulosegehalt und Uronsäuregehalt des in den Versuchen verwendeten Splintholzes und Kernholzes [%] im Verhältnis zur Gesamtsubstanz.

Verlauf des pH-Wertes von Holz-Suspensionen in Enzymlösungen

Wie bereits in einleitenden Kapiteln aufgeführt, besitzen die meisten der hier verwendeten Enzyme pH-Optima zwischen pH 4 und pH 6. Für die Aktivität der Enzyme musste dieser pH-Bereich während der Versuchsdauer eingehalten werden. In einigen Testreihen wurde der Frage nachgegangen, inwieweit sich der pH-Wert von Enzymflüssigkeiten mit und ohne Holzmehl bei verschiedenen Versuchstemperaturen verändert.

*** in Pufferlösung**

0.1 g Kernholz und Splintholz wurden in 10 ml Natriumacetatpuffer pH 5 unterschiedlicher Konzentration (0.01 M, 0.1 M, 1 M) eingebracht und der Verlauf des pH-Wertes über einen Zeitraum von 14 Tagen verfolgt. Der pH-Wert der Suspensionen von Splintholz und Kernholz veränderte sich innerhalb des Versuchszeitraumes nicht. Der pH-Wert der Suspensionen von Holz in Wasser sank schnell von anfänglich pH 5.5 auf pH 5 und blieb dann während des Versuchs stabil.

*** in gepufferter Enzymlösung**

Splintholz und Kernholz wurden in gepufferter Enzymlösung unterschiedlicher Konzentration (0.1 M, 0.01 M; pH 5) suspendiert und nach 24 h Inkubation der pH-Wert bestimmt. Beim Splintholz und Kernholz in beiden Pufferkonzentrationen veränderte sich der pH-Wert innerhalb der 24 h Inkubation nicht. In einem weiteren Experiment wurde Holz in gepufferter Lösung (0.1 M Na-acetatpuffer, pH 5) mit unterschiedlichen

Enzymkonzentrationen (0.01 %, 0.1 %, 0.2 %, 0.4 %, 0.8 %) suspendiert und nach 24 h Inkubation der pH-Wert bestimmt. Auch bei diesem Experiment veränderte sich der anfängliche pH-Wert der Suspension nicht.

*** In ungepufferter Enzymlösung**

Splintholz wurde in ungepufferter Enzymlösung (0.1 g Holz in 0.1 % Enzymflüssigkeit) suspendiert und bei unterschiedlichen Temperaturen inkubiert. Der pH-Wert dieser Suspensionen und der von ungepufferten Enzymlösungen ohne Holz wurde nach 24 h Inkubation bestimmt.

Bei diesem Experiment ist bemerkenswert, dass sich bei den ungepufferten Holz suspensionen nach 24 h ein pH 4 - 5 einstellt, wogegen die Enzymflüssigkeit ohne Holzmehl einen pH-Wert von 6 hat (siehe Abb. 21).

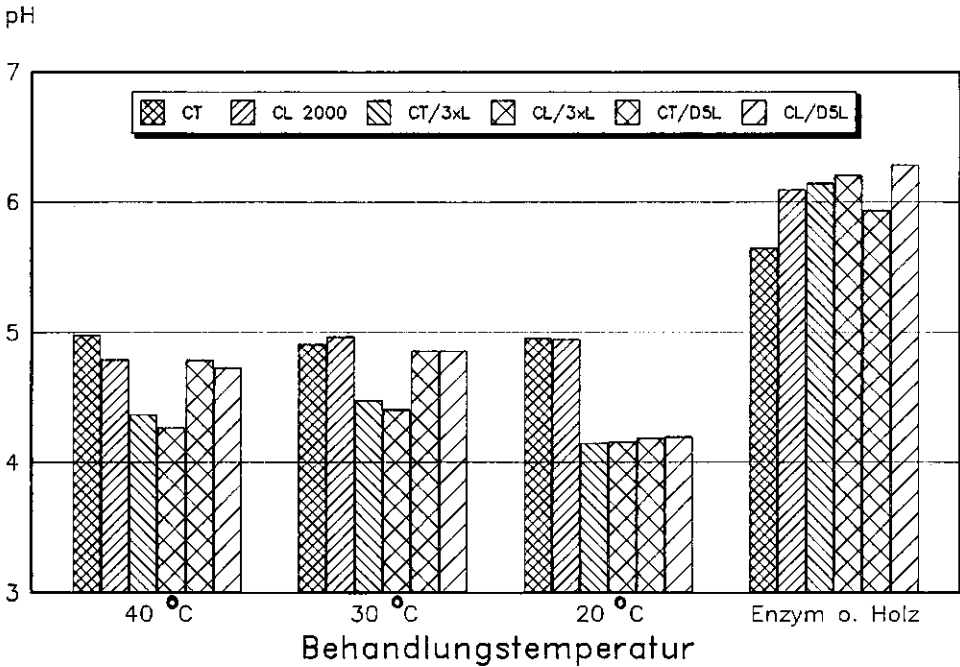


Abb. 21: pH-Wert von ungepufferten Enzymflüssigkeiten mit und ohne Splintholzmehl nach 24 h Versuchsdauer

Wirksamkeit von Enzymen beim Abbau von Polyuroniden, Cellulose und Hemicellulosen aus Holzmehl zu Uronsäuren und neutralen Zuckern

Vergleich von Handelsenzymen

Versuchsablauf:

Die Versuche wurden nach folgendem Schema durchgeführt: 0.1 g Holzmehl wurde in 10 ml einer 0.1 % Enzymlösung in 0.1 M Natriumacetatpuffer, pH 5 suspendiert. Bei allen Enzymkombinationen wurden anstelle der 0.1 % Konzentration eine 0.05 % + 0.05 % Lösung angewandt. Die Inkubationszeit des Holzes mit Enzymen betrug 24 h bei 40 °C. Dann wurde im Autoanalyzer bei allen Proben die aus dem Holzmehl gelöste, sich in der Enzymlösung befindliche Menge an Uronsäuren und Neutralzucker bestimmt (Vorbehandlung und Analysetechniken siehe *Abschnitt 2.2.1.1*). Die Ergebnisse dieser Analysen sind in den *Abb. 22-24* graphisch dargestellt. Dabei wird die durch ein Enzym aus dem Holz gelöste Menge an Zuckern als ein Mass für die Wirksamkeit des Enzyms beim Abbau von Holzsubstanz angesehen.

CT	CA	CL
CT/ DSP 5	CA/ DSP 5	Cere
CT/ D5L	CA/ D5L	Cellu
CT/ 3xL	7069	C 80
CT/7069	7069/SPL	PATE (in pH 7)
CT/ P2	7069/ 3xL	Hemi
CT/ Klu	DSP 5	Klu
CT/ C 600	D5L	Gama
CT/ Hemi/ 3xL	SPL	SP
C 600	3xL	P1
		P2

Tab. 10: In den Versuchen angewandte Handelsenzyme (siehe auch Tab. 7 und Abb. 22-24).

Ergebnisse:

Die Menge der aus dem Holz gelösten Uronsäuren und Neutralzucker weist darauf hin, dass die getesteten Enzympräparate beim Abbau von Holzmehl unterschiedlich effektiv sind (siehe *Abb. 22-24*). Vor allem Rohament CT, Maxazym CL 2000 und Rohament 7069 (alleine oder in Kombination mit Pectinex 3xL, Rohapect D5L oder Rohapect DSP 5) sind sehr effektiv und bringen mehr als 10 % der ursprünglich im Holz vorkommenden Menge Pectine und 5 - 10 % der Cellulose/Hemicellulosen in Lösung. Dagegen lösen einige andere Enzyme fast keine Uronsäuren und andere Zucker aus dem Holz (PATE, Rohament P). Auffallend hierbei ist die Tendenz, dass relativ spezifische Enzyme (PATE, *Kluyveromyces*-PG, C 80, P) viel weniger effektiv sind als Enzyme mit diversen Nebenaktivitäten auf verschiedene Zellwandkomponenten (CT, CL 2000).

Die effektivsten Enzyme sind stets cellulolytische Enzyme mit Nebenaktivitäten. Das gilt sowohl für den Abbau von Cellulose/ Hemicellulosen als auch für den Abbau von Pectinen. Pectinasen (Rohapect DSP 5, Rohapect D5L, Pectinex 3xL, Rapidase C 80) hingegen zeigen beim Abbau von Cellulose sehr geringe Wirksamkeit und sind auch bezüglich des Pectinabbaus den Cellulasen unterlegen.

Tendenzuell unterscheidet sich die Wirksamkeit eines Enzyms beim Abbau der Kernholz- und Splintholzkomponenten nicht. So sind die beim Pectin- bzw. Celluloseabbau des Splintholzes wirksamen Enzyme ebenso im Kernholz effektiver als andere. Stets jedoch sind absolute Unterschiede beim Abbau von Kernholz und Splintholz zu beobachten, wobei in manchen Fällen die Effektivität eines Enzyms im Kernholz grösser ist als im Splintholz und in anderen Fällen umgekehrt.

Bei der Wertung der Wirksamkeit von Enzymkombinationen (z.B. CT/ Rohapect DSP 5) im Vergleich zum Reinenzym (z.B. CT) sollte beachtet werden, dass jeweils nur 50 % der Konzentration der beiden Enzyme angewandt wurden (z.B. 0.05 % + 0.05 % anstelle von 0.1 %). So ist es dann auch weniger erstaunlich, dass das sehr effektive Enzym CL 2000 in Kombination mit einem weniger effektiven Enzym zu geringerem Uronsäure- und Cellulose/Hemicellulosenabbau fähig ist als alleine. Die Kombination von CT mit 3xL führte zwar im Vergleich zum CT ohne 3xL beim Abbau von Cellulose und Hemicellulosen zu etwas niedrigen Werten, nicht jedoch beim Abbau von Polyuroniden. Dieses deutet darauf hin, dass sich die zwei Enzyme beim Lösen von Uronsäuren aus der Holzzellwand positiv beeinflussen.

Für alle weiteren Versuche wurde anhand dieser Analysenergebnisse eine Auswahl an Handelsenzymen getroffen. Solche Enzympräparate, die mengenmässig die meisten Polyuronide, Cellulosen und Hemicellulosen aus dem Holzmehl gelöst hatten, wurden in den folgenden Versuchen in Hinblick auf ihre Wirksamkeit bei Variation der Pufferkonzentration, Behandlungstemperatur, Enzymkonzentration und Behandlungsdauer weitergehend untersucht.

Pufferkonzentration

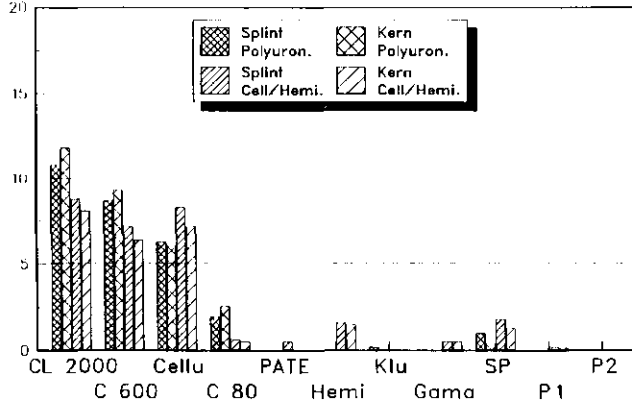
Versuchsablauf:

- 0.1 g Holzmehl suspendiert in 10 ml Enzymflüssigkeit
- ein Teil: 0.1 % Enzym in 0.1 M Natriumacetatpuffer, pH 5
- anderer Teil: 0.1 % Enzym in 0.01 M Puffer, pH 5
- bei Enzymkombinationen: 0.05 % + 0.05 %
- Inkubationszeit 24 h
- Vorbehandlung und Analysen: Beschreibung in *Abschnitt 2.2.2.1*
- Angewandte Enzyme und Ergebnisse: siehe *Abb. 25a und 25b*.

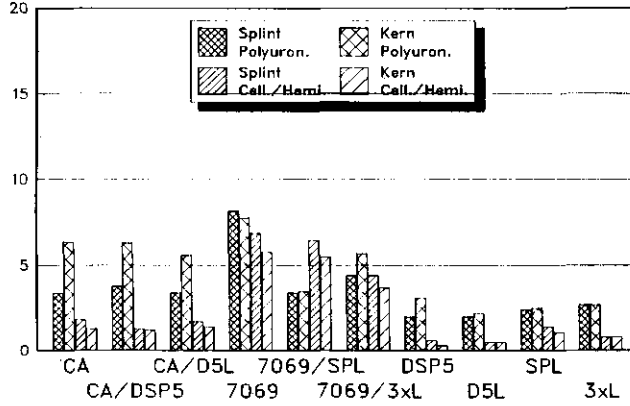
Ergebnisse:

Die Pufferkonzentration besitzt offenbar einen geringen Einfluss auf die Wirksamkeit einiger Enzyme. Rohament CT ist alleine oder in Kombination mit Pectinex 3xL im 0.1 M Puffer wirksamer, wogegen Maxazym CL 2000 im 0.01 M Puffer wirksamer ist. Beim Abbau von Cellulose und Hemicellulosen des Kernholzes sind sogar alle Enzyme im schwächeren Puffer wirksamer als im 0.1 M Puffer.

Abbau Polyuronide/Cell./Hemicell. [%]



Abbau Polyuronide/Cell./Hemicell. [%]



Abbau Polyuronide/Cell./Hemicell. [%]

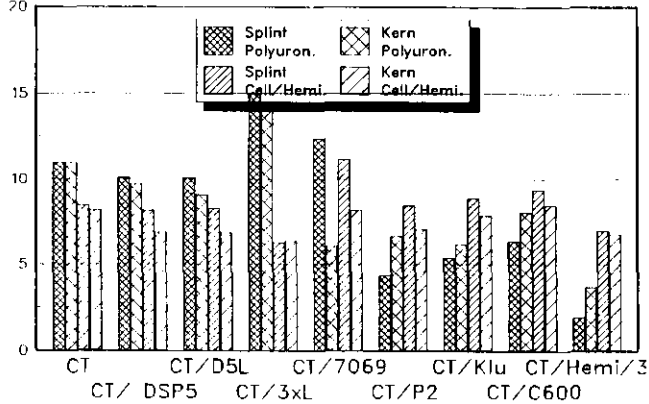
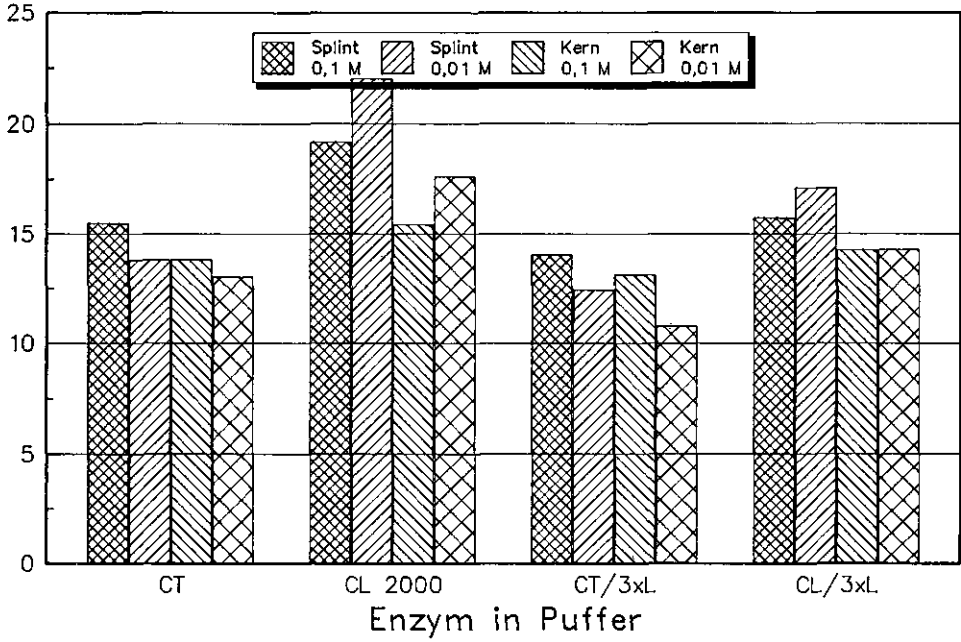


Abb. 22-24: Enzymatisch aus Holzmehl herausgelöste Menge an Uronsäuren und neutralen Zuckern (prozentual auf Gesamtmenge an Polyuroniden bzw. Cellulose/ Hemicellulosen im Holz bezogen)

Abbau Polyuronide [%]



Abbau Cell./Hemicell. [%]

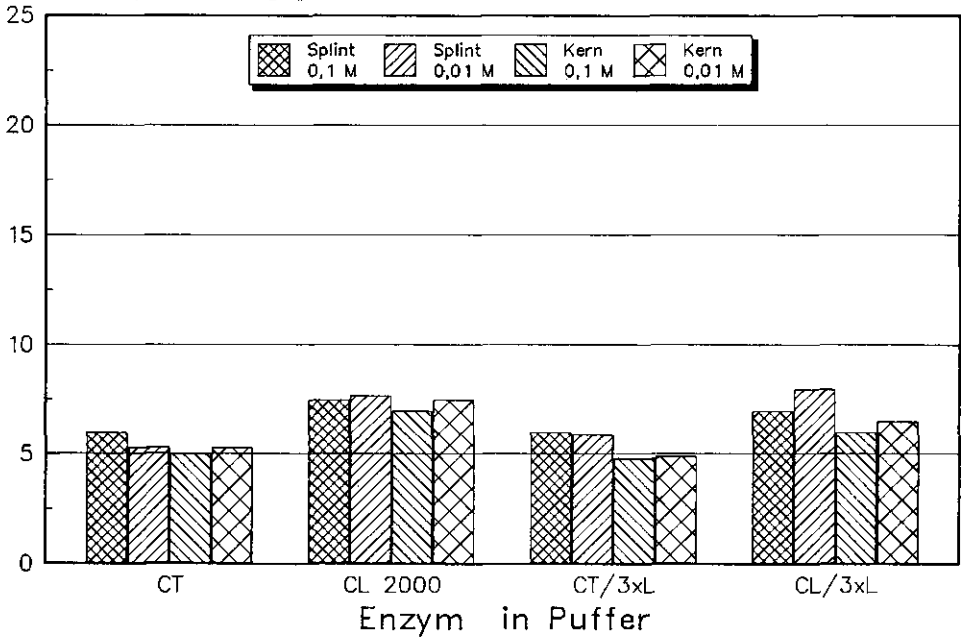


Abb. 25: Einfluss der Pufferkonzentration auf die Wirksamkeit von Enzymen beim Abbau von Polyuroniden, Cellulose und Hemicellulosen zu Uronsäuren und neutralen Zuckern (Werte in % der Gesamtmenge an Polyuroniden (Abb. 25 a) bzw. Cellulose/ Hemicellulosen (Abb. 25 b) im Holz)

Behandlungstemperatur

Im vorliegenden Versuch wurde die Wirksamkeit einiger Enzyme bei Variation der Behandlungstemperatur untersucht. Die Inkubationszeit betrug 24 h. Die Enzymaktivität bei länger dauernden Versuchen wird in *Abschnitt 2.4* beschrieben.

Zusätzlich zur Variation in der Behandlungstemperatur wurden in der ersten Versuchsserie die Enzyme in einem 0.1 M Puffer gelöst, während im 2. Teilversuch die Enzyme in Wasser gelöst wurden. Ein Vergleich beider Versuchsserien erlaubt darum Schlüsse über die Effektivitätsänderung beim Gebrauch von Wasser anstelle von Pufferlösungen.

Versuchsablauf:

- 0.1 g Holzmehl wurde in 10 ml Enzymlösung suspendiert
- Versuch 1: 0.1 % Enzym in 0.1M Natriumacetatpuffer, pH 5
- Versuch 2: 0.1 % Enzym in destilliertem Wasser
- bei Enzymkombinationen: 0.05 % + 0.05 %
- Inkubationszeit 24 h
- Variation der Temperatur: 20 °C - 30 °C - 40 °C
- Vorbehandlung und Analysen: siehe *Abschnitt 2.2.2.1*
- Angewandte Enzyme und Ergebnisse: siehe *Abb. 26 und 27*.

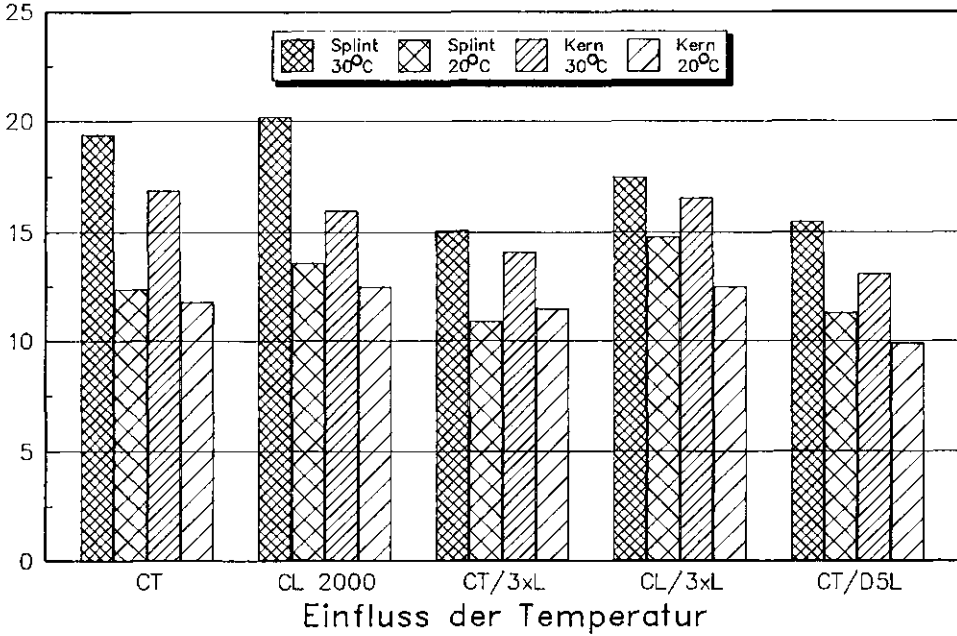
Ergebnisse:

In beiden Versuchsserien ist die Wirksamkeit der Enzyme beim Abbau von Polyuroniden und Cellulose/ Hemicellulosen bei 40 °C am grössten. Eine Reduktion der Temperatur brachte in allen Fällen auch einen reduzierten Abbau der Holzsubstanz mit sich.

Bei der Anwendung von Enzymen in Puffer sind Maxazym CL 2000 und Rohament CT bei 30 °C gleich wirksam, wogegen die Kombinationen dieser Cellulasen mit Pectinasen geringere Wirksamkeit besitzen. Bei 20 °C ist die Kombination CL 2000/ Pectinex 3xL den anderen Enzymen überlegen. Die Effektivitätseinbussen bei 20 °C im Vergleich zu 30 °C betragen bei fast allen Enzymen beim Abbau von Polyuroniden 20 - 30 %, beim Abbau von Cellulose/ Hemicellulosen dagegen nur 5 - 10 %.

Deutlich andere Verhältnisse zeigen die Resultate der in Wasser gelösten Enzyme. Hier ist CL 2000, alleine oder in Kombination mit anderen Enzymen, im Vergleich zu Rohament CT beim Abbau von Polyuroniden um ca. 30 % wirksamer. Der Grund dafür liegt in der verminderten Effektivität von CT in Wasser im Vergleich zum Puffer. CT ist, in Wasser gelöst, bei 30 °C um 20-30 % weniger effektiv als in Puffer. Bei 20 °C beträgt der Unterschied zwischen in Wasser und Puffer gelöstem Enzym nur ca. 10 %. Demhingegen ist CL 2000 bei 30 °C in Wasser nur um 10 % leistungsreduziert, bei 20 °C sogar effektiver als in der Pufferlösung.

Abbau Polyuronide [%]



Abbau Cell./Hemicell. [%]

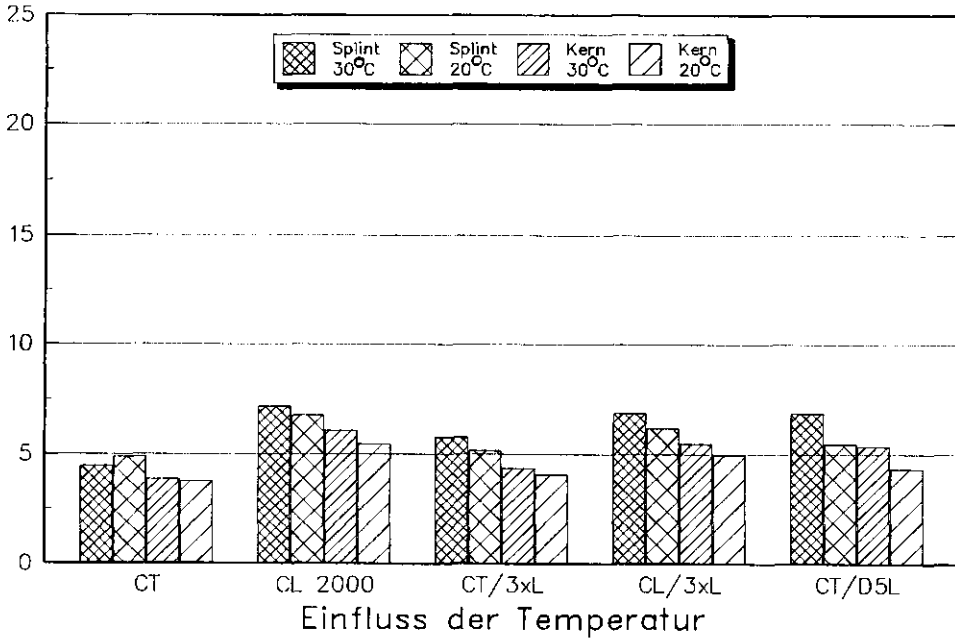
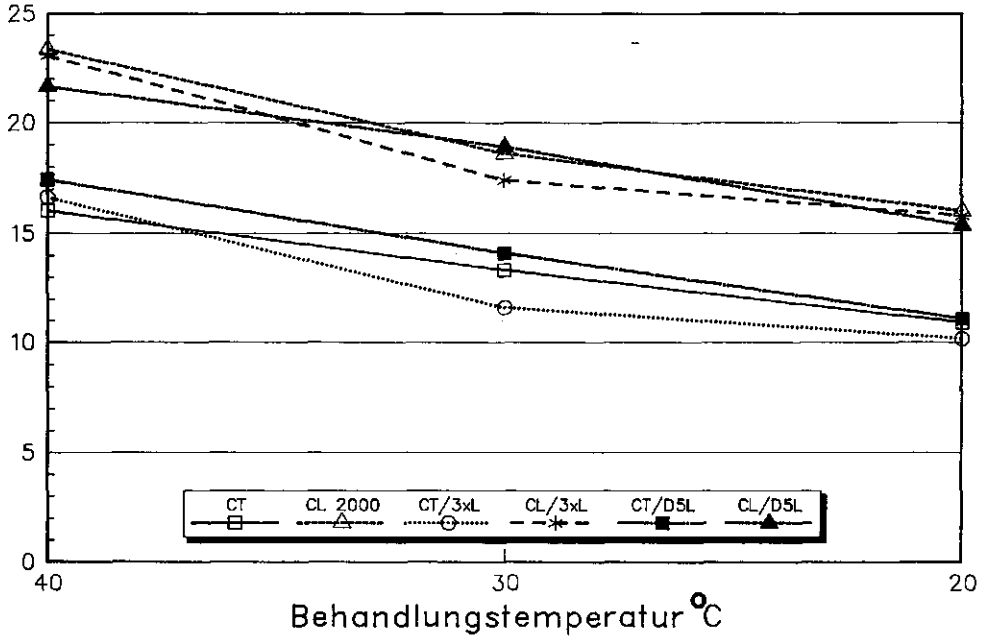


Abb. 26: Einfluss der Behandlungstemperatur auf die Enzymwirksamkeit beim Abbau von Polyuroniden, Cellulose und Hemicellulosen zu Uronsäuren und neutralen Zuckern. Splintholz und Kernholz wurden in Puffer suspendiert (Werte in % der Gesamtmenge an Polyuroniden (Abb. 26 a) bzw. Cellulose/ Hemicellulosen (Abb. 26 b) im Holz)

Abbau Polyuronide [%]



Abbau Cell./Hemicell. [%]

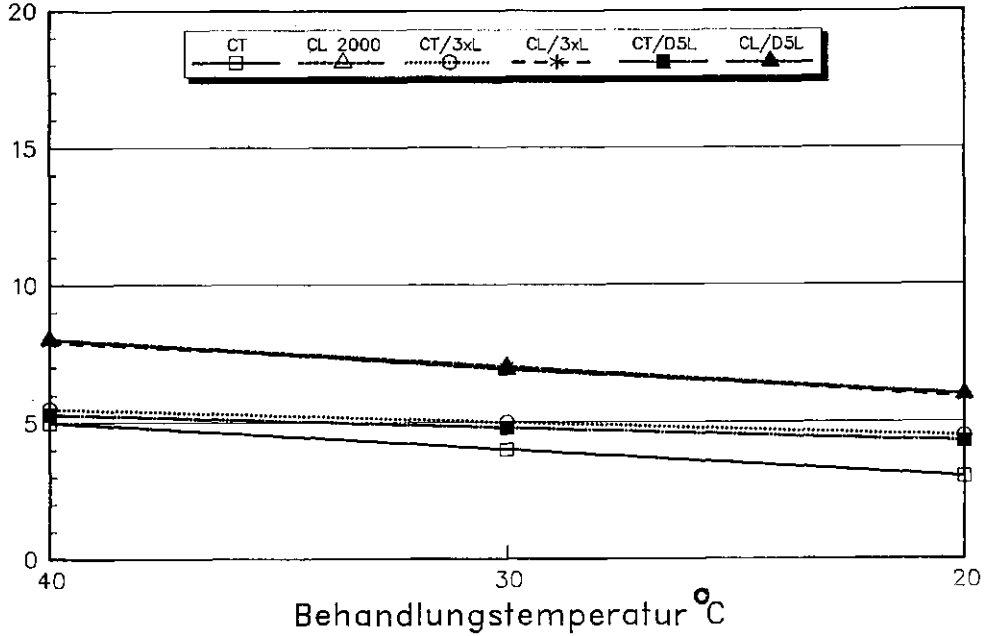


Abb. 27: Einfluss der Behandlungstemperatur auf die Enzymwirksamkeit beim Abbau von Polyuroniden, Cellulose und Hemicellulosen zu Uronsäuren und neutralen Zuckern. Das Splintholz wurde in Wasser suspendiert (Werte in % der Gesamtmenge an Polyuroniden bzw. Cellulose/ Hemicellulosen im Holz)

Enzymkonzentration

In dieser Versuchsserie sollte geklärt werden, welche Enzymkonzentration (bei vorgegebener Substratmenge und Puffermenge) zu einem maximalen Abbau an Zellwandsubstanzen führt.

Versuchsablauf:

- 0.1 g Holzmehl (Splint) in 10 ml Enzymlösung suspendiert
- Enzym in 0.1 M Natriumacetatpuffer, pH 5
- Inkubationszeit 24 h
- Temperatur: 40 °C
- Analyse direkt nach Inkubationsende, nicht eingefroren oder inaktiviert
- Vorbehandlung und Analysen: siehe *Abschnitt 2.2.2.1*
- Angewandte Enzyme und Ergebnisse: siehe *Abb. 28*.

Ergebnisse:

Unter den vorgegebenen Versuchsbedingungen (Temperatur, Substratmenge) nimmt bei steigender Enzymkonzentration die Abbaumenge an Uronsäuren und neutralen Zuckern zu. Zwischen 0.1 % und 0.4 % stellt sich ein Optimum ein. Bei Konzentrationen über 0.4 % scheint die Abbaumenge an Uronsäuren und Neutralzuckern sogar abzunehmen. Eine Erklärung für dieses Phänomen kann anhand der Versuche nicht gegeben werden. Die im überwiegenden Teil der in diesem Abschnitt durchgeführten Versuche angewandte Enzymkonzentration (0.1 %) erscheint mit dem Hintergrund dieser Ergebnisse als sinnvoll gewählt.

Inkubationszeit

Versuchsablauf:

- 0.1 g Holzmehl (Splint) wurde in 10 ml Enzymlösung suspendiert
- Enzym in 0.1M Natriumacetatpuffer, pH 5
- Inkubationszeit: 2 - 8 - 24 - 48 h; nach jeder dieser Zeiten 1.5 ml aus Reagenzglas entnommen und sofort Enzym bei 100 °C inaktiviert, dann bei 5 °C aufbewahrt
- Temperatur: 40 °C
- Analyse direkt nach Inkubationsende aller Proben, nicht eingefroren
- Vorbehandlung und Analysen: siehe *Abschnitt 2.2.2.1*
- Angewandte Enzyme und Ergebnisse: siehe *Abb. 29*.

Ergebnisse:

Alle Enzyme zeigen beim Abbau von Polyuroniden und Cellulose/ Hemicellulosen einen vergleichbaren Verlauf. Bis hin zu 24 h Inkubationszeit steigt die abgebaute Menge Uronsäure und auch Neutralzucker (Hemicellulosen/ Cellulose) deutlich an. Bereits nach 8 h verlangsamt sich der Abbau und stagniert nach 24 h, zumindest bei der Uronsäure. Eine Verlängerung der Behandlungsdauer über 24 h hinaus führt somit bei vorliegendem Substrattyp und -menge zu keiner Steigerung der Abbaumenge an Holzsubstanz. Der Abbau der Cellulose/Hemicellulosen scheint hingegen, wenn auch in sehr geringem Masse, auch noch nach 24 h fortzulaufen.

In den Versuchen in *Abschnitt 2.2* wurde das Holzmehl in der Regel 24 h mit Enzymen

inkubiert (wenn nicht anders angegeben). Diese Inkubationszeit ist, wie anhand dieser Versuchsserie zu erkennen, günstig, da bis zum Zeitpunkt von 24 h der Grossteil der mittels der eingesetzten Enzyme abbaubaren Pectine, Hemicellulosen und Cellulosen abgebaut ist. Dabei liegt die maximal aus Holzmehl abzubauende Menge Uronsäure bei ca. 20 %. Die Menge in der Flüssigkeit analysierter Neutralzuckern liegt bei 6 - 8 % der im Holz vorkommenden Cellulose/ Hemicellulosen, hat jedoch nach 48 h noch nicht seinen Maximalwert erreicht.

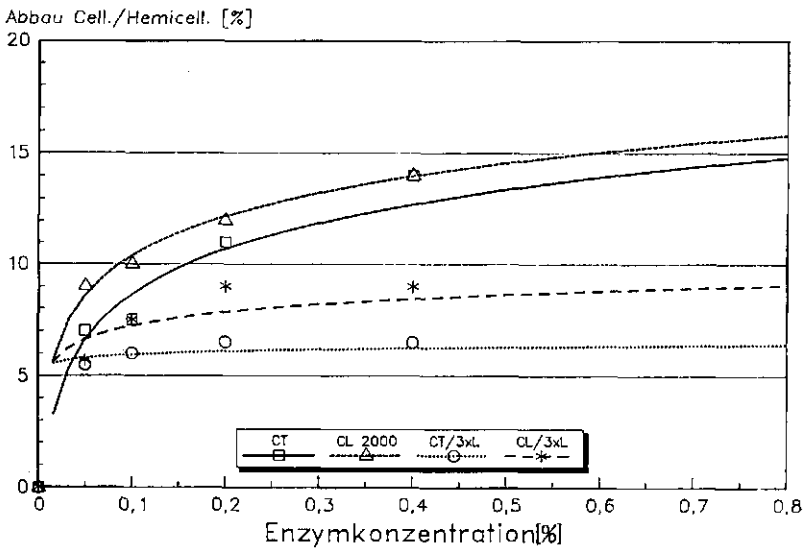
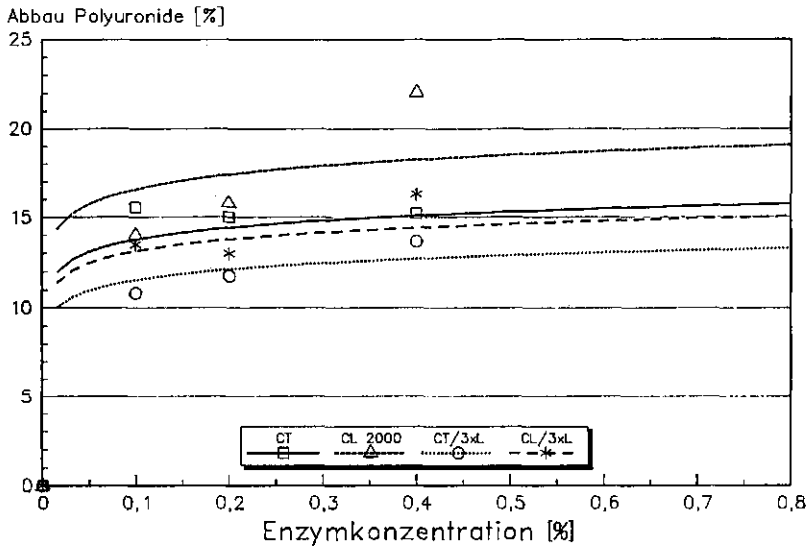
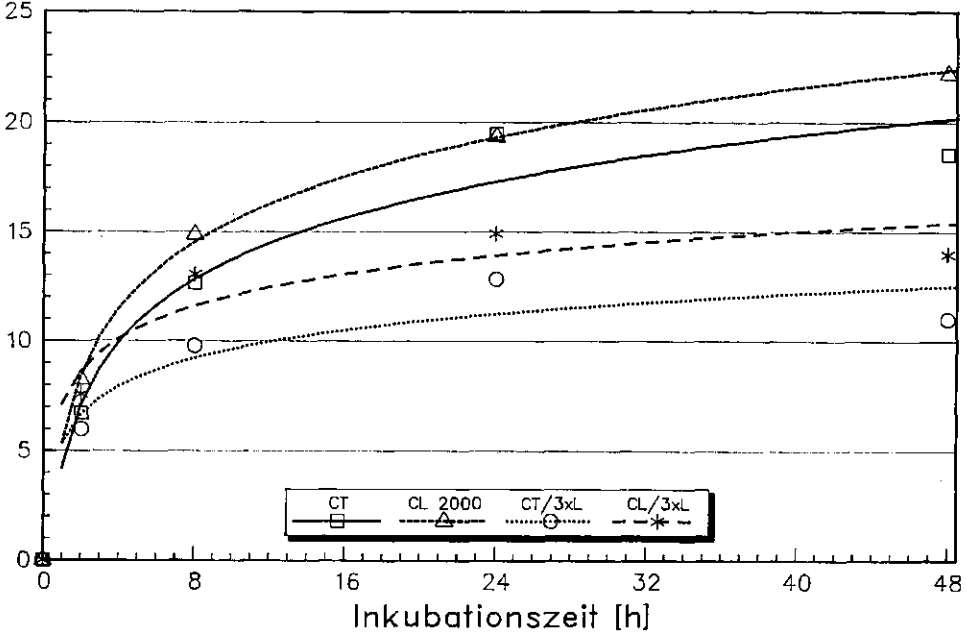


Abb. 28: Einfluss der Enzymkonzentration auf die Wirksamkeit beim Abbau von Polyuroniden, Cellulose und Hemicellulosen zu Uronsäuren (Abb. 28 a) und neutralen Zuckern (Abb. 28 b). Das Splintholz war in 0.1 M Puffer gelöst und wurde 24 h bei 40 °C mit Enzymen inkubiert (Werte in % der Gesamtmenge an Polyuroniden bzw. Cellulose/ Hemicellulosen im Holz)

Abbau Polyuronide [%]



Abbau Cell./Hemicell. [%]

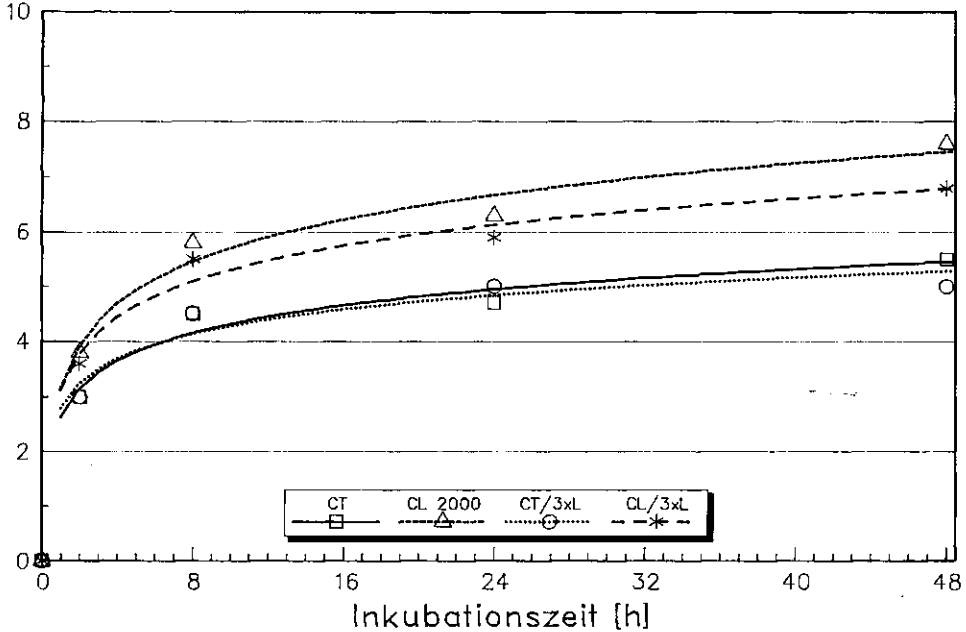


Abb. 29: Einfluss der Inkubationszeit auf die Wirksamkeit von Enzymen beim Abbau von Polyuroniden, Cellulose und Hemicellulosen zu Uronsäuren (Abb. 29 a) und neutralen Zuckern (Abb. 29 b). Das Splintholz war in 0.1 M Puffer gelöst und wurde bei 40 °C mit Enzymen inkubiert (Werte in % der Gesamtmenge an Polyuroniden bzw. Cellulose/Hemicellulosen im Holz)

2.2.2 Analytische Erfassung abgebauter Zellwandpolymere

Untersuchungen der Art und des Aufbaus der durch Enzyme gelösten niedrig- und hochmolekulären Zuckerbausteine wurden anhand unterschiedlicher chromatographischer Verfahren durchgeführt. Die angewandten Analysemethoden und Versuchsergebnisse werden im folgenden Abschnitt beschrieben.

2.2.2.1 Material und Methoden

Material

***Holz**

Die Herkunft und Vorbehandlung des in diesen Versuchen verwendeten Fichtensplintholzes ist mit den der in *Abschnitt 2.2.1* beschriebenen Versuche identisch.

***Enzyme**

Für die im folgenden beschriebenen Versuche wurden 3 Enzyme ausgewählt, die in den Versuchen des *Abschnitts 2.2.1* die Holzsubstanz am effektivsten abbauten. Dies waren:

- Rohament CT
- Maxazym CL 2000
- CL 2000 + Pectinex 3xL AP18

Methoden

***Enzymbehandlung**

Die Enzymbehandlung des Splintholzes erfolgte analog zu den in *Abschnitt 2.2.1* beschriebenen Versuchen. Im folgenden wird deshalb lediglich eine Kurzbeschreibung des Behandlungsablaufes gegeben:

Jeweils 2 g gemahlenes Splintholz wurden in 200 ml Enzymflüssigkeit (0.1 % in 0.1 M Natriumacetatpuffer pH 5) suspendiert und 24 h bei 40 °C inkubiert. Nach der Inkubation wurden die Proben eingefroren, vor den Analysen aufgetaut und zentrifugiert (10 min bei 5000 rpm), die Flüssigkeit abgeschüttet und dann bei 100 °C, 10 min, inaktiviert. Stets wurden Holzblanco und Enzymblanco mitanalysiert, um die Analysenwerte mit diesen "Blancos" zu korrigieren. Alle Behandlungen und Analysen wurden zweifach ausgeführt, um eine gewisse Kontrolle der Resultate zu haben.

***Uronsäurebestimmung und Neutralzuckerbestimmung**

Die Bestimmung der Uronsäuren und Neutralzuckern wurde gemäss *Abschnitt 2.2.1* im Autoanalyser durchgeführt.

HPLC (High Performance Liquid Chromatography)

* Oligomere Zuckeranalysen (HPLC/Oligo)

HPLC-Säulen:

Spectra Physics Liquid Chromatograph SP 8000 Säulen: Aminex HPX 87P (300 mm x 7.8 mm; Bio-Rad Labs. U.S.A.)/ Vorkolonne: "Mixed bed"-Ionentauscher 50 mm x 4.6 mm, Ag 50W-X4 (H+, 400 mesh) u. Ag 3-x4A (OH-, 200-400 mesh) / Eluent: Wasser 0.5 ml/min / Temperatur: 85 °C / Detektor: ERMA-ERC 7510 Refractive index 40 °C RI= 1/2; P= 23

Vorreinigung der Proben:

Zur Entfernung der bei den Analysen störenden Eiweissen und Fetten wurden die Lösungen bis zur Endkonzentration von 0.05 M mit Bleinitrat angefüllt und diese Lösung dann eine Stunde tiefgefroren. Nach Auftauen und Zentrifugieren wurden die Proben in die HPLC-Säulen eingebracht.

In der Enzymflüssigkeit sind nach der Inkubation die Zuckertypen zu erwarten, die im Holz vorkommen sowie die, den Enzympräparaten zugefügten Zucker. Diese Zucker wurden deshalb zunächst als Standardzuckerlösungen im HPLC bestimmt. Die beobachteten Retentionszeiten sind in *Tab. 11* aufgelistet.

Ret.zeit	Zuckertyp
11.63	Stachyose/ Raffinose
12.45	Cellobiose
12.53	Sucrose
13.49	Lactose/ Maltose
14.96	Glucose
16.08	Xylose
16.99	Galactose
18.27	Arabinose
19.28	Fructose

Tab. 11: Retentionszeiten verschiedener Standardzuckerlösungen bei HPLC-Analyse.

Bei der Analyse der Enzymblancos zeigte sich, dass Maxazym CL 2000 bei Retentionszeit 13.49 einen deutlichen Piek aufweist. Dieser Zuckertyp war vorab nicht bei den Standardzuckern mitgeprüft worden. Es kann jedoch davon ausgegangen werden, dass es sich dabei um Lactose oder Maltose handelt. Aus den eben genannten Gründen kann der Kalibrierungsfaktor nur abgeschätzt werden. Die in den Tabellen angegebene Mengenangabe für Lactose/Maltose ist deshalb nur mit Vorbehalt zu werten. Im Chromatogramm überlagern sich die Piek für Glucose und Xylose. Sie können deshalb hier nicht unterschieden werden und werden zusammengefasst.

Durch rechnerischen Vergleich der Piekoberflächen der Chromatogramme von Standardzuckern und der im Versuch zu analysierenden Zucker lässt sich die absolut in der Lösung vorkommende Zuckermenge bestimmen.

HPGPC (High Performance Gel Permeation Chromatography)

Mittels HPGPC lassen sich Molekülgemische nach ihrer Molekülgrösse trennen. Mit dieser Methode ist zwar keine Aussage über den Typ des Polysaccharides oder seiner Zuckerbestandteile zu machen, jedoch sind relative Aussagen über die Kettenlänge von Polysacchariden möglich. Im Zusammenhang mit den vorliegenden Enzymversuchen war es von grossem Interesse festzustellen, inwieweit die eingesetzten Enzyme in der Lage sind, die Zellwandbausteine in ihre Zuckerbestandteile abzubauen.

HPGPC-Säulen:

Spectra Physics Liquid Chromatograph SP 8800 / 3 Bio Gel TSK Säulen (300 x 7.5 mm) u. TSK XL / Vorkolonne (40 x 6 mm) / Eluent: 0.4 M Essigsäure/ NaAc (pH 3) 0.8 ml/min / Temperatur: 30 °C / Detektor: Shodex SE-61 Refractive Index

Nach Verdünnung der Kohlenhydratkonzentration auf 1 - 5 mg/ ml wird die Flüssigkeit in die Säulen eingebracht. Die Durchlaufzeit eines Zuckers wird dabei nicht nur von der Molekülgrösse, sondern auch von der Säulenfüllung bestimmt. Die Zeiten für die getesteten Standardlösungen sind in *Abb. 31* angegeben.

GLC (Gas Liquid Chromatography)

Mit GLC lassen sich die einzelnen, in einem Zuckergemisch oder einem Polysaccharid befindlichen Zuckerbausteine bestimmen. Eine solche Bestimmung war zur Klärung der Fragen über abgebaute Zellwandbestandteile erforderlich. Genauere Kenntnis der abgebauten Zellwandzucker erlauben Schlüsse über die Enzymaktivitäten sowie Mechanismen beim Abbau der Zellwand.

Für gaschromatographische Bestimmungen (durchgeführt nach Englyst u. Cummings 1984) müssen die zu analysierenden Zucker im flüchtigen Zustand vorliegen. Aus diesem Grunde wird zunächst ein hydrolytischer Abbau von Polysacchariden zu Monosacchariden durch den Einsatz von Schwefelsäure herbeigeführt. Viele der nun vorliegenden Monosaccharide, wie z.B. die Aldosen, lassen sich aufgrund mutarotativen Vorkommens im Gaschromatogramm nicht eindeutig bestimmen und werden daher zu Alditolen reduziert (Brunt 1988). Durch diese Reduktion verlieren die Aldosen ihre mutarotative Form. Ein Problem stellen die Ketosen (z.B. Fructose) dar, da an ihrer Carbonylgruppe nach einer Reduktion zum Alkohol ein asymmetrisches Zentrum entsteht und somit zwei Alditole vorkommen können (Glucitol-Mannitol). Sie werden deshalb als Aldosegemisch bestimmt. Aussagen über Fructosevorkommen müssen anhand von HPLC gemacht werden. Die reduzierten Zucker werden nun mit Essigsäureanhydrid acetyliert und so in flüchtige Form gebracht, so dass eine Trennung der Bestandteile im GLC möglich wird.

Folgende Apparatur wurde dabei verwendet:

Carlo Erba Strumentazione / Kolonne: OV-275 3% Chrom; WHP 80/100 / Temperatur: 220 °C / 20 ml/min / Detektor: FID / Integrator: Spectra Physics SP 4290

Arbeitsschema

Mit jedem der chromatographischen Verfahren lassen sich unterschiedliche Fragestellungen beantworten. So erreicht man mit HPGPC eine Trennung der zu untersuchenden Komponenten nach Molekülgrösse, mit HPLC eine Trennung einfacher mono- und oligomerer Zuckergemische nach Molekülgrösse und Einzelbestandteilen und mit GLC eine genauere Determination der Zuckerbausteine. Zur Klärung der Frage, welche Zellwandkomponenten von den Enzymen am meisten abgebaut werden und zu welchen Zuckern der Abbau erfolgt, wurden alle drei chromatographischen Verfahren angewandt. In *Abb. 30* ist das Arbeitsschema skizziert, nach welchem die Analysen durchgeführt wurden.

Gemahlenes Splintholz wurde vor (A1) und nach (A2) Enzymbehandlung mit GLC auf seine Bausteine hin analysiert. Die aus der Enzymbehandlung hervorgehende Lösung, bestehend aus dem Enzym und abgebauten Zellwandbestandteilen, wurde zunächst auf Vorkommen und Menge von Uronsäuren (B1) und neutralen Zuckern (C1), dann nach Inaktivieren erneut mit GLC (D), zusätzlich mit HPGPC (F) und HPLC (E) untersucht. Anschliessend wurde zur Trennung hoch- und niedrigmolekulärer Zucker eine Dialyse durchgeführt und dann sowohl das Retentat als auch das Permeat mittels HPGPC (I1/I2) sowie GLC (K1/K2) und Autoanalyzer (Uronsäure G1/G2; Glucose H1/H2) untersucht.

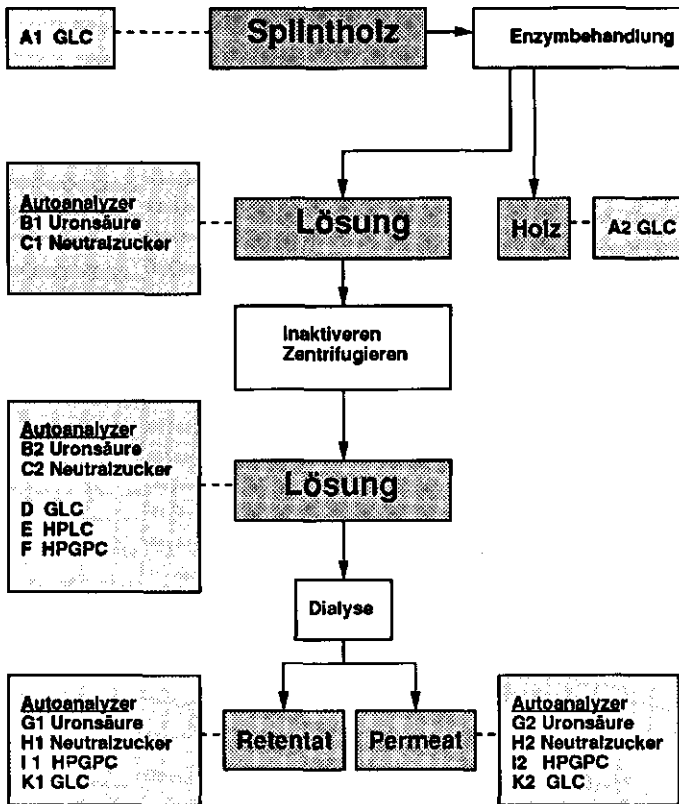


Abb. 30: Arbeitsschema bei chromatographischen Zuckeranalysen

2.2.2.2 Versuchsdurchführung und Ergebnisse

HPGPC-ANALYSEN

HPGPC-Analysen wurden an den folgenden Stufen des Arbeitsschemas (siehe Abb. 30) durchgeführt:

- Analyse der Enzymlösung nach Einwirken auf Holz ("F")
- Analyse des Permeats nach Dialyse ("I2")
- Auch ohne genaue Gewichtsbestimmung wurde deutlich, dass sich nach der Dialyse der weitaus überwiegende Teil der Zucker im Permeat befand, somit also beinahe ausschliesslich kleinmolekuläre Zucker in der Lösung vorkommen. Eine Analyse des Retentates ("I1") war aus diesem Grunde nicht möglich.

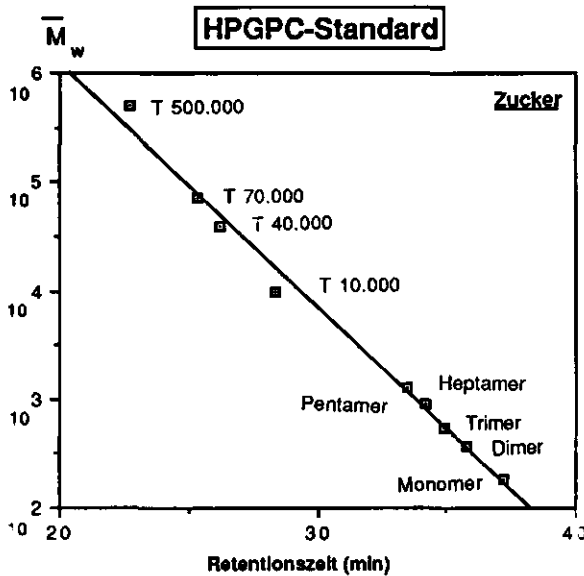


Abb. 31: Retentionszeiten einiger Standardzucker-Lösungen durch HPGPC-Kolonne

Ergebnisse Analyseschritt "F"

Aus Abb. 31 u. 32 ist zu ersehen, dass in den Reaktionsflüssigkeiten nach der Behandlung fast ausschliesslich kleinmolekuläre Zucker (Mono- bis Heptamere) vorkommen. Das Fehlen hochmolekulärer Abbaustoffe wird auch durch das Dialyseresultat bestätigt, bei dem -wie bereits erwähnt- ebenfalls ausschliesslich kleine Zuckermoleküle nachweisbar waren. Die Tendenz, dass die angewandten Enzyme die Zellwandbestandteile vor allem zu kleineren Bruchstücken abbauen, ist bei allen drei Enzymen zu erkennen. Rohament CT produziert vor allem Monomere, jedoch auch zu geringen Anteilen Dimere, Tri- bis Heptamere, besitzt jedoch auch im Enzymblanco recht viele Monosaccharide. Maxazym CL 2000, welches auch bereits im Blanco grosse Mengen Dimere hat, baut die Polysaccharide fast ausschliesslich zu

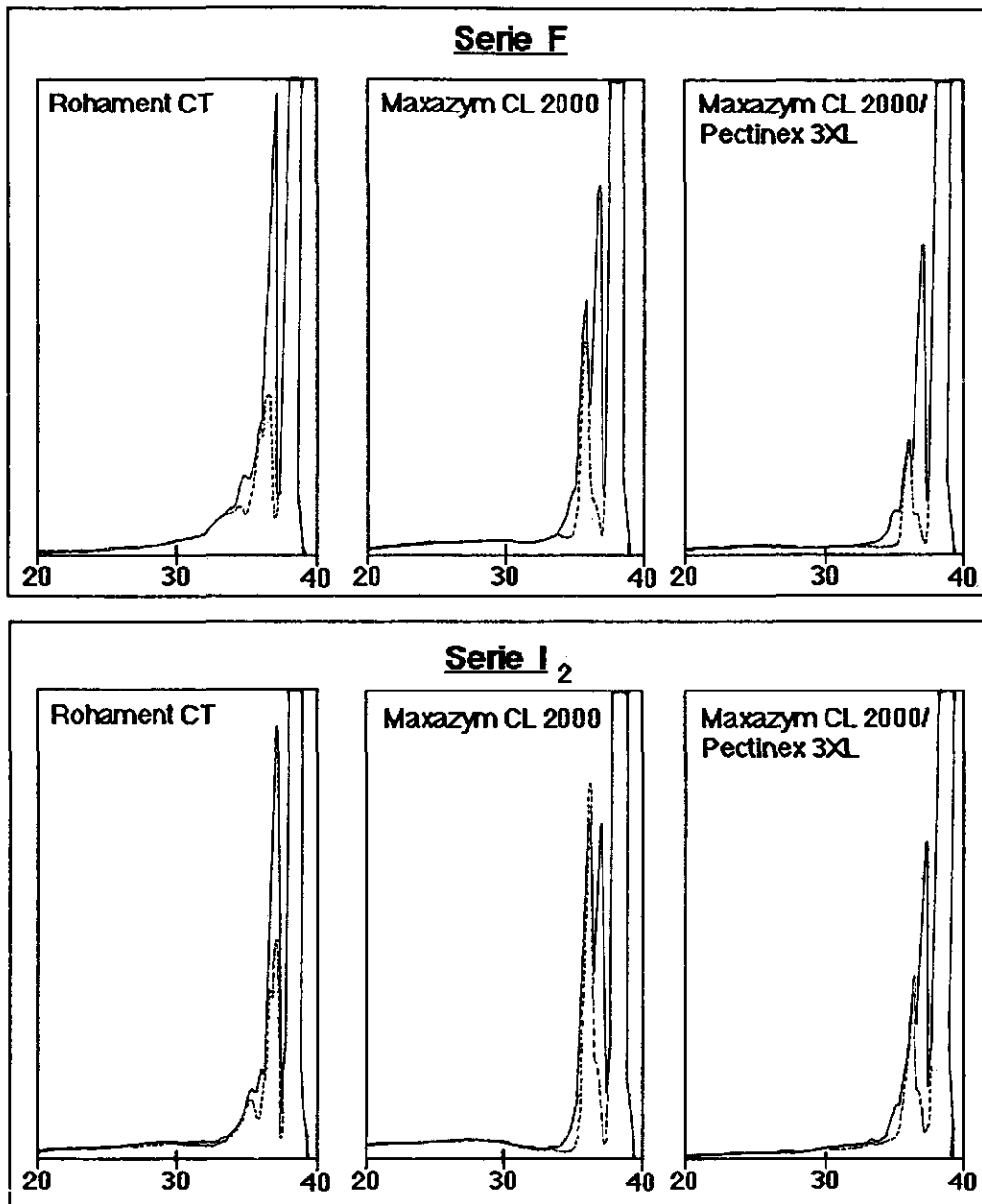


Abb. 32: HPGPC-Chromatogramm der in den Analyseschritten "F" und "I₂" (vgl. Abb. 31) analysierten Enzyme. Die gepunktete Linie gibt das Chromatogramm des Enzymblancos wieder, die durchgezogene Linie stellt das Chromatogramm der Enzymbehandlung dar. Der Peak bei 39.1 beruht auf der Puffersubstanz. Ordinate: Refractive Index; Abszisse: Retentionszeit [min].

Monomeren und geringen Mengen Di- und Trimeren ab. Deutlich zeichnet sich die Tendenz ab, dass das kombinierte Enzym CL 2000/3xL die Polysaccharide unter den gewählten Versuchsbedingungen zum grössten Teil zu Monosacchariden abbaut und auch geringe Mengen Tri-/ Tetrasaccharide vorkommen.

Ergebnisse Analyseschritt "I2"

Die Dialyse zeigte, dass der grösste Teil der Zucker im Permeat wiederzufinden ist. Das Ergebnis liess erwarten, dass die in Analyseschritt "F", also unmittelbar vor der Dialyse analysierte Lösung, mit der in Analyseschritt "I2" zu analysierenden Lösung grosse Ähnlichkeit aufweisen würde. Ein Vergleich der Chromatogramme beider Serien bestätigt dieses deutlich. Wie auch bereits bei "F" aufgefallen war, bauen die Enzyme die Zellwandpolymere vor allem zu Mono- und Dimeren ab. Nur beim CL 2000/ 3xL und CT kommen noch geringe Mengen Tri-/ Tetramere in der Lösung vor.

HPLC-ANALYSEN

HPLC-Analysen erfolgten nach der Enzymbehandlung des Splintholzes, unmittelbar vor Dialyse der Lösungen (siehe Arbeitsschema *Abb. 30*; Analyseschritt "E"). Es wurden neben den Enzymlösungen, die nach der Holzbehandlung abzentrifugiert wurden, auch Enzymblancos (Enzymlösungen ohne Holzeinwirkung) und Holzblancos (Holz-Pufferlösung ohne Enzym) analysiert.

Enzymblancos

Tab. 12 zeigt die in den Enzymblancos gefundenen Zuckertypen und -mengen auf. Eindeutig zu ersehen ist, dass die Handelsenzyme erhebliche Mengen Zucker enthalten. Diese Zucker werden bei der Enzymproduktion vom Hersteller zur Stabilisierung hinzugegeben. Rohament CT enthält vor allem Glucose, Maxazym CL 2000 mehr Lactose/ Maltose. Pectinex 3xL, hier nur in Kombination mit CL 2000 untersucht, enthält wenig Zucker.

Zucker	CT	CL 2000	CL/3xL
Lactose/Maltose	-	281	133
Glucose	252	69	39
Galactose	-	24	22
Fructose	9	-	-

Tab. 12 : Mit HPLC analysierte Zuckertypen und Zuckermengen in Handelsenzymen [$\mu\text{g}/\text{ml}$].

Holzblancos

In den im Versuch mitanalysierten Flüssigkeiten des Holzblancos (Holz in Puffer suspendiert) wurden nur geringste Mengen an Zuckern gefunden.

Reaktionsflüssigkeit ("E")

In der *Tab. 13* werden die im HPLC-Chromatogramm analysierten Mengen an Zuckern für die Enzyme Rohament CT, Maxazym CL 2000 und CL/ Pectinex 3xL getrennt wiedergegeben. Die Tabelle enthält die durch Substraktion der Enzymblancos und Holzblancos korrigierten Zuckertypen und -mengen, die durch die

Enzymbehandlung aus dem Holz gelöst wurden.

Rohament CT baut am meisten Zellwandsubstanzen ab. Seine Hauptaktivität ist auf Cellulose gerichtet, was anhand der hohen Glucose- und Cellobiosewerte zu erkennen ist. Arabinose in der Flüssigkeit weist jedoch darauf hin, dass CT auch Teile der Hemicellulosen oder Pectine abbaut.

In der Reaktionsflüssigkeit von Maxazym CL 2000 sind im Vergleich zu CT weniger Zuckermengen zu finden. Das ist auf den geringeren Celluloseabbau (Cellobiose- und Glucosewerte) zurückzuführen. Dagegen zeichnet sich CL 2000 durch stärkere Aktivitäten beim Abbau von arabinose- und galactoseenthaltenden Zellwandpolymeren aus.

Die Reaktionsflüssigkeit der Kombination von CL 2000 mit Pectinex 3xL enthält im Verhältnis zur vorher genannten Reaktionsflüssigkeit mengenmässig nur halb soviel vom Enzymstoff CL 2000. Das zeigt sich auch im Analyseresultat. Die Menge abgebauter Cellulose ist mit 360 µg/ml um ca. 40 % geringer als beim reinen CL 2000. Die Hauptaktivität von 3xL liegt eindeutig mehr im Bereich von Hemicellulosen bzw. Pectinen. Dies ist abzulesen anhand der verhältnismässig hohen Abbaumenge an Galactosen und Arabinosen. Die Totalmenge der durch dieses Kombinationspräparat abgebauten neutralen Zellwandzucker liegt ca. 30 % niedriger als die durch Behandlung mit CL 2000 bzw. CT gelöste Gesamtmenge an neutralen Zellwandzuckern.

Zucker	CT	CL 2000	CL/3xL	
Tri-/ Tetramere	-	-	16	[µg/ml]
Cellobiose	130	24	31	
Glucose	589	576	360	
Galactose	-	19	35	
Arabinose	8	56	59	
Total	727	675	501	

Tab. 13: Nach der Enzymbehandlung von Holzmehl in Reaktionsflüssigkeit analysierte Mengen an Zuckern, bestimmt mit HPLC [µg/ml].

GLC-ANALYSEN

Gaschromatographische Zuckeranalysen wurden an verschiedenen Stellen des Arbeitsschemas durchgeführt. Nach der Enzymbehandlung und der anschliessenden Dialyse (zur Trennung grossmolekularer und kleinmolekularer Zucker) zeigte sich, dass sich der überwiegende Teil der gelösten Zucker im Permeat ("K2") befand, also kein Unterschied zu den Analyseresultaten der Lösung vor Dialyse ("D") zu erwarten war. Auf die Bestimmung von "K2" wurde deshalb verzichtet. Die Messung des

Retentates "K1" erwies sich aufgrund der geringen Masse als problematisch und wurde darum ebenfalls nicht ausgeführt. GLC-Analysen wurden aus diesem Grunde nur am Holzstoff vor und nach Enzymbehandlung ("A1", "A2"), sowie an der Lösung nach Enzymbehandlung ("D") durchgeführt.

Analyseschritte "A1" und "A2"

Betrachtet man die Analyseresultate des unbehandelten Holzes (*Tab. 14*) so bestätigt sich, dass erwartungsgemäss die Glucose als Baustein der Cellulose, Hemicellulosen und anderer Zellwandbestandteile mengenmässig am meisten vorkommt. Weiterhin werden die Hemicellulosenbausteine Mannose, Xylose, Galactose und Arabinose gefunden. Mit 1.4 % liegt die Menge Uronsäure in der erwarteten Grössenordnung. Insgesamt werden beim nicht behandelten Holz 74.5 % der eingewogenen Holzmasse im GLC bestimmt. Beachtet man zudem, dass das eingewogene Holzmehl ca. 5 - 10 % Holzfeuchte enthielt, liegen die hier wiedergegebenen Werte sicher um 5 - 10 % zu niedrig. Der Gesamtanteil der in der Analyse bestimmten Zucker läge somit bei ca. 80 % der in der eingewogenen Trockenholzmasse vorkommenden Zucker.

Die Polysaccharide der Holzzellwand werden sowohl durch den Puffer und in stärkerem Masse durch die Enzymbehandlung aus dem Holz gelöst. Je nach Enzymtyp sind nach den Behandlungen ca. 25 - 35 % weniger Zucker wiederzufinden als vor den Behandlungen. Das ist zum einen auf den enzymatischen Abbau zurückzuführen, zum anderen aber auch auf die Wirkung des Wassers und Puffers auf leicht lösliche Zellwandbestandteile (in reiner Pufferbehandlung sind nur 91 % der Anfangsmenge zurückzufinden). Der Abbau richtet sich sowohl auf glucosehaltige Polysaccharide (Cellulose, Stärke, Hemicellulosen) als auch auf mannose-, xylose-, arabinose- und galactosehaltige Strukturen (Hemicellulosen, Pectine). Beim Vergleich der Wirkung der verschiedenen Enzyme fällt auf, das Maxazym CL 2000 die analysierten Polysaccharide stärker abbaut als Rohament CT.

Analyseschritt "D"

Die Ergebnisse der GLC-Bestimmung der Reaktionsflüssigkeit nach Inkubation (Analyseschritt "D") sind in *Tab. 15* wiedergegeben.

Beim Vergleich der *Tab. 14 u. 15* fällt auf, dass in der flüssigen Phase nach Enzymbehandlung weitaus weniger Zucker zurückzufinden sind, als aus dem Holz gelöst wurden. Diese Diskrepanz ist nicht uniform für alle Polysaccharide und ist auf die Art der Probennahme zurückzuführen. Direkt nach der Enzymbehandlung wurden die Holz-Enzymgemische zentrifugiert und die flüssige Phase zur Analyse abpipettiert. Der Holzstoff wurde dann vor der GLC-Bestimmung mehrfach ausgewaschen. Es ist anzunehmen, dass diverse Zucker durch die Enzymbehandlung entstanden, jedoch nicht in der Enzymlösung sondern im Holzstoff vorlagen. Diese Zucker wurden dann ausgewaschen und in keiner der beiden Analyseschritte mitanalysiert.

"A1" Zuckergehalt vor Behandlung [% der Einwaage]		"A2" Recovery nach Behandlung [% der Gesamtmenge im Holz vor Behandlung]			
		Puffer	CT	CL	CL/3xL
Arabinose	1.2	103	72	80	65
Xylose	5.9	104	74	68	66
Mannose	14.3	92	73	66	65
Galactose	0.9	48	68	65	87
Glucose	50.8	90	73	64	63
neutr.Zucker	73.1 %	91	73	65	64 [%] von ursprünglicher Menge
Uronsäure	1.4 %	86	66	59	60 [%] von ursprünglicher Menge
Total	74.5 %				

Tab. 14: Zuckergehalt des Holzes vor und nach der Enzymbehandlung (bestimmt im GLC). Angegeben ist der prozentuelle Anteil der verschiedenen Zucker beim Holz vor Enzymbehandlung sowie die nach Enzymbehandlung von der Ausgangsmenge zurückzufindende Zuckermenge [%].

	Recovery [%]			
	Puffer	CT	CL	CL/3xL
Arabinose	0	3	0	0
Xylose	0	3.3	0	0.7
Mannose	0	9.6	13.6	6
Galactose	0	0	19.9	0
Glucose	0	9.5	14.5	4.2
neutr. Zucker	0	8.8	13	4.1
		von ursprünglicher Menge Neutralzucker		
Uronsäure	0	18	25	8.6
		von ursprünglicher Menge Uronsäure		

Tab. 15: Nach Enzymbehandlung in der flüssigen Phase gefundenen Zucker, ausgedrückt als [%] Verhältnis zur Gesamtmenge der Zucker vor Enzymbehandlung (Analyseschritt "D").

Bestimmung der Uronsäure und neutralen Zucker

Zu verschiedenen Zeitpunkten der Versuche wurden im Autoanalyser Uronsäurebestimmungen und Neutralzuckerbestimmungen vorgenommen (siehe Arbeitsschema *Abb. 30*). Zunächst erfolgten die Analysen direkt nach der Enzymbehandlung des Splintholzes ("B1", "C1"). Es war zu vermuten, dass die Inaktivierung des Enzymes bei hohen Temperaturen und die anschließende Zentrifugierung das Analyseresultat verändern. Deshalb wurden die Bestimmungen unmittelbar nach dem Inaktivieren erneut durchgeführt ("B2", "C2"). Im weiteren wurden diese Zuckerbestimmungen nach der Dialyse mit dem Permeat durchgeführt ("G2", "H2"). Eine Untersuchung des Retentates war aufgrund mangelnder Masse nicht möglich. Die Ergebnisse der Analysen werden in *Tab. 16* wiedergegeben. Sie sind ein Mass für die Wirksamkeit der Enzyme beim Abbau von Holzsubstanz.

Betrachtet man die Analysenergebnisse vor und nach Inaktivierung ("B1"/ "B2" sowie "C1"/ "C2") wird deutlich, dass die Wärmebehandlung und das Zentrifugieren keine Veränderung des Resultates bewirken. Maxazym CL 2000 zeigt sich sowohl beim Abbau von Pectinen als auch beim Hemicellulosen/ Celluloseabbau effektiver als Rohament CT, welches wiederum der Kombination CL/ Pectinex 3xL überlegen ist. Durch die Halbierung der CL 2000-Konzentration beim Gemisch CL/3xL ist diese weniger effektiv als das CL alleine.

Auch die Analyse der Serie "G1" (Permeat) kommt zu Werten in vergleichbarer Grössenordnung. Die geringe Abnahme an nachgewiesenen Uronsäuren und Neutralzuckern ist durch den Verlust einiger Zucker bei der Dialyse zu erklären.

Anzumerken ist weiterhin, dass die hier gefundenen Abbaumengen an Uronsäuren und Neutralzuckern gut mit den in *Abschnitt 2.2.1* durchgeführten Zuckeranalysen übereinstimmen. Diese Übereinstimmung unterstreicht die Reproduzierbarkeit der Versuche.

Enzym	<u>Abbau Polyuronide [%]</u>			<u>Neutralzucker [%]</u>		
	B1	B2	G2	C1	C2	H2
Rohament CT	12,7	12,9	11,9	9,8	9,8	9,4
Maxazym CL 2000	14,2	14,6	13,1	11,7	12,1	11,2
CL/ Pectinex 3xL	11,0	10,8	10,4	7,7	7,8	8,0

Tab. 16: Wirksamkeit von Enzymen beim Abbau von Polyuroniden und Hemicellulosen/ Cellulose. Die angegebenen %-Werte beziehen sich auf die Gesamtmenge an Polyuroniden im Holz (1.4% der gesamten Holzsubstanz) und auf die Gesamtmenge Hemicellulosen/Cellulose (75 % der gesamten Holzsubstanz).

2.3 Bestimmung der Enzymwirksamkeit an intakten Holzproben

Einleitung

Im Gegensatz zu allen bisherigen Versuchen wurde der im folgenden beschriebene Versuch durchgeführt, um einen Einblick in die mengenmässige Grössenordnung des enzymatischen Abbaus von Pectinen, Cellulose und Hemicellulosen an intakten Holzproben zu erhalten. Zu diesem Zweck wurden die bei einer enzymatischen Behandlung von intakten Kleinproben abgebauten und in die Enzymlösung gegangenen Mengen an Uronsäuren und neutralen Zuckern bestimmt.

Zum Vergleich wurde der Uronsäuregehalt des enzymbehandelten und unbehandelten Holzes in unterschiedlichen Probentiefen bestimmt (siehe *Abb. 33*).

2.3.1 Material und Methoden

MATERIAL

Holz

Für diesen Versuch wurde frisches Fichtensplintholz nordbelgischer Herkunft nach dem Sägen gehobelt und in Probenabmessungen 2 x 2 x 5 cm aufgetrennt. Diese Probenabmessungen wurden in Anlehnung an alle anderen Versuche mit Fichtenholz-Kleinproben (siehe *Abschnitt 3.1*) gewählt.

Enzyme

Die folgenden Enzyme wurden in 1 % Konzentration in 0.1 M NaAc-Puffer mit pH = 5 angesetzt. Vor den Versuchen wurden Rohament CT und Maxazym CL 2000 mit der in *Abschnitt 2.2.1.1* beschriebenen Methode dialysiert.

1 Maxazym CL 2000	4 CL 2000/ Pectinex
2 Rohament CT	5 Rohament 7069
3 Pectinex 3xL	6 nur Puffer

METHODEN

Enzymbehandlung

Von jeder Enzymlösung und dem Blanco (nur Puffer) wurden 300 ml auf zwei Bechergläser verteilt. In jedem Becherglas wurden dann drei Holzproben mit dem Enzym im Kesseldruckverfahren (2 h Vacuum/ 2 h Druck) imprägniert und vor Verdunstung mit Deckeln geschützt und bei 40 °C gelagert.

Der Versuch dauerte 10 Tage. An den Behandlungstagen 3, 7 und 10 wurden von jedem Becherglas 10 ml Enzymlösung zur Bestimmung des Uronsäure- und Neutralzuckergehaltes abpipettiert, direkt nach Probennahme 10 min bei 100 °C inaktiviert und dann eingefroren.

Analyse der Reaktionsflüssigkeit

Nach Ablauf der Enzymbehandlung wurden die Enzymlösungen auf Vorkommen und Mengen an Uronsäuren und neutralen Zucker im Autoanalyzer untersucht. Eine Beschreibung der Analysemethodik und -apparatur ist *Abschnitt 2.2.1.1* zu entnehmen.

Analyse der Holzproben

Die in der Lösung gefundenen Mengen an Uronsäuren bzw. neutralen Zucker wurden enzymatisch aus den Holzproben gelöst. Fraglich ist jedoch, ob diese Stoffe alleine aus den obersten Zellschichten gelöst wurden oder ob sie aus dem ganzen Probenquerschnitt stammen. Zur Klärung dieser Frage wurden den enzymbehandelten und unbehandelten Holzproben nach Versuchsende in verschiedenen Probentiefen mit einem Mikrotom ca. 0.5 mm dünne Schichten entnommen (siehe *Abb. 33*), die dann fein gemahlen wurden. Anschliessend wurde der Uronsäuregehalt dieser Proben bestimmt (Analysemethode siehe *Abschnitt 2.2.1.1*). Auf die Bestimmung des Cellulosegehaltes dieser Holzschichten wurde verzichtet, da die enzymatisch aus dem Holz gelösten Mengen an Neutralzuckern überaus gering waren (siehe *Ergebnisteil 2.3.2*).

Bestimmung der Eindringung von Flüssigkeit in Holzproben

Die nach der Enzymbehandlung in der Flüssigkeit gefundene Menge an Uronsäuren und neutralen Zucker kann als Mass der Enzymwirksamkeit beim Abbau von Uronsäuren, Cellulose und Hemicellulosen aus Holzproben gesehen werden. Ob jedoch der enzymatische Abbau dieser Zucker zugleich auch die Tränkbarkeit des Holzes verbessert, musste sich anhand von Tränkversuchen mit den vorbehandelten Proben zeigen. Diese Tränkversuche mit den im vorliegenden Versuch behandelten Fichten-Kleinproben sind aus Gründen der Übersichtlichkeit an anderer Stelle beschrieben (siehe *Abschnitt 3.1*).

2.3.2 Versuchsdurchführung und Ergebnisse

Bestimmung von Uronsäure und neutralen Zuckern in Reaktionsflüssigkeit

Das exakte Trockengewicht der Holzproben vor den Enzymbehandlungen konnte bei Versuchsbeginn nicht bestimmt werden, da eine Trocknung bei hohen Temperaturen möglicherweise eine Veränderung der anatomischen oder auch chemischen Zellstruktur bewirkt hätte. Da jedoch alle Proben aus einem Stammabschnitt genommen wurden, kann für alle von einer ungefähr gleichen Rohdichte ausgegangen werden. Das mittlere Holzgewicht (3 Proben in einem Becherglas) betrug ca. 40 g. Bei einer angenommenen Holzfeuchte vor Versuchsbeginn von ca. 30 % beträgt das Trockengewicht der 3 Proben dann 30 g. Im zweiten Versuchsteil wurde der Uronsäuregehalt der unbehandelten Proben bestimmt. Es zeigte sich, dass 2 % der gesamten Holzsubstanz Uronsäuren sind. An anderer Stelle wurde bereits der Gesamtgehalt an Hemicellulosen und Cellulose als 75 % der gesamten Holzsubstanz bestimmt (*Abschnitt 2.2.2*). Diese Gesamtmengen an Uronsäure, Hemicellulosen und Cellulose (Neutralzucker) wurden als Bezugsmenge genommen. Die in der Holzsubstanz vorkommenden Mengen Uronsäuren und Neutralzucker liessen sich somit für jede Behandlung (=pro Becherglas) getrennt berechnen.

Rechenbeispiel:

2 Gew. % Uronsäure von 30 g Holz = 0.6 g Uronsäure/Becherglas

75 Gew. % Neutralzucker von 30 g Holz = 22.5 g Neutralzucker/Becherglas.

Um nun einen Eindruck über die relative Menge der in Lösung gegangenen Zucker zu erhalten, wurden die in der Reaktionsflüssigkeit gefundenen Mengen Uronsäure bzw. neutralen Zucker ins Verhältnis zu den total in den Holzproben vorkommenden Mengen an Uronsäure und Cellulose/Hemicellulosen gesetzt. Diese Mengenverhältnisse bei den Probenahmen sind in den *Tab. 17* wiedergegeben. Vergleicht man diese, durch die enzymatische Behandlung der Kleinproben in Lösung gegangenen Zucker mit den Analyseergebnissen der *zr.* Holzmehl durchgeführten Enzymbehandlungen fällt folgendes auf:

Obwohl die Behandlungszeit weitaus länger war als bei den Holzmehl-Behandlungen (10 Tage gegenüber 24 h bei Holzmehl) werden durch die Enzyme aus den Holzproben mit intakter Struktur nur sehr wenig Uronsäuren und fast keine anderen Zucker gelöst. Bei den enzymatischen Behandlungen mit Holzmehl wurden mit den hier angewandten Enzymen stets ca. 10 - 15 % der vorkommenden Polyuroniden und 5 - 10 % der Cellulose/Hemicellulosen aus dem Holzstoff gelöst. An den intakten Holzproben wurden dagegen in 10 Tagen nur maximal 1.6 % der Polyuroniden und kaum nachweisbare Mengen (0,1 %) der Cellulose/ Hemicellulosen in Lösung gebracht. Es besteht jedoch die Möglichkeit, dass die Enzyme mehr als diese nachgewiesenen Mengen an Zellwandsubstanz abgebaut haben, diese Zucker jedoch nicht in der Lösung vorlagen, sondern in abgebauter Form in den Holzproben verblieben.

Wie auch bereits bei allen anderen Versuchen gezeigt, besitzen CL 2000 und vor allem Rohament CT die höchste Effektivität beim Abbau von Uronsäuren. Bemerkenswert ist, dass in den hier vorliegenden Versuchen nicht das CL 2000 alleine am effektivsten ist, sondern in Kombination mit dem 3xL besonders gut wirkt. Ebenfalls abweichend von den Resultaten der Holzmehlbehandlungen ist, dass Rohament CT am wirksamsten von allen Produkten ist.

Bestimmung der Uronsäure in Holzschnitten

Beim Vergleich der in *Tab. 18* aufgeführten Mengen Uronsäure in der Probenmitte und im Probenrand lassen sich keine Behandlungseffekte feststellen. Abgesehen von CL 2000, bei dem 0.2 % weniger Uronsäure im Probenrand als in der Probenmitte zurückgefunden werden, ist bei den anderen Behandlungen die Menge gleichgross oder sogar z.T. in der Randschicht höher. Es ist davon auszugehen, dass die geringen Unterschiede von 0,1 % nicht auf den Einfluss der Enzymbehandlung zurückzuführen sind, sondern auf mengenmässige Unterschiede in der Uronsäuremenge der ursprünglichen, unbehandelten Proben.

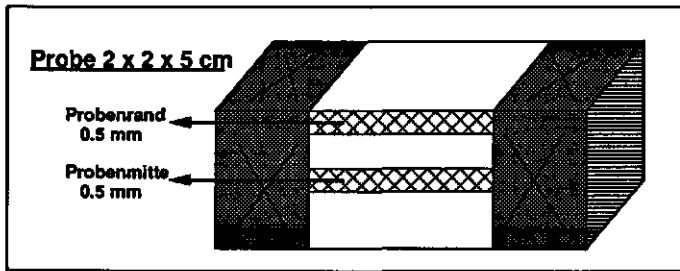


Abb. 33: Probennahme von Mikroschnitten aus enzymbehandelten Holzproben zur Bestimmung des Uronsäuregehaltes

Enzym	Probennahme					
	Tag 3 in [%]		Tag 7 in [%]		Tag 10 in [%]	
	U	N	U	N	U	N
CL 2000	.2	.2	.3	0	.9	0
CT	.7	0	.7	0	1.6	0
3xL	0	0	.1	0	.2	.1
CL 2000/3xL	.3	.1	.6	0	1.0	.1
7069	.1	0	.2	.1	.5	.1
nur Puffer	0	0	0	0	0	0

Tab. 17: Wirksamkeit von Enzymen beim Abbau von Polyuroniden (U) und Neutralzuckern (N) aus intakten Holzproben. Angegeben ist die relative Menge in Lösung gegangener Uronsäure und Neutralzucker in den Behandlungen. Die absolute Menge der in Lösung analysierten Menge Uronsäure und Neutralzucker wurde zur Gesamtmenge der in den Proben vorkommenden Uronsäure (2 % der Substanz) und Neutralzucker (75 % der Substanz) ins Verhältnis gesetzt [%].

Behandlung	Uronsäure In [%] der Gesamtmenge an Holzsubstanz	
	Probenrand	Probenmitte
CL 2000	1.5	1.7
CT	1.8	1.8
3xL	1.8	1.9
CL 2000/3xL	1.8	1.8
7069	1.9	1.8
nur Puffer	2.0	1.9
Kontrolle	1.9	1.8

Tab. 18: Menge Uronsäure [% von Gesamtmenge der Holzsubstanz] in dünnen Holzschnitten, entnommen aus Probenmitte bzw. Probenrand enzymbehandelter und unbehandelter Holzproben. Gemittelter Wert von 2 Proben.

Ein Unterschied zwischen den verschiedenen Behandlungen ist ebenfalls nicht zu erkennen. Dieses ist jedoch nicht weiter verwunderlich, da durch das effektivste Enzym (Rohament CT) total nur ca. 1.6 % der in den Proben vor Enzymbehandlung enthaltenen Uronsäuremenge durch die Behandlung gelöst werden (siehe Tab. 17). Rechnet man diese Menge auf die gesamte im Holz vorkommende Menge Uronsäure um (ca. 1.5 - 2 % von der gesamten Holzsubstanz), ergeben sich Unterschiede zwischen den behandelten und unbehandelten Holzproben im Uronsäuregehalt von 0.03 %. Werte in dieser Größenordnung sind jedoch bei der angewandten Bestimmungsmethode nicht zu unterscheiden.

Die Ergebnisse der beiden Versuche mit intakten Holzproben können wie folgt zusammengefasst werden:

- bei der enzymatischen Vorbehandlung von Holzproben mit intakter Holzstruktur werden nur sehr geringe Mengen der Uronsäuren und Cellulose/Hemicellulosen aus der Holzzellwand in der Reaktionsflüssigkeit gefunden (nach 10 Tagen: max. 1.6 % der Uronsäuren und 0,1 % der Cellulose/Hemicellulosen).
- die in der Enzymlösung analysierten Mengen an Uronsäuren und Cellulose/Hemicellulosen sind um den Faktor 10 (für Uronsäuren) bis Faktor 30 (für Neutralzucker) geringer als bei der Behandlung von Holzmehl. Dies trotz einer weitaus längeren Enzymbehandlung der Holzproben (10 mal länger).
- ein Unterschied in der Effektivität beim Abbau von Zellwandpolysacchariden zwischen den verschiedenen Enzymen ist zu erkennen. Dieser Unterschied ist jedoch erheblich geringer als bei der enzymatischen Behandlung von Holzmehl.

2.4 Enzymaktivität bei Langzeitinkubation

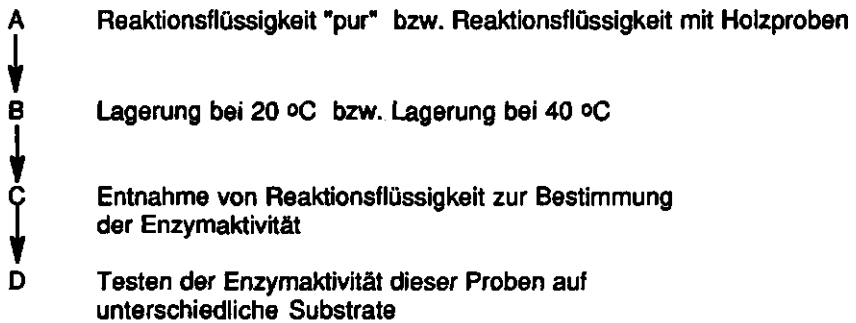
2.4.1 Einleitung

Bei der Vorbehandlung von Rund- oder Schnittholz mit Enzymen sind Behandlungszeiten von 7 - 14 Tagen notwendig. Das zeigen die in Kapitel 3 beschriebenen Versuche. Bei solchen langandauernden Behandlungsprozessen ist nicht nur die kurzfristige Enzymaktivität wichtig. Vielmehr müssen die eingesetzten Enzyme über den Behandlungszeitraum hinweg stabil bleiben.

Bisherige Versuche wurden zudem meist mit Temperaturen (ca. 40 °C) durchgeführt, bei denen die Enzyme in Kurzversuchen ein Aktivitätsoptimum besitzen. Bei solchen Temperaturen finden jedoch bereits mehr oder weniger Denaturierungen der Enzyme statt, wodurch unter Umständen nach einigen Tagen Behandlungszeit ein starker Aktivitätsverlust eintritt. Bei niedrigeren Temperaturen ist mit geringeren Denaturierungen zu rechnen. Eine niedrigere Behandlungstemperatur könnte deswegen für Langzeitversuche (10 - 14 Tage) zu besseren Versuchsergebnissen führen, obwohl die Enzymaktivität bei kurzzeitigen Versuchen bei 40 °C weitaus höher ist. Die im folgenden beschriebenen Versuche wurden durchgeführt, um einige Enzyme hinsichtlich ihrer Aktivität beim Abbau von Zellwandsubstanzen bei Langzeitinkubation zu untersuchen. Um den Einfluss der Temperatur dabei zu erkennen, wurden alle Versuche bei 20 °C und 40 °C ausgeführt.

2.4.2 Material und Methoden

In dem vorliegenden Versuch wurde der Verlauf der Enzymaktivität von 3 Handelsenzymen unter Anwesenheit von Holzproben und ohne Holzproben ("pur") bei 2 Behandlungstemperaturen untersucht. Dafür wurde der im folgenden beschriebene Versuchsablauf gewählt:



Behandlungsschritt A:

In dem Versuch wurden zum einen je Behandlung 3 Holzproben in 150 ml Enzymlösung eingebracht, zum anderen zu Vergleichszwecken je 150 ml Enzymlösungen ohne Holzproben ("pur") mitbehandelt.

*Holz

Kleinproben Fichtensplintholz
Abmessungen: 2 x 2 x 5 cm
Herkunft: Niederlande, Nähe Zwolle

*Enzyme

E1: Rohament CT (1%)
E2: Maxazym CL 2000 (1 %)
E3: Maxazym CL 2000 + Pectinex 3xL (0.5% + 0.5%)
Puffer: 0.1 M Na-acetat pH 5

Rohament CT und Maxazym CL 2000 wurden, zum Entfernen der für die Versuche unerwünschten Zucker, vor Gebrauch dialysiert. Dies geschah mit der in *Abschnitt 2.2.1.1* beschriebenen Methode. Anschliessend wurden alle Enzyme in einem 0.1 M Natriumacetatpuffer auf eine 1 % Konzentration verdünnt.

Die Holzproben wurden bei Versuchsbeginn im Vacuumverfahren in einem Exicator 30 min mit der Enzymlösung imprägniert und dann während der Versuchsdauer in Bechergläsern in der Enzymlösung untergetaucht. Die Vacuumimprägnierung wurde nach 6 Tagen wiederholt.

Behandlungsschritt B:

Alle Behandlungsvarianten wurden sowohl bei Raumtemperatur (20 °C) sowie in einem Klimaschrank bei 40 °C durchgeführt. Somit ergaben sich die folgenden Behandlungen:

1	Rohament CT mit Holz	} jeweils bei 20 °C und 40 °C
2	Maxazym CL 2000 mit Holz	
3	Maxazym CL + Pectinex 3xL mit Holz	
4	Pufferlösung mit Holz	
5	Rohament CT	
6	Maxazym CL 2000	
7	Maxazym CL 2000 + Pectinex 3xL	

Behandlungsschritt C:

In regelmässigen Abständen wurde den Behandlungen 1 ml Reaktionsflüssigkeit für die unter "D" beschriebenen Aktivitätsbestimmungen entnommen. Die erste Probennahme erfolgte unmittelbar nach Beginn des Versuches, dann nach der Vacuumprägnierung der Holzproben (0.5 h) und im weiteren nach 1 h - 2 h - 4 h - 24 h - 48 h - 96 h - 144 h - 192 h - 240 h - 336 h. Der Versuch wurde nach 14 Tagen (= 336 h) beendet. Die entnommene Reaktionsflüssigkeit wurde dann bis zur Analyse eingefroren.

Behandlungsschritt D:

Die Enzymaktivität der aus dem Versuch entnommenen Enzymproben wurde auf folgenden Substraten untersucht:

- * Polygalacturonsäure (GalA), Nutritinal Biochemicals;
- * Carboxymethylcellulose (CMC) AF 0305, Enka;
- * Xylan (XYL) ex larch sawdust pur CHR Kochlight.

Umfangreiche Vorversuche mit einigen inkubierten Substraten zeigten, dass für die spectrometrischen Bestimmungen die aus dem Versuch entnommene Reaktionsflüssigkeit für die Ermittlung der PG- und CMC-Aktivität 100 mal verdünnt werden musste, für die Xyl-Aktivität 500 mal.

Die so verdünnten Enzymlösungen wurden dann 1 h bei 40 °C mit den Substraten inkubiert und dann 5 min bei 100 °C inaktiviert. Nach Abkühlen wurden im Autoanalyzer die reduzierenden Zucker bestimmt (nach Stephens 1974).

Die spectrometrische Bestimmung der gelösten Zucker wurde für alle Substrate mit einer Glucose-Eichlinie vorgenommen. Zur Korrektur des durch diese Eichlinie bei den nicht aus Glucose bestehenden Zuckern entstandenen Fehlers wurden zuvor auch Xylose- und Galacturonsäure-Eichlinien bestimmt und der im Spectrophotometer des Autoanalyzers erhaltene Response mittels linearer Regression auf Xylose und Galacturonsäure umgerechnet.

2.4.3 Ergebnisse

Aktivität beim Abbau des Substrates Polygalacturonsäure

Alle Ergebnisse sind in *Abb. 34 a-e* dargestellt. Von den vier getesteten Produkten besitzt lediglich die Enzymkombination Maxazym CL 2000/ Pectinex 3xL Aktivität beim Abbau von Polygalacturonsäure (GalA). Da jedoch CL 2000 allein keine Aktivität beim

Abbau von GalA besitzt, kann angenommen werden, dass diese auf das Produkt 3xL zurückzuführen sind.

Bei der niedrigeren Versuchstemperatur (20 °C) bleibt die Aktivität über den Versuchszeitraum hinweg relativ konstant, nimmt lediglich nach 96 h geringfügig ab. Ein ganz anderes Bild zeigt sich bei der höheren Temperatur (40 °C). Nach anfänglicher Aktivität in der gleichen Grössenordnung wie bei 20 °C fällt sie nach 4 h sehr schnell ab und beträgt nach 24 h nur noch ca. 10 % des Ausgangswertes. Nach 96 h reduziert sich die Aktivität sogar auf ca. 5 % des Ausgangswertes. Die Aktivität des Enzymes in der Behandlung mit Holzprobe unterscheidet sich hierbei nur unwesentlich von der Enzymbehandlung ohne Holz.

Aktivität beim Abbau des Substrates Carboxymethylcellulose

Beim Abbau dieses Substrates besitzt CL 2000 im Vergleich zu den anderen beiden Enzymen die höchste Aktivität. CT und CL/3xL erreichen hierbei Resultate in gleicher Grössenordnung.

Bei 20 °C verlieren die Enzyme über den Versuchszeitraum hinweg nur wenig an Aktivität. Bei 40 °C ist ein Aktivitätsrückgang grösser (ca. 10 %), jedoch weitaus geringer als der Aktivitätsrückgang der Enzyme beim Abbau von GalA.

Aktivität beim Abbau des Substrates Xylan

CT und CL 2000 besitzen höhere Xylanaktivitäten als die Kombination von CL/3xL. Eine Erhöhung der Behandlungstemperatur von 20 °C auf 40 °C führte bei allen Enzymen zu einem Rückgang der Enzymaktivität. Während bei den Enzymbehandlungen mit 20 °C nach 14 Tagen noch ca. 90 % der Anfangsaktivität vorhanden ist, reduziert sie sich bei der erhöhten Temperatur auf ca. 80 %.

Einfluss des Holzes auf die Aktivität

Bei allen Behandlungen liegt die Aktivität der Enzyme, welche aus den Behandlungen mit Holzproben entnommen wurde, beim Abbau der Substrate geringfügig niedriger als die der Enzyme aus den Behandlungen ohne Holz. Die Reduktion, die durch die Anwesenheit des Holzes verursacht wird, ist jedoch sehr gering. Eine mögliche Ursache für die Reduktion der Aktivität kann darin liegen, dass aus dem Holz Stoffe gelöst werden, die sich auf die Enzymaktivität negativ auswirken. Eine andere Möglichkeit ist, dass die Enzyme teilweise vom Holz absorbiert werden.

Nach 9 Tagen Versuchsdauer wurde bei den Behandlungen mit Holzproben in 20 °C in der Enzymflüssigkeit Schimmelwachstum festgestellt. Dieser verstärkte sich mit fortschreitender Versuchsdauer. Bei den Behandlungen in 40 °C trat Schimmelwachstum erst nach 12 Tagen auf. Alle Enzymflüssigkeiten ohne Holzproben waren auch noch bei Beendigung des Versuches nach 14 Tagen schimmelfrei. Dieses Schimmelwachstum hat jedoch offenbar keinen Einfluss auf die Enzymaktivität. Der Vergleich der Enzymaktivitäten "mit" und "ohne" Holz (also auch mit und ohne Schimmel) macht dieses deutlich.

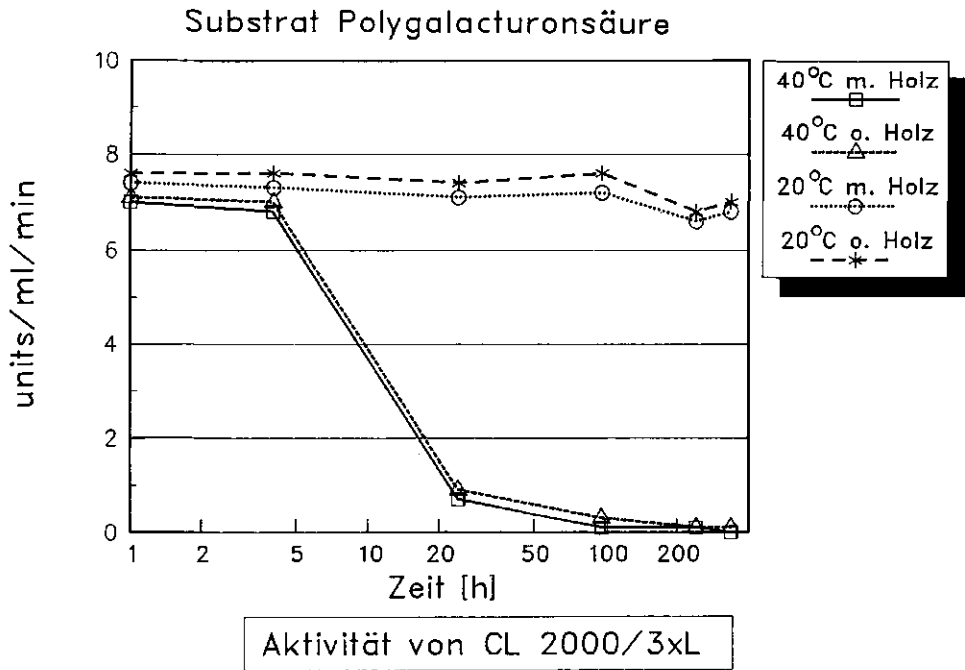
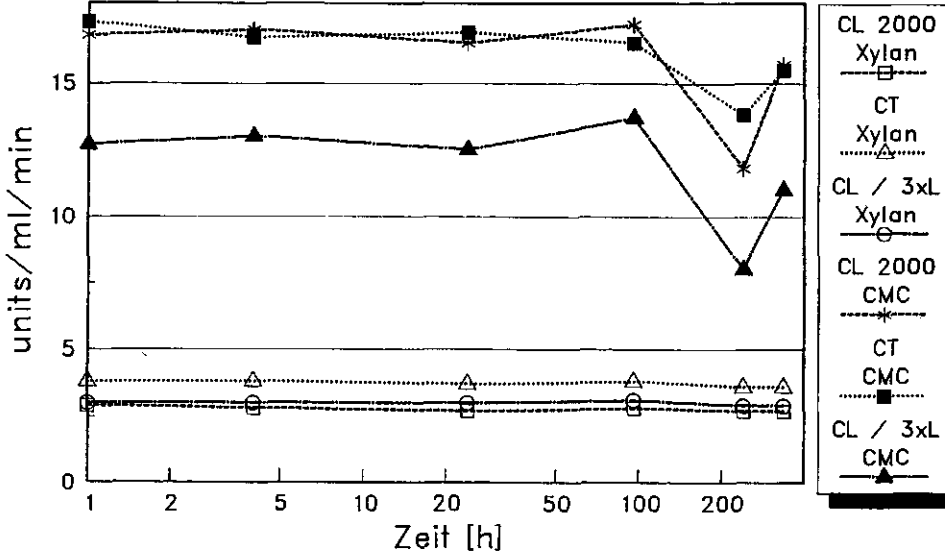


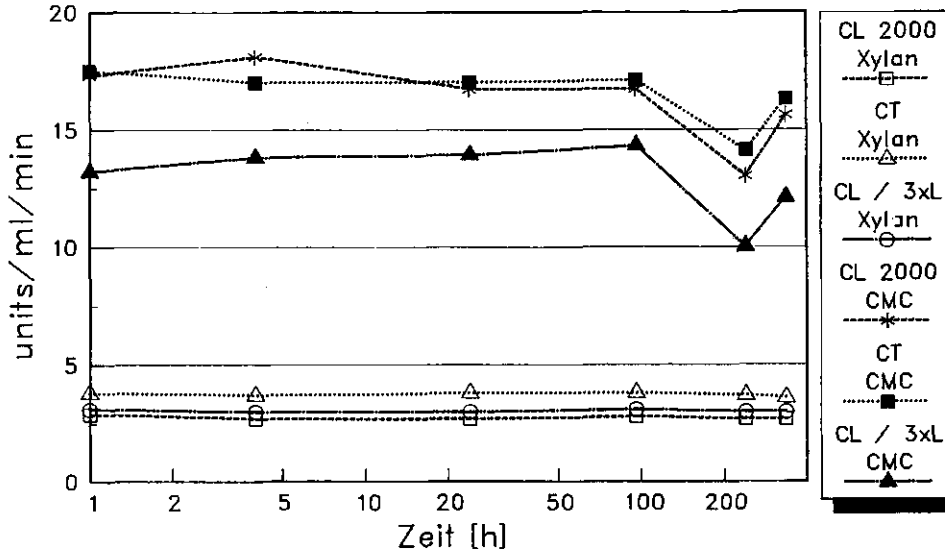
Abb. 34 a - e: Verlauf der Aktivität von Enzymen beim Abbau verschiedener Substrate bei Langzeitinkubation. Variiert wurde die Temperatur (20 °C, 40 °C) der Behandlungen mit und ohne Holzproben.

Substrate Xylan u. Carboxymethylcellulose



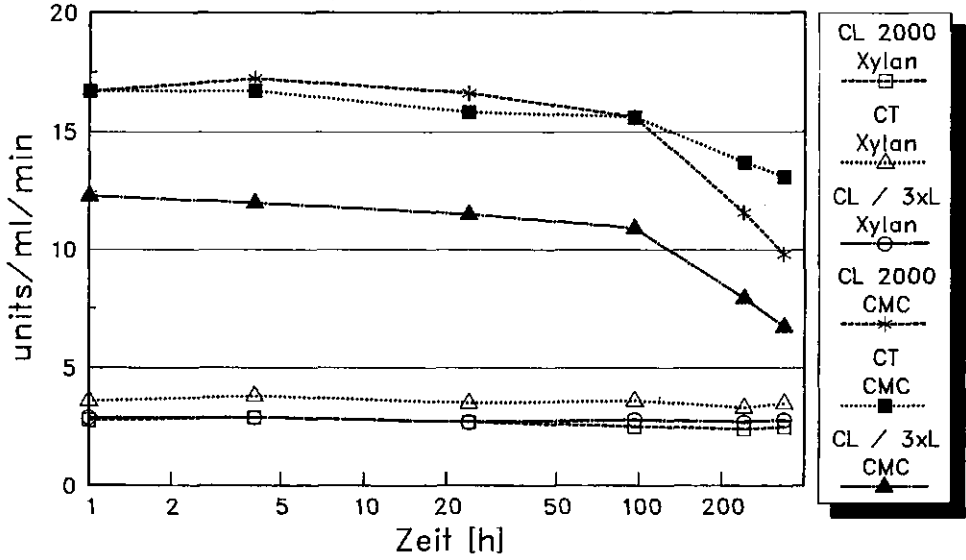
Enzymflüssigkeit mit Holz bei 20°C

Substrate Xylan u. Carboxymethylcellulose



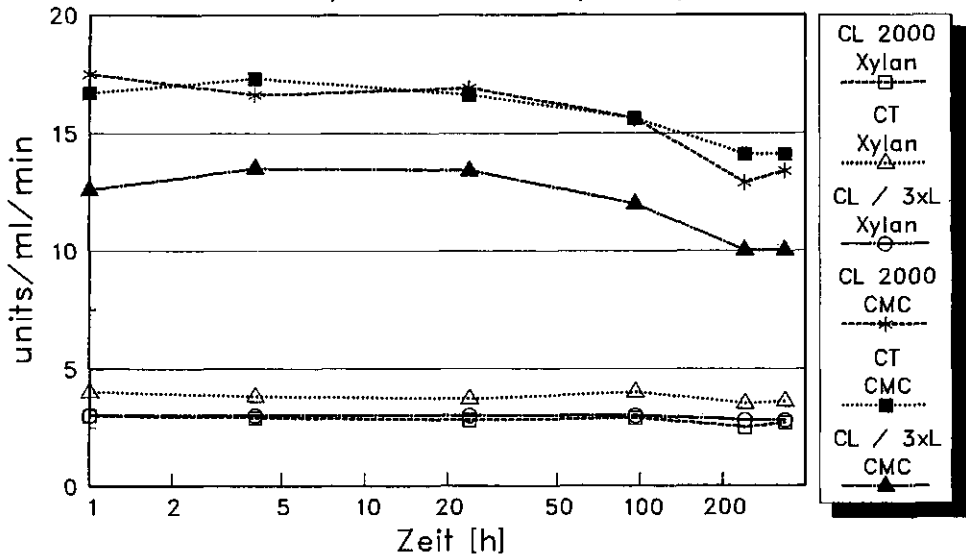
Enzymflüssigkeit ohne Holz bei 20°C

Substrate Xylan u. Carboxymethylcellulose



Enzymflüssigkeit mit Holz bei 40°C

Substrate Xylan u. Carboxymethylcellulose



Enzymflüssigkeit ohne Holz bei 40°C

3 Enzymatische Vorbehandlung von Fichtenholz

3.1 Enzymversuche mit intakten Kleinproben

3.1.1 Einleitung

An gemahlene Holzstoffe haben die Enzymflüssigkeiten keine Eindringwege zu überwinden sondern wirken in der Flüssigkeit direkt auf das Substrat. Ausserdem werden beim Mahlen des Holzes der Zellverband und die Zellwände geschädigt, wodurch den Enzymen der Angriff und Abbau der Zellwandpolymere erleichtert wird.

Beim Schnittholz dagegen ist die Struktur intakt. Durch Sägen oder Hobeln wird nur die Holzoberfläche geschädigt. Dieser Unterschied führt dazu, dass (bei Enzymversuchen mit dem Ziel des Abbaus bestimmter Zellwandstrukturen) die an Holzmehl gewonnenen Ergebnisse nur insoweit aussagekräftig sind, als sie Enzyme angeben, die sehr effektiv beim Abbau von Holzpectinen und anderen Holzpolymeren sind. Dagegen sind Kenntnisse über den Verlauf und Erfolg von Enzymbehandlungen mit dem Ziel der Veränderung des anatomischen Zellwandaufbaus intakten Holzes zur Verbesserung der Eindringung von Flüssigkeiten ins Holz auch nur an intaktem Holz zu gewinnen.

Zunächst mussten die Enzyme auf ihre Effektivität hinsichtlich der Verbesserung der Permeabilität des Holzes untersucht werden. Im weiteren mussten die Prozessvariablen, insbesondere die Enzymkonzentration, Pufferlösung, Behandlungsdauer und -temperatur optimiert werden, um das angestrebte Ziel durch kürzeste Vorbehandlung zu erreichen.

Die Durchführung dieser zur Enzymauswahl und -optimierung notwendigen Versuche an Holz mit Praxisabmessungen (Rundholz, Schnittholz) hätte zu einem nicht überschaubaren Versuchsumfang geführt. Um dennoch Erkenntnisse über die Enzymwirkung an intaktem Holz zu erhalten, wurden zunächst zahlreiche Versuche an Fichtenholz-Kleinproben (20 x 20 x 50 mm) durchgeführt. Die anhand dieser Versuchsserien erhaltenen Ergebnisse führten dann zur Auswahl gut wirkender Enzymgemische und Versuchsparameter für Versuche an Holz mit Praxisabmessungen.

3.1.2 Material und Methoden

Die Versuche mit Kleinproben wurden in verschiedene Teilversuche untergliedert. Versuchsmaterial und -methoden wurden jeweils an die zu untersuchende Fragestellung angepasst, jedoch aus Gründen der Vergleichbarkeit nicht prinzipiell geändert. In diesem Abschnitt werden deshalb die wichtigsten der angewandten Materialien und Methoden beschrieben. Abweichungen davon werden bei den Teilversuchen dargestellt.

3.1.2.1 Material

HOLZ

*** Holz aus dem Wachstumsgebiet "Oberberg" (Code H1)**

Die in den Jahren 1987, 1988 und zum Teil 1989 durchgeführten Versuche wurden mit Fichtenholz (*Picea abies* (L.) Karst) aus dem Gebiet des Forstamtes Waldbröl (Nordrhein-Westfalen, Deutschland, ca. 400 m über N.N.) durchgeführt. Die ca. 65 Jahre alten Stämme, Brusthöhendurchmesser ca. 30 cm, wurden im November 1987 gefällt, unmittelbar danach in Bohlen von 30 mm Dicke aufgetrennt und anschliessend bei 20 °C/ 60 % rel. Luftfeuchtigkeit auf Stapellatten gelagert. Die Holzfeuchtigkeit des Splintholzes vor der Trocknung betrug 120 - 150 %, die des Kernholzes 25 -35 %.

***Holz aus dem Wachstumsgebiet "Sachsenwald" (Code H2)**

Versuche im Jahre 1989 wurden z.T. mit Fichtenholz aus dem Sachsenwald (Forstamt Friedrichsruh bei Hamburg) durchgeführt. 25 cm Stammstücke wurden 2 Wochen nach dem Fällen im Februar 1989 in 25 mm dicke Bohlen gesägt und nach dem Transport unter denselben Bedingungen wie oben beschrieben aufgelattet, gelagert und getrocknet. Die Holzfeuchte vor Beginn der Trocknung betrug ca. 100 % im Splintholz und 30 % im Kernholz.

***Holz aus den Ardennen (Code H3)**

Für eine Versuchsreihe wurden bei einem Sägewerk in Langbroek/ Niederlande 30 mm dicke Holzbohlen (*Picea abies* (L.) Karst) verwendet. Dieses Holz stammte laut Aussage des Verkäufers aus den belgischen Ardennen und wurde im August 1989 gefällt, 3 Wochen später aufgetrennt und auf Latte gestapelt gelagert. Die Holzfeuchte des Splintholzes vor Trocknung betrug 60 - 80 %, die des Kerns 25 %.

***Holz aus Waldgebiet "Zwolle" (Code H4)**

Für die Versuche in 1990 wurden im Dezember 1989 frisch gefällte 30 - 35 cm dicke Stammstücke aus einem Waldgebiet nahe Zwolle/ Niederlande geholt und am folgenden Tag in 30 mm dicke Bohlen aufgetrennt. Nach dem Transport des Holzes erfolgte die Auflattung und Trocknung unter den bereits oben beschriebenen klimatischen Umständen. Die Splintfeuchte betrug ca. 180 %, die Kernfeuchte 25 - 30 %.

Das Holz aller Herkunftsgebiete wurde nach der Trocknung in Latten gesägt, die dann nach dem Hobeln in die endgültigen Probenabmessungen 20 x 20 x 50 mm unterteilt wurden. Die Codierung aller Holzproben ermöglichte eine schematische Einteilung der Proben in die verschiedenen Versuche. Diese wurde so vorgenommen, dass stets die gut zu vergleichenden, in der Stammachse hintereinanderliegenden Proben so auf die verschiedenen Versuche aufgeteilt wurden, dass eine gute Vergleichbarkeit des Ausgangsmaterials gegeben war.

ENZYME

In *Abschnitt 2.2.1.1, Tab. 7* sind alle in den nachfolgend beschriebenen Versuchen angewandten Enzymprodukte mit den vom Hersteller angegebenen Haupt- und Nebenaktivitäten aufgelistet. In der Beschreibung der Versuchsdurchführung werden dann überwiegend nur die beistehenden Abkürzungen verwendet.

PUFFER

Die Enzyme wurden in 0.1 M Pufferlösungen eingegeben, bevor die Inkubation des Holzes erfolgte. Regelmässig durchgeführte Messungen erwiesen, dass der eingestellte pH-Wert relativ konstant blieb und kein Nachstellen erforderlich war. Die folgenden Pufferlösungen wurden in den unterschiedlichen Versuchen verwendet:

Code	Puffer
P1	Citronensäure / Citratpuffer pH 5
P2	Citronensäure / Phosphatpuffer pH 5
P3	Natriumacetatpuffer pH 5

FUNGIZID

Zur Vermeidung von Pilzbefall wurde in den meisten Versuchen den Enzymlösungen ein Fungizid zugefügt. Dieses waren in den Versuchen 1987, 1988 und z.T. 1989 stets 0.1% Natriumazid (Code F1). Aus Gründen der Toxizität und Problemen beim Umgang mit diesem Stoff wurde ab 1989 0.15% Natriumbenzoat (Code F2) angewandt, was sich jedoch in dieser Konzentration als weniger gut geeignet erwies.

3.1.2.2 Methoden

Alle Enzymversuche mit Kleinproben wurden auf ähnliche Weise vorbereitet, durchgeführt und ausgewertet. Der im Schema (*Abb. 35*) abgebildete Versuchsablauf beinhaltet die folgenden Bearbeitungsgänge:

A Holzvorbereitung

Unter diesem Punkt sind alle Schritte zusammengefasst, die bis hin zur versuchsfertigen Holzprobe erforderlich waren. Hierzu gehören:

- Fällen des Baumes
- Kern- / Splintdifferenzierung an frischem Holz
- Auftrennen des Stammes in Brettholz
- Trocknung des Brettholzes
- Einteilung der Bretter in Endprobengrösse
- Probeneinteilung in Teilversuche

Die Methode der Holzvorbereitung ist bereits bei der Nennung der Materialien beschrieben worden.

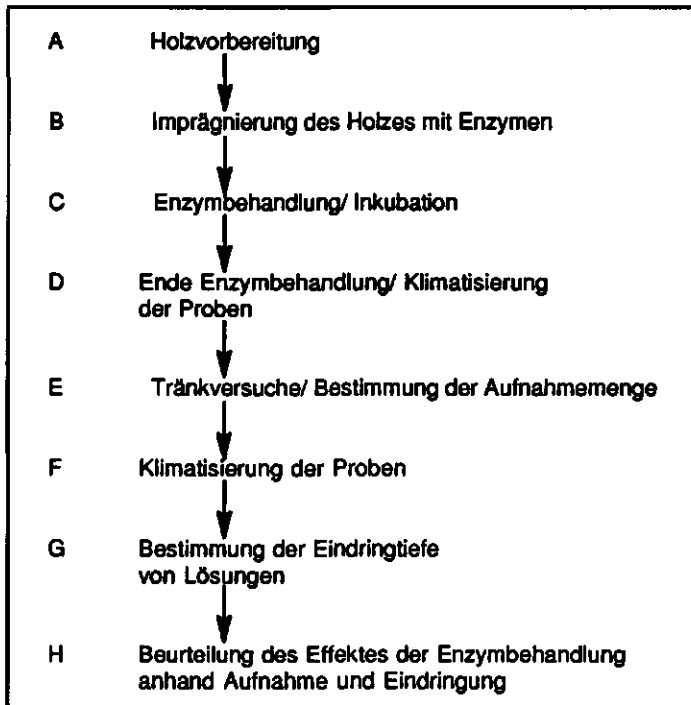


Abb. 35: Schematische Darstellung des Ablaufes aller Versuche mit intakten Fichtenholz-Kleinproben

B Imprägnierung des Holzes mit Enzymen

In den vorliegenden Versuchen sollten die auf intakte Holzstrukturen am effektivsten arbeitenden Enzyme und Versuchsparameter gefunden werden. Es wurde deshalb versucht, die Enzyme mittels eines Vacuum/Druckverfahrens in das Holz einzubringen. Dafür wurden die 20 x 20 x 50 mm grossen, unabgedichteten Holzproben in einem Becherglas, mit Abstandhaltern aus Glas getrennt und dann in einer Kesseldruckanlage imprägniert (1h Vacuum/ 1h Druck 5 bar). Dieses wurde bei einigen Versuchen während der mehrere Tage dauernden Enzymbehandlungen im Abstand von 3 Tagen wiederholt.

C Enzymbehandlung

Die Kleinproben wurden während des Versuchszeitraumes in den mit Enzymlösung gefüllten Bechergläsern um ein Auftauchen zu verhindern mit einem gläsernen Gefäss beschwert (siehe Abb. 36). Je nach Zielsetzung des Teilversuches wurden die folgenden Versuchsparameter variiert: Enzymtyp, Enzymkonzentration, Puffertyp, Behandlungstemperatur, Behandlungsdauer. Eine Nennung des angewandten Enzymtyps und der Versuchsparameter erfolgt bei der jeweiligen Versuchsbeschreibung. Während der Versuche wurden täglich Temperatur- und pH-Messungen vorgenommen. Zur Einstellung der gewünschten Behandlungstemperatur wurden die Bechergläser in Klimaschränken aufbewahrt und mit Deckeln gegen Verdunstung geschützt.

D Beendigung der Enzymbehandlung

Nach Ablauf der geplanten Behandlungsdauer wurden die Proben aus der Enzymlösung genommen, mit Wasser abgespült und zum Einstellen eines Holzfeuchtegleichgewichtes in einer Klimakammer bei 20 °C/ 60 % rel. Luftfeuchte gelagert. Diese Trocknung dauerte gemittelt 4 - 8 Wochen. Es ist nicht auszuschliessen, dass die Enzyme auch noch nach Beendigung des Versuches, also während der Trocknung, weiterhin wirkten. Als "Versuchsdauer" wird im folgenden jedoch stets die Zeitdauer der direkten Exponierung des Holzes verstanden.

E Tränkversuche/ Bestimmung der Aufnahmemenge an Flüssigkeit

Der Erfolg der Enzymbehandlung wurde anhand von Tränkversuchen ermittelt. Dabei wurden die vorbehandelten Holzproben und unbehandelte Vergleichsproben in einem Exicator unter Vacuum mit einer Farblösung imprägniert und die Flüssigkeitsaufnahme jeder Einzelprobe ermittelt. Die Ermittlung der Eindringtiefe der Farblösung erfolgte nach erneuter Probentrocknung durch Auftrennen der Proben in der Mitte (siehe **G**). Umfangreiche Vorversuche mit unbehandelten Proben ergaben, dass bei einer 15 - 30 minütigen Vacuumimprägnierung sehr geringe Aufnahmemengen und Eindringtiefen erreicht werden, wohingegen enzymatisch vorbehandelte Proben bei diesen Tränkzeiten bereits grosse Eindringtiefen aufzeigten. Zur guten Unterscheidung des Effektes der Enzymbehandlungen untereinander wurden alle Proben deshalb 10 min mit Vacuum behandelt und dann weitere 10 min in der Flüssigkeit belassen bevor die Bestimmung der Aufnahmemenge erfolgte.

Probenabdichtung: Die Enzymvorbehandlungen der kleinen Proben wurden mit unabgedichteter Hirnfläche durchgeführt, um ein optimales Eindringen der Enzyme zu ermöglichen. Für die anschliessende Tränkung der Kleinproben mit Farblösungen war eine rasche Axialeindringung des Mittels jedoch unerwünscht. Aus diesem Grunde mussten die Hirnflächen vor den Tränkversuchen mit einem geeigneten Mittel abgedichtet werden. Dieses Mittel sollte sich zum einen gut auftragen und verarbeiten lassen, zum anderen musste es in der Lage sein, der beim Tränkprozess stattfindenden Holzquellung flexibel nachzugeben, ohne zu reissen. Dazu wurden eine Reihe von Mitteln getestet. Unter den getesteten Leimen und Kunstharzen erwiesen sich folgende Produkte als gut geeignet:

Epoxidharz Acropox 78 + Härter Acrumid 480:

Dieses Harz eignet sich gut zum Abdichten noch feuchter Proben. Es besitzt den Nachteil, dass es eine Topfzeit von nur wenigen Minuten hat und deshalb sehr schnell verarbeitet werden muss. Zudem besitzt es nach dem Aushärten geringe Flexibilität und reisst bei zu grosser Quellung der Holzproben. Es eignet sich deshalb nicht gut für die Abdichtung trockenen Holzes.

PvAc-Leim mit Chromhärter (z.B. Durolok):

Dieser Leim zeigte zur Abdichtung trockener Holzproben sehr gute Eignung. Die Vorteile gegenüber den Epoxidharzen liegen in der langen Topfzeit sowie der hohen Flexibilität beim Imprägnieren. Auf feuchtes Holz kann er jedoch nicht aufgetragen werden, da er dann nicht aushärtet.

F Trocknung der Proben

Nach der Vacuumimprägnierung der Proben mit Farblösung wurde das Holz erneut getrocknet. Diese Trocknung dauerte in der Regel 2-3 Wochen.

G Bestimmung der Eindringtiefe der Farblösungen

Die Bestimmung der Eindringtiefe von Flüssigkeiten stand im Vordergrund der Beurteilungsmethoden, da mit ihr die Verbesserung der Eindringung von Holzschutzmitteln am besten beurteilt werden kann.

Wie bereits unter E aufgeführt, zeigten Vorversuche, dass nach der Vacuumtränkung eine deutliche Variation in der Flüssigkeitsaufnahme und der Eindringung zwischen den behandelten und unbehandelten Proben zu erkennen war. Als wasserlöslicher Farbstoff zur Beurteilung der Eindringtiefe wurde Rhodamine B gewählt. Spätere Versuche zeigten, dass es bei diesem Farbstoff aufgrund zu grosser Molekulargewichte in einigen Fällen zu Fehlbeurteilungen kommen kann. Aus diesem Grunde wurde bei den Versuchen in 1989 und 1990 ein wasserlösliches Holzschutzmittel (CCB-Salz, 3 % Lösung) verwendet, dessen Eindringung durch Anfärbung der Kupferkomponente mit Rubeanwasserstoff (Kottlors und Theden 1965) beurteilt wurde.

Die Beurteilung der Eindringtiefe der Flüssigkeiten (Rhodamine B bzw.CKB) erfolgte nach Auftrennen der Proben. Da aufgrund sehr unregelmässiger Eindringmuster eine Messung der Eindringtiefe in mm oder cm nicht sinnvoll erschien, wurde die Eindringung bei allen Proben anhand eines 4-stufigen Beurteilungsschlüssels vorgenommen (siehe auch Abb. 37). Die auf diese Weise für jede einzelne Probe ermittelte Eindringung wurde dann für jede Behandlung gemittelt ausgedrückt.

H Beurteilung des Effektes der Enzymbehandlung anhand der Aufnahmemenge und Eindringtiefe

Bei der Vorbehandlung intakter Holzproben wurden solche Enzyme als "wirksam" beurteilt, die die Aufnahmemenge und Eindringtiefe von Holzschutzmitteln in die behandelten Proben im Vergleich zu unvorbehandelten Proben verbessern.

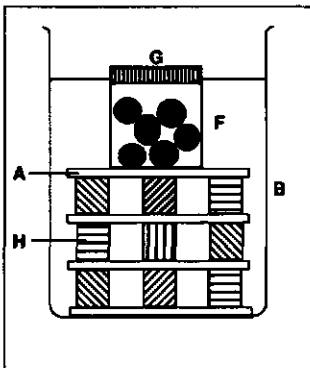


Abb. 36: Imprägnierung der Holzproben mit Flüssigkeiten

A = Abstandhalter aus Glas

B = Becherglas

F = Flüssigkeit

G = Gewichte zum Beschweren

H = Holzproben

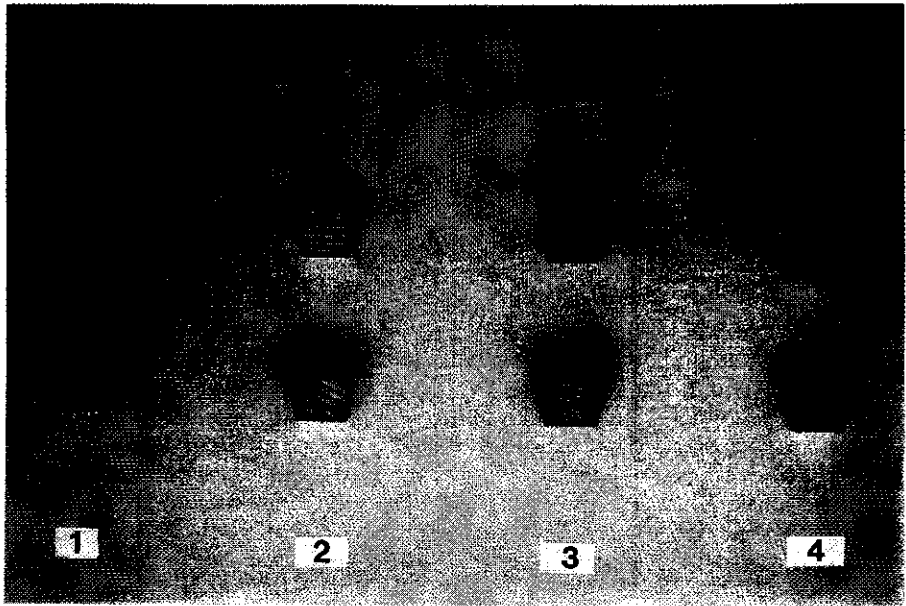


Abb. 37: Stufen bei der Beurteilung der Eindringtiefe von wässriger Farblösung (Rhodamine B) in enzymvorbehandelte und unbehandelte kleine Holzproben

Stufe 1: nur Randeindringung wahrzunehmen

Stufe 2: geringe Eindringung, etwas tiefer als Stufe 1

Stufe 3: partiell recht tiefe, jedoch sehr unregelmässige Eindringung

Stufe 4: tiefe und gleichmässige Eindringung

3.1.3 Versuchsdurchführung und Ergebnisse

3.1.3.1 Vorversuche

Kernholz / Splintholzdetectierung

Ein grosses Problem bei der Verwendung von Fichtenholz für Versuchszwecke liegt in der Gleichfarbigkeit von Kern- und Splintholz. Dieses makroskopisch und auch mikroskopisch nicht einfach zu unterscheidende Holz zeigt jedoch Verschiedenheit betreffend mancher chemischer und physikalischer Eigenschaften und sollte deshalb getrennt voneinander untersucht werden.

Eine Methode der Differenzierung von getrocknetem Fichtenkern und Fichtensplint wird von Cymorek (1980) beschrieben. Bei eigener Anwendung der von ihm genannten Reagenzien Phloroglucin (1,3,5-Trihydrobenzol)-Salzsäure an getrocknetem Fichtenholz liessen sich jedoch die zu erkennenden Farbdifferenzierungen nicht eindeutig dem Kern oder Splint zuordnen. Nur an Rundhölzern, wo der Verlauf der Kern-Splintgrenze ungefähr bekannt ist, kann mit einiger Sicherheit durch leichte Farbnuancen eine Differenzierung wahrgenommen werden. Diese Methode liess sich jedoch nicht bei Brettholz durchführen, bei dem Kern- und Splintholzanteile unbekannt sind.

Auch andere Verfahren zur Differenzierung von getrocknetem Kern- und Splintholz wurden ohne Erfolg getestet (Sandermann et al. (1967) mit Perchlorsäure und mit Phosphormolybdänsäure, Yang (1987) mit Kontrastmethode).

Aus diesem Grunde musste bei der Probennahme frisch gefälltes Fichtenholz verwendet werden. In diesem Zustand lassen sich Kern- und Splintholz noch relativ gut unterscheiden, da der Splint weitaus mehr Feuchtigkeit enthält als der Kern. Die deutliche Unterscheidung des feuchten Splintholzes gegenüber dem trockenen Kernholz ist jedoch nur kurze Zeit nach dem Fällen des Baumes und Sägen des Holzes möglich. Leicht angetrocknetes Splintholz, bei dem dieser Unterschied zum Kernholz nicht mehr gut erkennbar ist, lässt sich durch Besprühen mit einer wässrigen Bromkresollösung sehr gut differenzieren. Die Methode beruht darauf, dass das frisch gefällte Splintholz einen vom Kernholz verschiedenen pH-Wert besitzt. Bromkresolgrün wird dabei als pH-Indikator verwendet. Sie wurde bei allen Versuchen nach dem Sägen der Stämme angewandt, indem die Hirnflächen mit dem Mittel besprüht wurden.

3.1.3.2 Behandlung von Splintholz und Kernholz

Versuchsziel

In dieser Versuchsreihe sollten vor allem Erkenntnisse über die Enzymwirksamkeit bei Variation der Enzymkonzentration, der Pufferlösung und der Behandlungsdauer gewonnen werden. Zudem sollte die Wirksamkeit einiger Enzyme auf die Verbesserung der Eindringung von Holzschutzmitteln in Kern- und Splintholz verglichen werden.

Material und Methoden

Die angewandten Materialien (Holz, Enzyme etc.) sind in *Tab. 19* beschrieben. Die Versuchsdurchführung und Ergebnisermittlung erfolgte mit der in *3.1.2.2* angegebenen Methodik. Die Aufteilung der Proben auf die 5 Enzymvarianten erfolgte nach dem in *Abb. 38* gezeigten Schema.

Enzyme	Konz.	Holz	Puffer	Fung.	Temp.	Dauer
D5L DSP5 P P/CT DSP5/CA	1 % 5 %	H1: -Kern -Splint	P1 P2	F1	40 °C	7 Tg 14 Tg
* bei Kombinationen: 0.5 % + 0.5 % bzw. 2.5 % + 2.5 % * Kern: Versuche ausschliesslich mit 5% (bzw. 2.5 % + 2.5%)						

Tab. 19: Im Versuch Abschnitt 3.1.3.2 angewandte Materialien und Behandlungsparameter (nähere Beschreibung siehe 3.1.2.2)

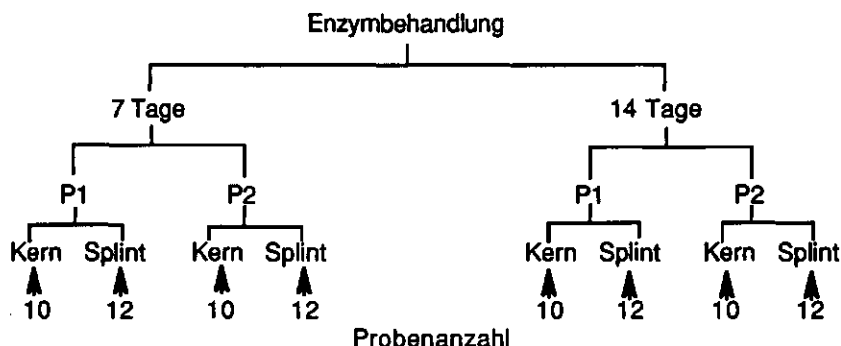


Abb. 38: Einteilung der Proben im Versuch, Abschnitt 3.1.3.2

Ergebnisse

Die Holzproben wurden nach der Enzymbehandlung im Exikator 10 min unter Vacuum mit wässrigem Farbstoff (Rhodamine B) getränkt. Die Aufnahmemengen wurden registriert. Nach Trocknung wurden die Proben in der Mitte aufgesägt und die Eindringtiefe des Farbstoffes in den Proben beurteilt (siehe *3.1.2.2 E*). Der Mittelwert der Aufnahmemengen und Eindringtiefen ist in den *Abb. 39 a-f* wiedergegeben.

ERGEBNIS SPLINTZ HOLZ

Die Enzymvorbehandlung des Splintholzes führte in fast allen Fällen zu einer erheblichen Steigerung der Flüssigkeitsaufnahme und Eindringtiefe der Mittel im Vergleich zu unbehandelten Proben.

Enzymkonzentration

Vergleicht man die Aufnahmemengen bzw. Eindringtiefen der verschiedenen Behandlungen, fällt auf, dass sich bei verschiedenen Enzymkonzentrationen (1 % bzw. 5 %) nicht bei allen Enzymen ein gleiches Bild ergibt. Bei einigen Behandlungen führen höhere Konzentrationen zur höheren Aufnahme und Eindringung, bei den meisten jedoch ergeben die Enzymbehandlungen mit der niedrigeren Konzentration ebenso gute oder sogar bessere Aufnahmewerte.

Puffer

Die Pufferlösung besitzt ebenfalls einen, wenn auch geringen, Einfluss auf die Wirksamkeit der Vorbehandlung. Nach 7 Tagen Vorbehandlung sind die meisten der in Puffer 1 und Puffer 2 suspendierten Enzyme gleich wirksam. Nach 14 Tagen Vorbehandlung sind hingegen die im Puffer 2 (Citronensäure-Phosphatpuffer) suspendierten Enzyme wirksamer.

Dauer

Bei fast allen Behandlungen werden nach 14 Tagen Enzymvorbehandlung höhere Aufnahmemengen und Eindringtiefen erzielt als nach 7 Tagen. Dies ist unabhängig von der Pufferlösung und der Konzentration. Deutlich zu erkennen ist diese Tendenz der Mittelaufnahme bei den Enzymbehandlungen mit D5L und DSP 5/CA. Andere Enzymbehandlungen (DSP 5, CT/P) sind bereits bei 7 Tagen ebenso wirksam wie bei 14 Tagen Behandlungsdauer.

Allgemein

Alle Enzymvorbehandlungen verbesserten die Aufnahme und Eindringtiefe des in Wasser gelösten Farbstoffes zum Teil erheblich. Ohne jegliche Vorbehandlung erreicht man bei den getrockneten Proben mit der angewandten 10 minütigen Vacuumtränkung geringe Aufnahmen (2-3 g) und keine Eindringung, mit den Enzymkombinationen P/CT und DSP 5/CA hingegen bei 14 tägiger Behandlung Aufnahmemengen von 6-8 g und zugleich tiefe und gleichmässige Eindringungen des Farbstoffes (Eindringklasse "4"). Die Handelsenzyme D5L und DSP 5 sind auch ohne Kombination mit einer Cellulase relativ wirksam (Aufnahme 4-6 g), wohingegen Rohament P alleine (2-4 g) nicht effektiver als die Pufferlösung ohne Enzym ist. Die Kombination von Rohament P+CT hingegen ist die wirksamste Vorbehandlung. Dieses Ergebnis deutet darauf hin, dass entweder die Kombination der beiden Produkte besonders effektiv ist, oder aber das CT eine hohe Wirksamkeit besitzt.

ERGEBNIS KERNHOLZ

Die Vorbehandlung des Kernholzes mit Enzymen führte ebenfalls zu einer Steigerung der Flüssigkeitsaufnahme und Eindringtiefe.

Enzymkonzentration

In den Versuchen mit Kernholz wurde nur eine 5 %-ige Konzentration verwendet. Eine vergleichende Betrachtung mit einer schwächeren Konzentration ist deshalb nicht möglich.

Puffer

Bei den Kernholzbehandlungen ist keine so eindeutige Tendenz wie bei den Splintholzbehandlungen zu erkennen, bei denen die in Citronensäure-Phosphatpuffer suspendierten Enzyme effektiver waren.

Dauer

Im Gegensatz zu den Splintversuchen zeichnet sich bei den Versuchen mit Kernholz deutlich ab, dass die kürzere Behandlung zu besseren Resultaten führt, als die 14-tägige Vorbehandlung. Dieses Ergebnis ist nicht nur bei den Enzymbehandlungen sondern auch bei den Kontrollbehandlungen in Pufferlösung zu erkennen. Nur bei der Wasserbehandlung ergeben sich nach längerer Behandlung höhere Aufnahmemengen als nach 7-tägiger Behandlung.

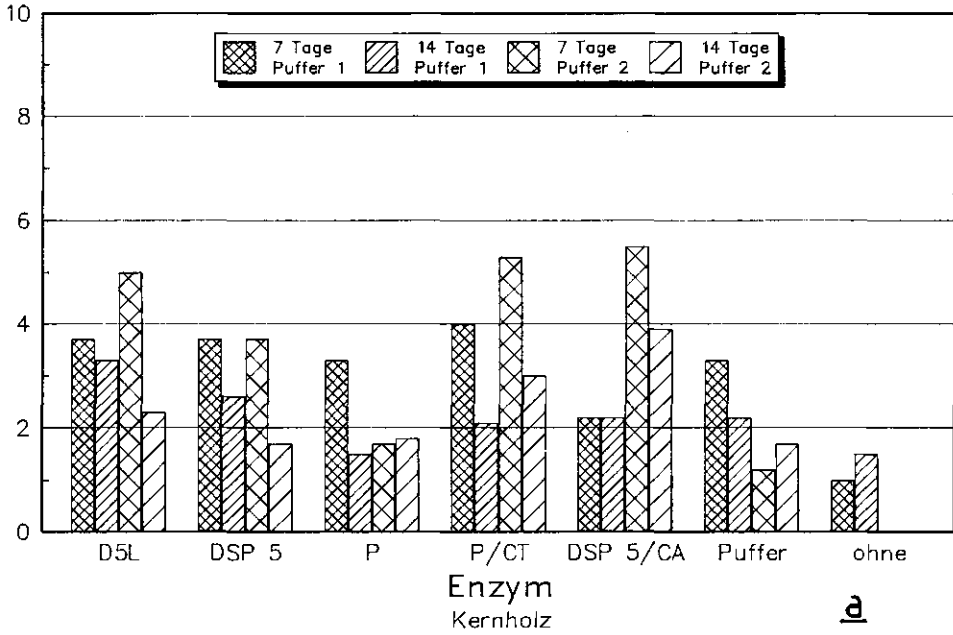
Allgemein

Auch beim Kernholz verursachen die Enzymbehandlungen im Holz eine Verbesserung der Aufnahme und Eindringtiefe von Flüssigkeiten, nicht jedoch in gleichem Masse wie beim Splintholz. Das unbehandelte Kernholz nimmt ebenfalls weniger Mittel auf als das unbehandelte Splintholz. Die besten Ergebnisse lassen sich mit einer 7-tägigen Vorbehandlung mit der Enzymkombination DSP5/CA im Citronensäure/ Phosphatpuffer erzielen. Ähnlich wirksam sind D5L sowie P/CT im gleichen Puffer.

Zusammenfassung der Ergebnisse

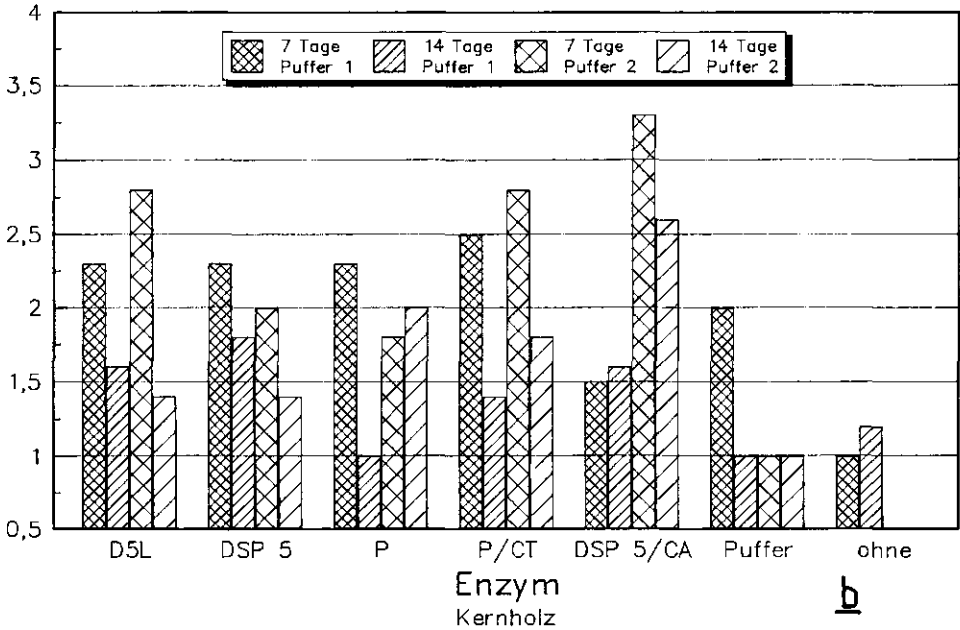
Aus den Ergebnissen dieses Versuches geht hervor, dass eine Vorbehandlung von Fichtensplint- und -kernholz mit Enzymen zu einer erheblichen Verbesserung der Aufnahme und Eindringung von wässrigen Lösungen führte. Besonders erfolgreich war eine 14-tägige Vorbehandlung mit 1 % CA/DSP 5 oder P/CT bzw. D5L. Bei Kernholz hingegen war eine 7-tägige Vorbehandlung effektiver als die 2 wöchige Behandlung. Alle 3 Produkte waren im Citronensäure/ Phosphatpuffer effektiver als im Citronensäure/ Citratpuffer. Eine Steigerung der Enzymkonzentration von 1 % auf 5 % erbrachte beim Kernholz und auch beim Splintholz keine weitere Verbesserung der Flüssigkeitsaufnahme und -eindringung.

Aufnahme [g]



a

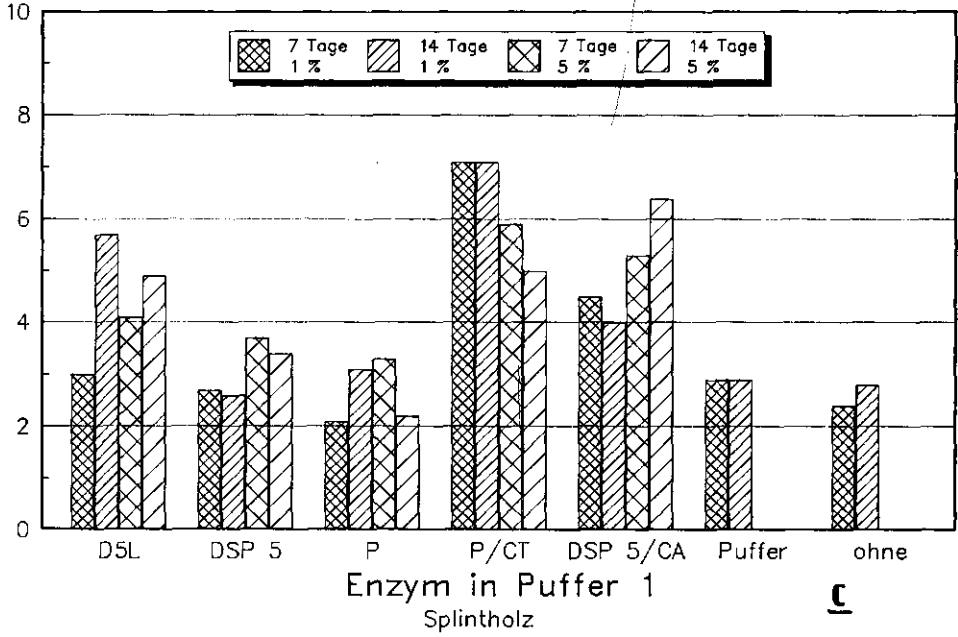
Eindringklasse



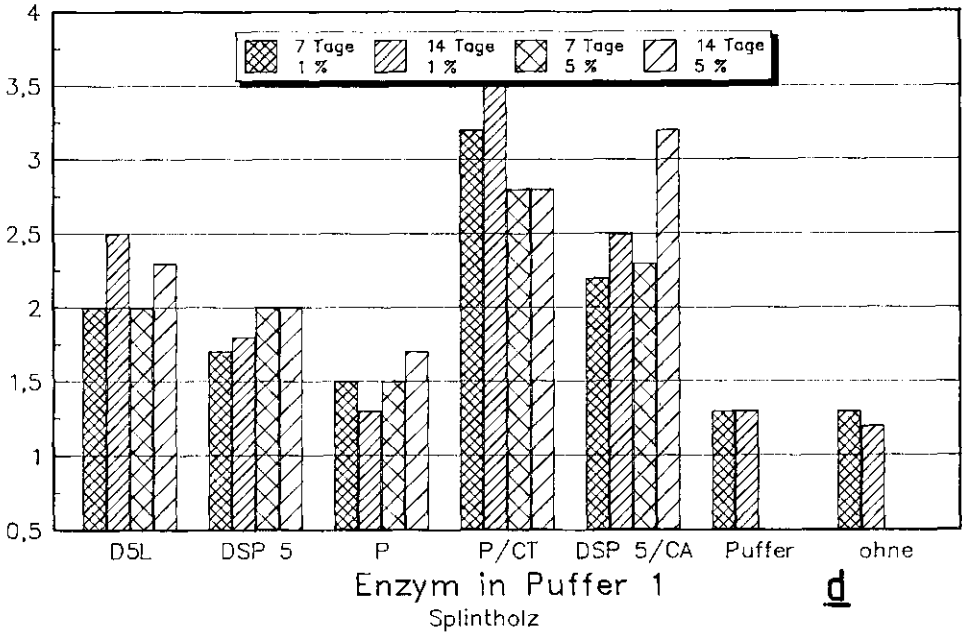
b

Abb. 39 a-f: Aufnahmemengen [g] und Eindringtiefen von Flüssigkeit bei Vacuumtränkung (10 min Vac/ 10 min in Flüssigkeit) enzymbehandelten und unbehandelten Splint- und Kernholzes. Die Eindringung wurde anhand der unter 3.1.2*G* beschriebenen Methodik beurteilt .

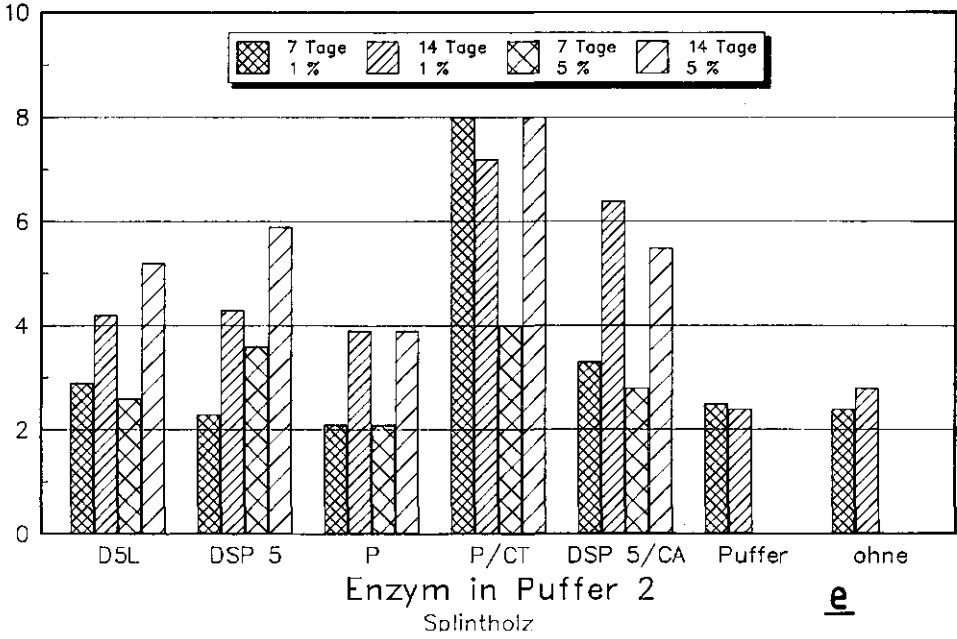
Aufnahme [g]



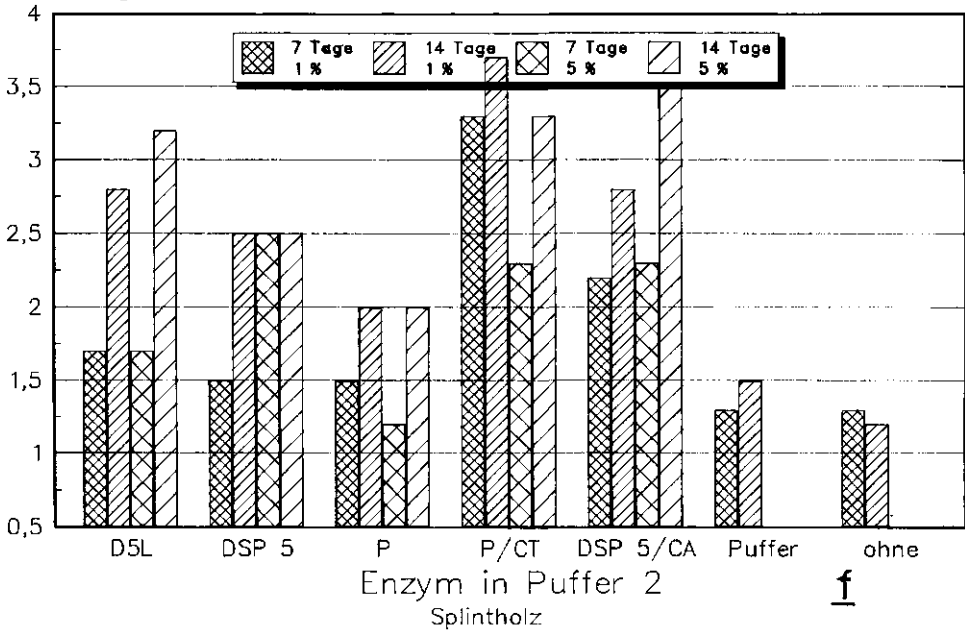
Eindringklasse



Aufnahme [g]



Eindringklasse



3.1.3.3 Behandlung mit Cellulasen und Pectinasen

Versuchsziel:

In diesem Abschnitt wurden Handelsenzyme verwendet, die im vorherigen Versuch nicht untersucht wurden.

Material und Methoden:

Die im Versuch verwendeten Materialien sind in *Tab. 20* aufgeführt. Eine nähere Beschreibung der Methodik bei der Versuchsdurchführung und Ergebnisermittlung ist *Abschnitt 3.1.2* zu entnehmen.

Enzyme	Konz.	Holz	Puffer	Fung.	Temp.	Dauer
7069/DSP5	2 %	H1:	P2	F1	40 °C	9 Tg
7069/D5L	*	-Kern				
CA/DSP5		-Splint				
CA/D5L		je 10 Proben				
CT/DSP5						
CT/D5L						
C80/CA						
C80/DSP5						
C80						

* bei allen Kombinationen: 1 % + 1 %

Tab. 20: Im Versuch Abschnitt 3.1.3.3 angewandte Materialien und Behandlungsparameter. Eine nähere Beschreibung des Materials und der Methodik ist Abschnitt 3.1.2 zu entnehmen.

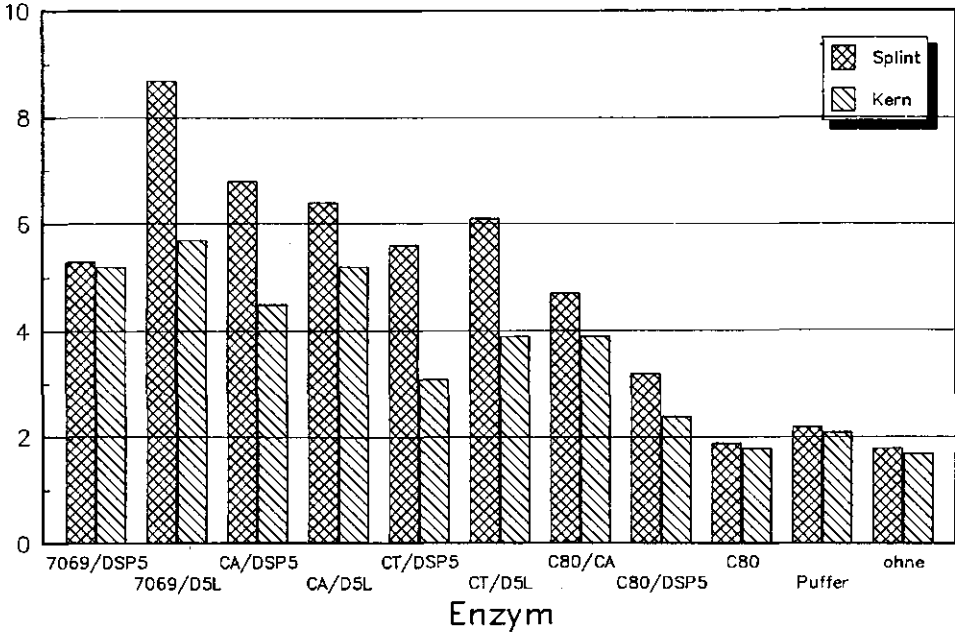
Ergebnisse:

In *Abb. 40 a u. b* sind die Aufnahmemengen und Eindringtiefen von enzymbehandelten und unbehandelten Holzproben dargestellt.

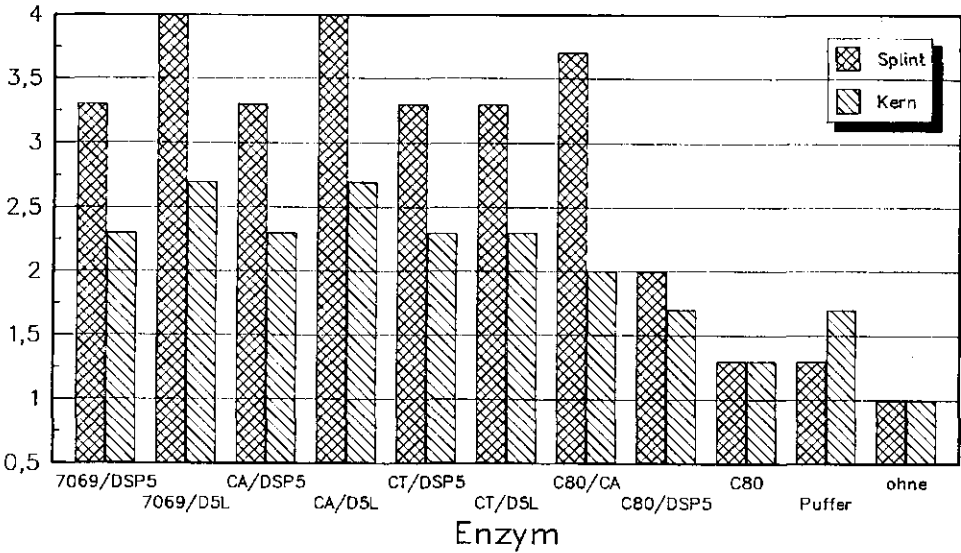
Beide nach der Vacuumtränkung aufgenommenen Parameter, die Menge an Farblösung sowie deren Eindringung im Holz, weisen darauf hin, dass eine Enzymvorbehandlung von getrockneten Kleinproben zu einer Verbesserung der Flüssigkeitsaufnahme führt. Dies gilt vor allem für Splintholz und in geringerer Größenordnung auch für Kernholz.

Am effektivsten sind die Kombinationen von 7069, CA und CT mit DSP5 und D5L, wobei vor allem 7069/D5L und CA/D5L mit einer Verbesserung der Flüssigkeitsaufnahme von 200 - 400 % im Vergleich zu den unvorbehandelten Kontrollproben am wirksamsten sind. Dagegen zeigt C80 alleine und auch in Kombination mit anderen Enzymen nur geringe Wirksamkeit. Auch der Citronensäure-Phosphatpuffer, ohne Enzymbeigabe, verbessert das Imprägnierergebnis nur gering (ca. 10 - 20 %).

Aufnahme [g]



Eindringklasse



Beurteilung der Eindringtiefe in "Eindringklassen": 1=schlechte... 4=sehr gute Eindringung

Abb. 40 a u. b: Aufnahmemengen und Eindringtiefen wässriger Farblösung in enzymbehandelte und unbehandelte Splint- und Kernholzproben. Die Eindringtiefe wurde anhand der unter 3.1.2.2 "G" beschriebenen Methodik beurteilt.

3.1.3.4 Wiederverwendung von Enzymen

Versuchsziel:

Dieser Versuch sollte zeigen, ob die Wirksamkeit der Enzyme durch den Gebrauch im vorherigen Versuch verringert wird.

Material und Methoden:

Kleinproben wurden in Enzyme eingebracht, die im vorherigen Versuch (3.1.3.3) bereits ca. 10 Tage bei 40 °C verwendet wurden. Die Enzymlösungen wurden hierbei nicht, wie im vorherigen Versuch, durch ein Vacuumverfahren eingebracht, sondern lediglich in den Enzymlösungen untergetaucht gelagert. Auch während des Behandlungszeitraumes erfolgte keine Vacuumbehandlung. Die Enzyme werden durch diese Behandlung nicht in die Proben hineingedrückt, sondern müssen sich selbst von aussen den Weg ins Holz bahnen. Die Behandlungsdauer betrug 9 Tage bei 40 °C.

Ergebnisse:

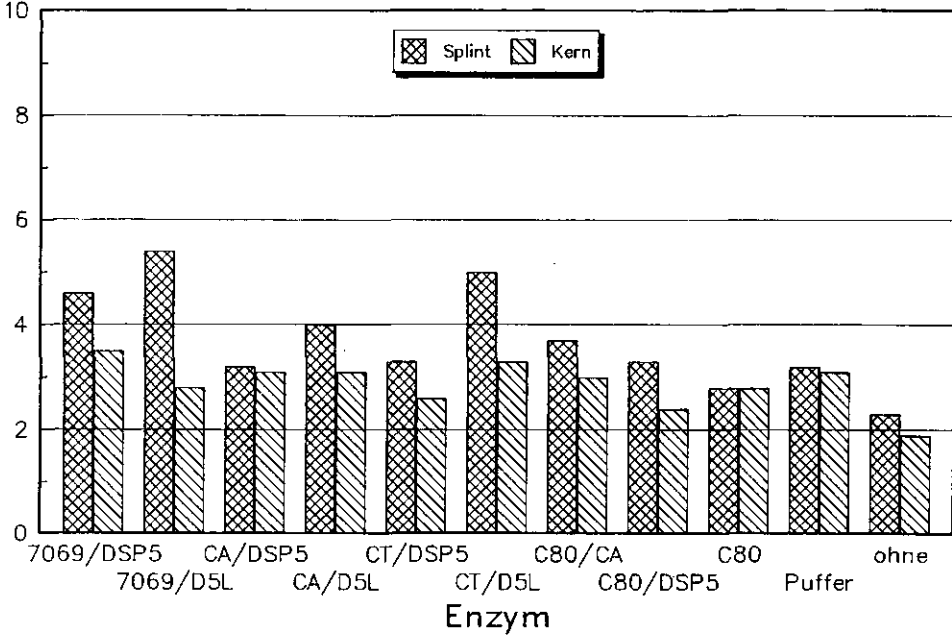
Die Aufnahmemengen an Farbstoffflüssigkeit sowie deren Eindringtiefe ins Holz sind in den *Abb. 41a u. b* dargestellt. Trotz der Verwendung von bereits gebrauchten Enzymlösungen und der Lagerung des Holzes in den Lösungen ohne unterstützende Vacuumtränkung erreichen die meisten Enzyme eine Verbesserung in der Aufnahme und Eindringung der Farbstofflösung ins Holz. Diese Verbesserung fällt jedoch im Vergleich mit dem vorherigen Versuch deutlich geringer aus. Dies kann zum einen an einer verminderten Enzymaktivität (durch Lagerung bei 40 °C) liegen, zum anderen kann die geringere Wirksamkeit jedoch auch darauf beruhen, dass die Enzyme nicht mit Vacuum tief in die Proben eingebracht wurden, sondern lediglich in die Enzymflüssigkeiten getaucht wurden. Eine Unterscheidung in "wirksame" und "weniger wirksame" Enzyme kann anhand dieser Versuchsreihe aufgrund der geringen Unterschiede im Ergebnis nicht getroffen werden.

3.1.3.5 Einfluss von Detergentien auf die Wirksamkeit der Enzymbehandlung

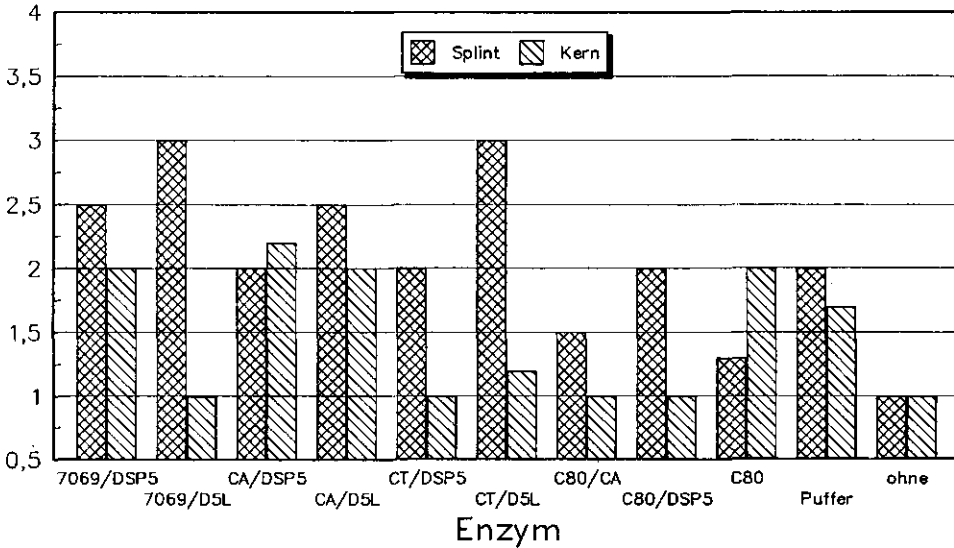
Versuchsziel:

Die Eindringung von Flüssigkeiten ins Holz lässt sich in manchen Fällen durch eine Verringerung der Oberflächenspannung der Flüssigkeit verbessern. Im Handel sind Mittel erhältlich, die die Oberflächenspannung von Flüssigkeiten verringern. Mittel mit niedriger Grenzflächenspannung dringen unter Umständen leichter ins Holz ein (Bauch u. Liese 1966). Es war deshalb zu erwarten, dass auch Enzymflüssigkeiten mit einer verringerten Oberflächenspannung tiefer ins Holz eindringen würden. In dieser Versuchsreihe sollte untersucht werden, ob eine verbesserte Eindringung der Enzymlösungen ins Holz den Erfolg der anschliessenden Vacuumimprägnierung mit Holzschutzmitteln vergrössert. Dazu wurden Mittel, die in der Lage sind, die Oberflächenspannung von Flüssigkeiten zu verringern, mit Enzymen kombiniert und dann ins Holz eingebracht.

Aufnahme [g]



Eindringklasse



Beurteilung der Eindringtiefe in "Eindringklassen": 1=schlechte... 4=sehr gute Eindringung

Abb. 41 a u. b: Aufnahme [g] und Eindringtiefe von Farblösung in enzymbehandeltes und unbehandeltes Kernholz und Splintholz. Die Eindringtiefe wurde anhand der in 3.1.2.2 "G" beschriebenen Methodik bewertet.

Material und Methoden:

Die im Versuch angewandten Materialien sind in *Tab. 21* aufgeführt. Eine nähere Beschreibung der Methodik bei der Versuchsdurchführung und Ergebnisermittlung ist *Abschnitt 3.1.2.2* zu entnehmen.

Enzyme	Zusatz	Holz	Puffer	Fung.	Temp.	Dauer
CA/D5L	Tween 80 Tween 20 Brij 35	H1: -Kern -Splint je 5 Proben	P1	F1	40 °C	9 Tg
P/CT	Tween 80 Tween 20 Brij 35					
D5L	Tween 80 Tween 20					
CA/D5L						
* die Enzymkonzentration betrug 1 % + 1 %						
* die Konzentration des Zusatzes stets 2 %, bezogen auf die Flüssigkeit						

Tab. 21: Angewandte Materialien und Behandlungsparameter (Versuch Abschnitt 3.1.3.5). Eine nähere Beschreibung des Materials und der Methodik ist Abschnitt 3.1.2.2 zu entnehmen.

Enzyme	Zusatz	gemittelte Eindringklasse	
		Splintholz	Kernholz
CA/D5L	Tween 80	2.5	2
	Tween 20	2.8	2
	Brij 35	3.5	3
P/CT	Tween 80	3.0	2
	Tween 20	2.3	2
	Brij 35	3.8	2
D5L	Tween 80	2.0	2
	Tween 20	2.5	2
CA/D5L	ohne	3.3	2
Kontrolle		1.3	1

Tab. 22: Eindringung von wässrigem Rhodamine B in enzymbehandelte und unbehandelte Splint- und Kernholzproben. Die Eindringtiefe wurde anhand der unter 3.1.2.2 "G" beschriebenen Methodik beurteilt.

Ergebnisse:

Bei diesem Versuch wurde ausschliesslich die Eindringtiefe der Farbstofflösung ausgewertet. Die Ergebnisse dieser Beurteilung sind in *Tab. 22* aufgezeigt. Die Resultate zeigen, dass sich die Eindringung des Farbstoffes durch die Enzymvorbehandlung im Vergleich zum unbehandelten Holz deutlich verbessert. Vergleicht man jedoch die Ergebnisse der Behandlungen mit und ohne die Detergentien, dann muss man zu dem Schluss kommen, dass diese Mittel die Wirksamkeit negativ beeinflussen. Nur Brij 35 verschlechtert die Wirksamkeit nicht, sondern führt zu einer geringfügig verbesserten Eindringung des Farbstoffes im Vergleich zur Behandlung ohne Brij 35. Die schlechtere Wirksamkeit der Enzyme bei Zufügung der oberflächenaktiven Mittel liegt darin begründet, dass die negativ anionischen Detergentien einige Enzymaktivitäten (z. B. Pectinesterase) inaktivieren können (Fry 1988).

3.1.3.6 Abbau von Zellwandpolymeren und Eindringung von Flüssigkeiten

Versuchsziel:

Dieser Versuch wurde mit unterschiedlichen Fragestellungen begonnen und steht im Zusammenhang mit den Analysen des *Abschnittes 2.3*. Die an Holzmehl wirksamsten Enzyme beim Herauslösen von Zellwandpolymeren sollten hier an Kleinproben getestet werden, um zu erkennen, ob sich durch die Andersartigkeit des Substrates (intakte Holzproben anstelle von Holzmehl) auch Unterschiede in der Wirksamkeit ergeben.

Gleichzeitig wurden während der Versuche den Enzymbehandlungen regelmässig Flüssigkeitsproben entnommen, die dann auf Pectin- und Gesamtzuckergehalt analysiert wurden. Diese Daten gaben dann Aufschluss darüber, ob ein Zusammenhang besteht zwischen der Enzymwirksamkeit an Kleinproben und der aus dem Holzverband gelösten Menge Pectine und Cellulose. Eine Beschreibung der analytischen Versuchsteile erfolgte an anderer Stelle (2.3). In diesem Teil werden ausschliesslich die Ergebnisse der Tränkversuche mit den vorbehandelten Proben dargestellt.

Material und Methoden:

Die im Versuch angewandten Materialien sind in *Tab. 23* aufgeführt. Eine nähere Beschreibung der Methodik bei der Versuchsdurchführung und Ergebnisermittlung ist *Abschnitt 3.1.2.2* zu entnehmen. Für diese Versuche wurden Enzyme ausgewählt, die in den analytischen Versuchen mit Holzmehl (*Abschnitt 2.2.2*) besonders wirksam waren.

Enzyme	Konz.	Puffer	Holz	Temp.	Dauer
CL CT 3xL CL/3xL 7069	1 %	P3	H3	35 °C	11 Tg

Tab. 23: Angewandte Materialien und Behandlungsparameter (Versuch Abschnitt 3.1.3.6)

Ergebnisse:

Die Proben haben in allen Behandlungen während der Versuche ca. 5 g an Enzymflüssigkeit bzw. Pufferlösung aufgenommen, was einer Holzfeuchtezunahme gemittelt von ca. 50 % entspricht. Diese Zunahme war in allen Behandlungen gleich gross; ein Unterschied je Enzymtyp konnte nicht erkannt werden (siehe Abb. 42).

Nach Beendigung der Enzymvorbehandlung wurden die Proben getrocknet, dann im Vacuumverfahren mit Holzschutzmittel (CCB-Salz, 5 %) getränkt, erneut getrocknet und dann wurde die Eindringtiefe des Mittels bewertet. Die Ergebnisse lassen den folgenden Schluss zu:

CL 2000, CT sowie CL/3xL verbesserten die Aufnahme von Schutzmitteln um mehr als 100 % im Vergleich zum unbehandelten Holz. Alle anderen Behandlungen verbesserten die Aufnahme nicht.

Bei der Analyse der bei dieser Behandlung aus dem Holz herausgelösten Zuckerbausteine (siehe Abschnitt 2.3) zeigte sich, dass die Enzyme CT, CL 2000 und CL/3xL am meisten Uronsäure aus den intakten Proben lösten. Dieses Ergebnis stimmt mit dem hier erreichten Tränkeresultat gut überein. Es ist daher zu folgern, dass ein Zusammenhang zwischen enzymatischem Abbau von Zellwandpolymeren und der verbesserten Tränkbarkeit von Holz besteht.

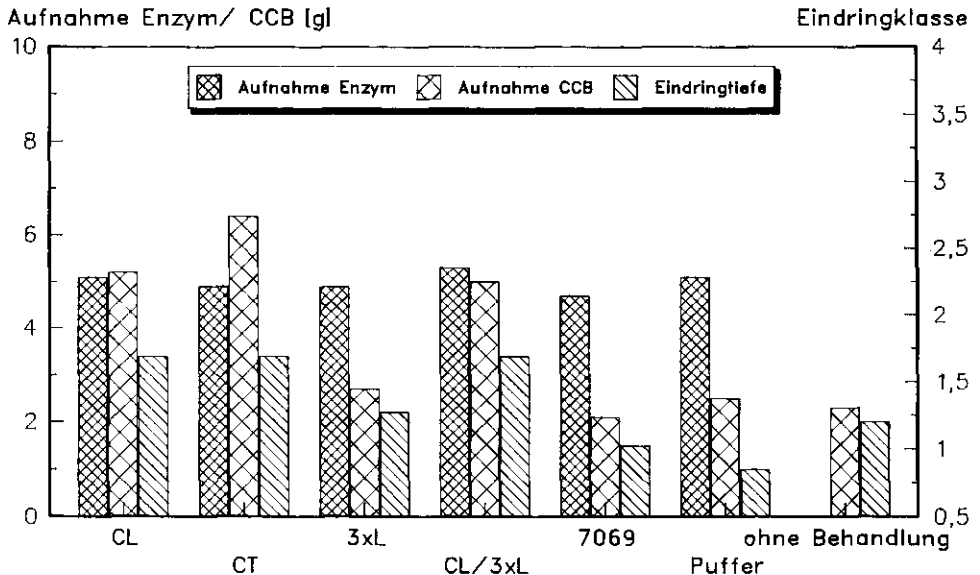


Abb. 42: Gemittelte Aufnahme der Holzproben an a) Enzymflüssigkeit während der Enzymbehandlung, b) an Holzschutzmittel nach Enzymbehandlung sowie c) Eindringtiefe des Holzschutzmittels. Die Eindringtiefe wurde mit der in 3.1.2.2 "G" beschriebenen Methode beurteilt.

Bei der Wertung dieses Tränkresultates muss allerdings beachtet werden, dass die erreichte Eindringtiefe des Holzschutzmittels in diesem Versuch geringer war als die durch einige andere Enzymprodukte in vorherigen Versuchen erreichte (vgl. *Abschnitte 3.1.3.2 - 3.1.3.5*). Ein direkter Vergleich der verschiedenen Versuchsreihen ist jedoch nicht sinnvoll, da in jedem Versuch Holz mit anderer Herkunft und veränderte Versuchsbedingungen angewandt wurden. Zum direkten Vergleich der in den verschiedenen Versuchen erfolgreichen Enzymprodukte war somit eine weitere Versuchsreihe notwendig.

3.1.3.7 Behandlung mit an Holzmehl effektiven Enzymen

Versuchsziel:

Bei den analytischen Versuchen mit auf Holzmehl einwirkenden Enzymen (siehe *Abschnitt 2.2.2*) zeigten sich einige der getesteten Produkte weitaus effektiver als andere. Die Wirkung dieser effektiven Enzyme war bisher noch nicht an Kleinproben untersucht und wurde in den vorliegenden Versuchsreihen nachgeholt. Ausserdem sollten die Enzyme, die in den bisherigen Versuchsreihen gute Resultate erzielt hatten, zum besseren Vergleich zusammen getestet werden.

Material und Methoden:

Die im Versuch angewandten Materialien sind in *Tab. 24* aufgeführt. Die in diesem Versuch verwendeten Enzymlösungen wurden ca. 14 Tage vor Behandlungsbeginn angesetzt und bis zum Versuchsbeginn bei ca. 5 °C gelagert.

Enzyme	Konz.	Puffer	Holz	Temp.	Dauer
CT CL CT/3xL CL/3xL 7069/3xL CA/DSP5 AFP/7069 7069/D5L CA/D5L P/CT	1 %	P3	H1: -Splint	25 °C	7 Tg
CA/DSP5 CL CT 7069/3xL		P2			

Tab. 24: Im Versuch Abschnitt 3.1.3.7 angewandte Materialien und Behandlungsparameter. Eine nähere Beschreibung des Materials und der Methode ist Abschnitt 3.1.2 zu entnehmen.

Ergebnisse:

Die gemittelte Aufnahmemenge sowie Eindringtiefe der Farblösung wird in den *Abb. 43 a u. b* wiedergegeben. Abweichend von bisherigen Versuchen wurden, anstelle einer 10-minütigen Vacuumbehandlung mit anschliessender 10-minütiger Lagerung der Proben in der Farblösung, zwei andere Tränkverfahren ausprobiert. Zum einen

wurden die Proben 30 min mit Vacuum behandelt und 5 min in der Flüssigkeit belassen. Nach anschliessender Beurteilung der Eindringtiefe wurden die Proben erneut abgedichtet, in einer Druckbehandlung (1.5 h mit 3 bar) imprägniert und abschliessend die Eindringtiefe erneut beurteilt.

Ein Vergleich der behandelten Proben und der unbehandelten Vergleichsproben bekräftigt den Effekt einer Vorbehandlung erneut. Eine Steigerung der Aufnahme und Eindringung ist dabei vor allem mit den Produkten AFP/7069, CA/D5L, 7069/D5L, CA/DSP5 und 7069/3xL zu erzielen, wobei die ersten 4 Produkte im Natriumacetatpuffer effektiver sind als im Citrat-Phosphatpuffer. Dagegen sind die bei den analytischen Versuchen mit Holzmehl so erfolgreichen Produkte CT und CL in diesem Versuch mit Kleinproben den anderen Enzymen nicht überlegen.

Bei der Bewertung dieser Ergebnisse muss berücksichtigt werden, dass in diesem Versuch Holz mit anderer Herkunft als in den vorherigen verwendet wurde. Was den direkten Vergleich mit den bisherigen Versuchen zusätzlich erschwert ist die Einbringungsmethode des Farbstoffes in die Proben, die nach anderer Verfahrensweise als bisher ausgeführt wurde. Eine Beurteilung des Ergebnisses sollte sich aus diesen Gründen auf die in diesem Versuch erhaltenen Resultate beschränken. Der direkte Vergleich der Eindringtiefen und Aufnahmemengen mit den in anderen Versuchen erhaltenen Werten erscheint nicht sinnvoll.

Bei der Bewertung der Ergebnisse dieses Versuches muss jedoch hervorgehoben werden, dass der Erfolg bei der Verbesserung der Eindringtiefe mit einer Temperatur der Enzymbehandlung von 25 °C erreicht wurde. Bisherige Versuche wurde stets bei 40 °C durchgeführt.

3.1.3.8 Zusammenfassung der Ergebnisse der Enzymversuche mit intakten Kleinproben

Bei allen Versuchsreihen mit Kleinproben erwies sich, dass eine Enzymvorbehandlung von getrocknetem Fichtenholz zu einer Steigerung der Aufnahme und Eindringtiefe von Holzschutzmitteln führt.

Die oben beschriebenen Versuchsreihen mit Kleinproben wurden zu unterschiedlichen Zeitpunkten, mit unterschiedlicher Zielsetzung und abgewandelten Material und Methoden durchgeführt. Es ist deshalb kein direkter Vergleich der Ergebnisse der Versuchsreihen untereinander möglich, wohl aber ein Vergleich der verschiedenen, innerhalb einer Versuchsreihe getesteten Enzyme. Die in unterschiedlichen Versuchsreihen effektivsten Enzyme wurden deshalb stets in anderen Versuchen miteinander vergleichend untersucht.

Enzyme

Dass angestrebte Ziel -die Verbesserung der Aufnahme und Eindringung von Holzschutzmitteln- wurde von einigen Enzymen erreicht. Am wirksamsten waren hierbei die im folgenden aufgelisteten Enzymkombinationen, während eine Reihe anderer Enzyme weitaus weniger wirksam war oder sogar keine Verbesserung brachte.

Rohament 7069	/	Rohament D5L
Rohament 7069	/	Pectinex 3xL
Rohament 7069	/	Ultra AFP
RohamentCA	/	Rohament D5L
Rohament CA	/	Rohament DSP5
Rohament CT	/	Pectinex 3xL
Rohament CT	/	Rohament P

Wirksamkeit bei Kernholz/ Splintholz

Alle getesteten Enzyme und Enzymkombinationen schufen eine Steigerung der Aufnahme und Eindringtiefe von Holzschutzmitteln, vor allem im Splintholz. Das Kernholz wurde durch die Enzymbehandlungen auch, jedoch nur in geringerem Ausmass aufnahmefähiger. Dieses Ergebnis scheint den Resultaten der Versuche an Holzmehl (siehe *Abschnitt 2.2.2*) zu widersprechen, in denen die Pectine und andere Zellwandpolysaccharide im Kernholz ebenso stark abgebaut wurden wie im Splintholz. In der Diskussion der Versuche (*Kapitel 6*) wird auf diesen Widerspruch eingegangen.

Behandlungstemperatur

In den hier beschriebenen Versuchen mit Kleinproben zeigte sich, dass die Enzymbehandlung bei 25 °C die Schutzmittelaufnahme ebenso wirksam verbessert wie die Behandlung bei 40 °C. Auch dieses scheint den Versuchen mit Holzmehl zu widersprechen und wird in der Diskussion der Ergebnisse näher besprochen. Versuche mit anderen Temperaturen als den hier genannten, wurden an Kleinproben nicht durchgeführt. Es ist jedoch anzunehmen, dass eine Erhöhung der Temperatur über 40 °C zu einer verstärkten Denaturierung der Enzyme führen würde, die wiederum bei den zur Holzvorbehandlung benötigten langen Behandlungszeiten von einigen Tagen zu einer Verringerung der Effektivität führte. Eine Erniedrigung der Temperatur unter 20 °C würde zwar die kurzfristige Enzymaktivität mindern. Da jedoch auch die Denaturierungsprozesse verlangsamt stattfänden, könnte die Effektivität der Enzymbehandlung eventuell auch zu einer guten Verbesserung der Aufnahme und Eindringung führen. Eine eindeutige Aussage darüber wäre jedoch erst nach weiteren Versuchen möglich.

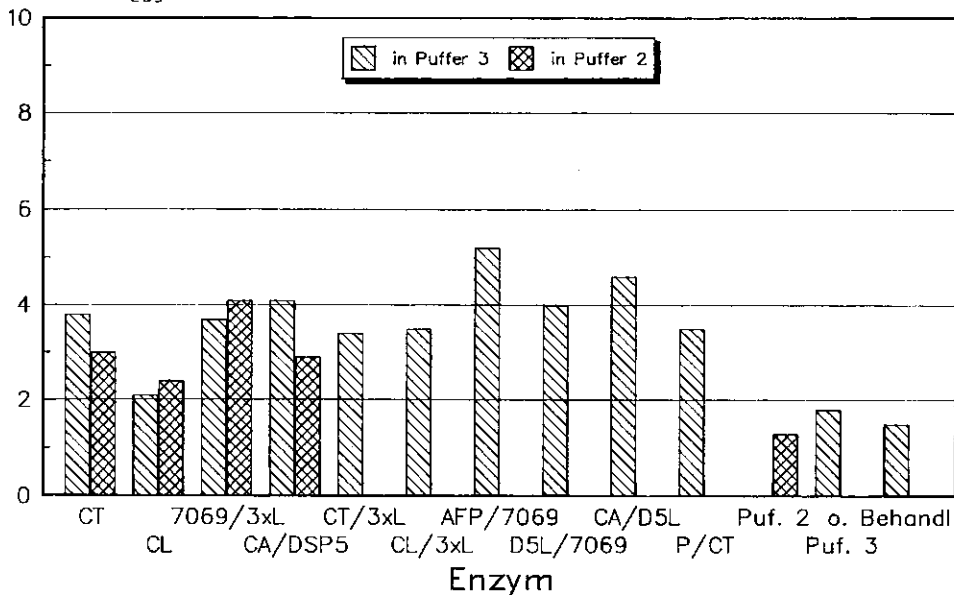
Enzymkonzentration

In den vorliegenden Versuchen wurden lediglich 1 % und 5 % Enzymkonzentration angewandt. Die Reduktion von 5 % auf 1 % veränderte die Wirksamkeit der Behandlung nur geringfügig. Eine Konzentration von < 1 % wurde in den Versuchen nicht verwendet, erscheint aber wegen der Resultate der Versuche mit Holzmehl untersuchenswert.

Puffertlösung

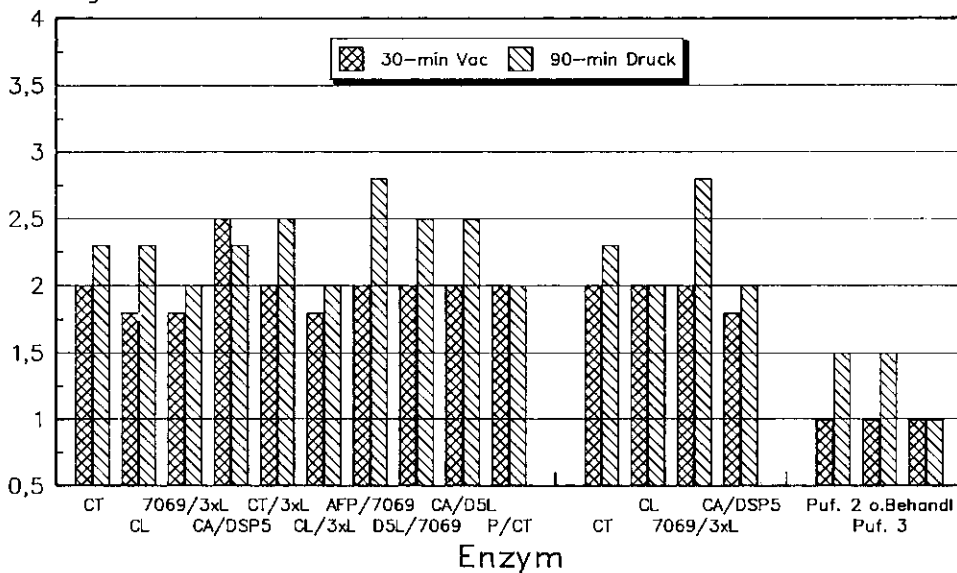
Ein eindeutiger Einfluss der unterschiedlichen Puffer auf die Wirksamkeit der Enzyme konnte nicht konstatiert werden. Es zeigte sich jedoch bei einigen Behandlungen, dass die Puffersubstanz selbst, also ohne Beigabe von Enzymen, die Eindringung von Flüssigkeiten ins Holz geringfügig verbessert.

Aufnahme [g]



Aufnahme an Mittel nach 30 min Vac

Eindringklasse



Bewertung der Eindringung in "Eindringklassen"
1=sehr schlecht.....4=sehr gut

Abb. 43: Aufnahme- und Eindringung von wässrigem Rhodamine B in enzymbehandelte Splintproben (Versuch Abschnitt 3.1.2.2). Die Eindringtiefe wurde anhand der unter 3.1.2.2 "G" beschriebenen Methodik beurteilt.

3.2 Enzymversuche mit Rundholz und Schnittholz

3.2.1 Einleitung

Fichtenholz wird in Mitteleuropa vor allem in zwei Formen verwendet:

- als Rundholz im Garten- und Landschaftsbau, im Strassen- und Wasserbau, z.T. für Telefonmasten und Strommasten etc.. In all diesen Bereichen wird das Holz überwiegend mit Bodenkontakt verbaut. Wegen der hohen Gefahr pilzlichen Holzabbaus ist eine Holzschutzbehandlung erforderlich.
- als Schnittholz in sehr vielen Bereichen des Innen- und Aussenbaus. Für die Verwendung von Fichtenholz im Innenbereich ist keinerlei chemische Holzschutzbehandlung erforderlich. Für die Verwendung im Aussenbereich hingegen, in denen das Holz langfristig oder dauerhaft in Kontakt mit Feuchtigkeit gerät, ist vielfach eine Holzschutzbehandlung notwendig (Schnittholz im Garten- und Landschaftsbau, Strassen- und Wasserbau, ungeschützte Aussenbekleidungen von Häusern etc.).

Versuche mit Enzymen, mit dem Ziel der Verbesserung der Aufnahme und Eindringung von Holzschutzmitteln ins Fichtenholz, wurden aus diesem Grunde an Rundholz (*Abschnitt 3.2.2*) und Schnittholz (*Abschnitt 3.2.3*) durchgeführt.

3.2.2 Enzymversuche mit Rundholzpfählen

3.2.2.1 Vorversuche

In einer Reihe von Vorversuchen wurden verschiedene, für eine erfolgreiche Enzymvorbehandlung von Rundholz wichtige Versuchsparameter erarbeitet. Dabei stand im Vordergrund, Aufschluss über die notwendige Enzymkonzentration und Behandlungsdauer zu erhalten, bevor dann aufwendigere Versuche mit Variation anderer Parameter erfolgen sollten. Von einer Anzahl durchgeführter Vorversuche sollen im folgenden nur 2 kurz aufgeführt werden. Es wurden hierfür Enzyme verwendet, die in den Versuchen mit Kleinproben wirksam die Aufnahme und Eindringung von Holzschutzmitteln verbesserten (siehe *Abschnitt 3.1*).

Vorversuch 1:

Holz:

Herkunft Oberberg / F.A. Waldbröl / Rundholzpfähle (Durchmesser 10-12 cm) frisch gefällt September 1988, handgeschält / Holzfeuchte: Holzfeuchteprofil siehe *Tab. 25*. Die Pfähle wurden auf Probenlänge 25 cm gekürzt, die Hirnflächen vor Behandlung mit Epoxy-Harz abgedichtet. Es wurden 10 Proben sowie 10 Kontrollproben in die Versuche eingebracht.

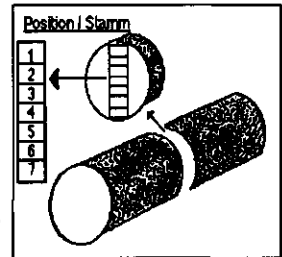
Enzym:

Kombination Rohament CA / DSP5 (2.5% + 2.5%).

Puffer:

0.1 M Citronensäure-Phosphatpuffer (pH 5); als Fungizid Na-Azid 0.1% beigefügt.

Position	Stamm 1	2	3	4
1	134 %	119 %	120 %	105 %
2	73 %	75	98	48
3	52 %	34	33	31
4	33 %	30	32	30
5	46 %	43	38	38
6	85 %	90	90	45
7	129 %	114	120	102



Tab. 25: Holzfeuchteprofil von 4 der in den Versuchen verwendeten Rundhölzer. Dafür wurde eine 2 cm dicke Stammscheibe radial in ca. 1 cm dicke Scheibchen aufgetrennt und die Holzfeuchte über den Querschnitt hinweg berechnet. Position 1: aussen...Position 4: Mitte...Position 7: aussen

Enzymbehandlung:

Die Rundholzabschnitte wurden in einer Kesseldruckanlage mit der Enzymflüssigkeit 1h Vac/ 1h Druck (8 bar) imprägniert und dann in Plastikwannen bei 40 °C vor Verdunstung geschützt gelagert. Nach 6 Tagen erfolgte eine erneute Vac/ Druckbehandlung, nach 12 Tagen wurde der Versuch beendet.

Holzschutzmittelbehandlung:

Von einer unmittelbar nach der Enzymbehandlung geplanten Vacuum-Drucktränkung der enzymatisch vorbehandelten Hölzer sowie der Kontrollproben mit einem wasserlöslichen Holzschutzmittel (CKB-Salz, 5 % Lösung) wurde abgesehen, da alle Proben mit Enzymflüssigkeit gesättigt waren und somit eine Tränkung nicht sinnvoll erschien. Die Proben wurden daraufhin bei 20 °C/ 60 % relativer Luftfeuchtigkeit bis ca. 15 % Holzfeuchte getrocknet und erst anschliessend in einem kurzen Tränkzyklus (2h Vac/ 2h Druck 8 bar) mit Schutzmittel getränkt.

Ergebnisermittlung:

Bei jeder Probe wurde stets die bei der Tränkung aufgenommene Menge Holzschutzmittel bestimmt. Nach erneuter Trocknung wurden die Proben in der Mitte aufgetrennt und die Eindringtiefe des Mittels durch Anfärbung der Kupfer-Komponente des Holzschutzmittels mit Rubeanwasserstoff (Kottlors und Theden 1965) sichtbar gemacht. Eine Klassifizierung der Eindringtiefe erfolgte optisch in 4 Eindringklassen.

Ergebnisse:

Für jede Probe wurde die Aufnahmemenge an Salz/ m³ sowie die Eindringtiefe dieses Mittels bestimmt (siehe *Abb. 44 a u. b*). Zu erkennen ist, dass die Enzymbehandlung die Eindringtiefe und auch die Aufnahmemenge des Mittels stark verbessert. Dieses Ergebnis ist umso positiver zu bewerten, da die Tränkzeit zum Einbringen des Schutzmittels (2h Vac/ 2h Druck) sehr kurz war.

Vorversuch 2:

Holz:

Herkunft Sachsenwald bei Hamburg/ F.A. Aumühle; Rundholzpfähle, (Durchmesser 12-15 cm); gefällt und maschinell geschält November 88; Pfähle auf 25 cm Probenlänge gekürzt und Hirnflächen sofort mit Epoxyharz abgedichtet; 10 Proben sowie 10 Kontrollproben.

Enzym:

Kombination Rohament CA/ DSP5 (2.5 % + 2.5 %) in Puffer.

Puffer:

0.1 M Citronensäure-Phosphatpuffer (pH 5); als Fungizid 0.1% Na-Azid beigelegt.

Enzymbehandlung:

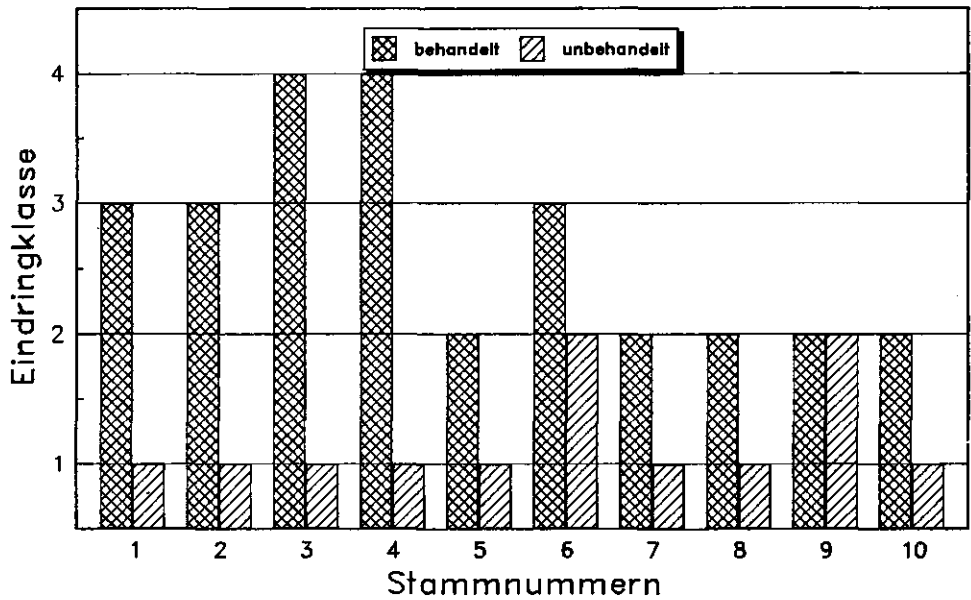
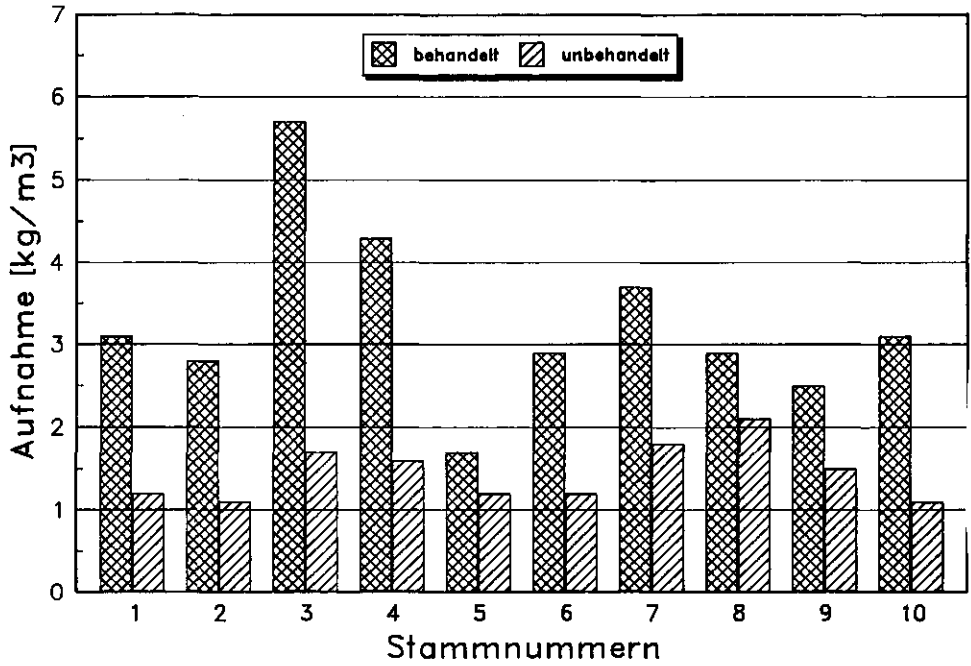
Die Rundhölzer wurden in einer Kesseldruckanlage mit der Enzymflüssigkeit 1h Vac/ 1h Druck (8 bar) imprägniert und dann in Plastikwannen bei 30 °C gegen Verdunstung geschützt gelagert. Während der Enzymbehandlung erfolgte keine weitere Vac/ Druckbehandlung. Die Enzymbehandlung dauerte 12 Tage.

Holzschutzmittelbehandlung:

Die Trängung mit Holzschutzmittel erfolgte durch zwei verschiedener Methoden. Ein Teil wurde nach der Enzymbehandlung bei der Bundesforschungsanstalt für Forst - und Holzwirtschaft, Hamburg, mit einem Nasstränkverfahren (OPM-Verfahren) in feuchtem Zustand mit Holzschutzmitteln getränkt (Zyklus 6h), ein anderer Teil nach Trocknung mit einem Vac/ Druckverfahren (2h Vac/ 4h Druck). In beiden Verfahren wurde das gleiche Tränkmittel verwendet (Impra CCO, CKB-Salz, ca. 5 % Lösung).

Ergebnisse:

Die Ermittlung des Tränkergebnisses wurde nach der im 1. Vorversuch beschriebenen Methode vorgenommen. In *Abb. 45* sind die Eindringklassen der behandelten und unbehandelten Rundholzproben aufgezeigt. Dieser Vorversuch zeigte, dass trotz der verringerten Temperatur von 30 °C (im Gegensatz zu 40 °C im 1. Vorversuch) eine Enzymvorbehandlung die Eindringung von Holzschutzmittel in Rundhölzer verbessert. In welchem Masse jedoch die Behandlungszeit weiter verkürzt werden kann und inwieweit die Holzschutzmitteleindringung durch das angewandte Kesseldruckverfahren zu verbessern ist, ist in weiteren Versuchen zu klären.

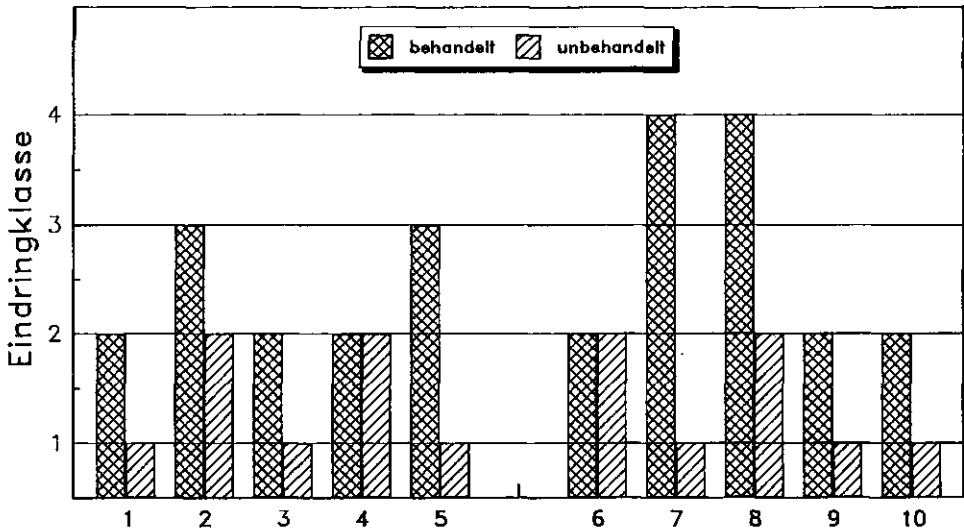


Beurteilung der Eindringung in "Eindringklassen"
 1=sehr schlecht...4=sehr gut

Abb. 44 a u. b: Aufnahmemengen und Eindringung von CKB-Salz in jeweils 10 enzymbehandelte und unbehandelte Rundhölzer im 1. Vorversuch, Abschnitt 3.2.2.1.

Eindringklasse 1	Eindringtiefe sehr gering; Randeindringung weniger als 1 mm
Eindringklasse 2	Eindringtiefe nur wenige mm, geringfügig besser als Klasse 1
Eindringklasse 3	Eindringung deutlich besser als Klasse 1 und 2, jedoch unregelmässig
Eindringklasse 4	sehr tiefe Eindringung

Tab. 26: Klassifizierung der Eindringtiefe des Holzschutzmittels Impra CCO (CKB-Salz) in enzymbehandelte und unbehandelte Rund- und Schnittholzproben (siehe auch Anhang 7).



Stammnummern 1-5: mit Vac/Druckverfahren
 Stammnummern 6-10: mit OPM-verfahren
 Eindringklasse 1=sehr schlecht...4=sehr gut

Abb 45: Eindringung des Holzschutzmittels in jeweils 10 enzymbehandelte und unbehandelte Fichtenrundhölzer im 2. Vorversuch, Abschnitt 3.2.2.1. Vergleich eines Vac/Druckverfahrens und eines OPM-Verfahrens.

3.2.2.2 Einfluss des Tränkverfahrens

EINLEITUNG

Vorversuche wiesen darauf hin, dass eine Wechseldruckträngung (OPM-Verfahren = Oscillating pressure method) bei einigen Stämmen zu tieferen Schutzmitteleindringungen führt als normale Vacuum-Druckträngung.

Die Vorversuche wurden an kleinem Probenmaterial und mit geringen Probenmengen durchgeführt und hatten somit nur orientierenden Charakter. Zum Erhalt gesicherter Ergebnisse wurden Versuche in Zusammenarbeit mit der BFH (Bundesforschungsanstalt f. Forst- und Holzwirtschaft, Ordinariat f. Holzbiologie und Holzschutz) in Hamburg durchgeführt. Die BFH verfügt über Kesseldruckanlagen für Holzschutzbehandlungen, in denen sowohl gewöhnliche Vac/Druckverfahren als auch OPM- und APM-Verfahren (Alternating pressure method, Beschreibung der Kesselverfahren siehe unten) angewandt werden können.

Ebenso wichtiges Untersuchungsziel dieser Versuchsreihen war die Ermittlung, ob sich getrocknetes Fichtenholz anders bei einer Enzymvorbehandlung verhält als frisch gefälltes Holz. Ein deutlicher Unterschied war zu erwarten, da bei getrocknetem Holz durch vorhandenen Hoftüpfelverschluss eine Vorbehandlung eventuell langsamer und weniger erfolgreich erfolgt, als das bei frischem Holz der Fall ist.

MATERIAL

Holz

Herkunft: Forstamt Aumühle, Revier Billetal/ Kröppelshagen; Durchmesser: 10-12 cm; Stammlänge: 4.5 m; Probenlänge: 25 cm

Für diese Versuche wurde frisch gefälltes Rundholz mit einem Messerschäler konisch entrindet und gegen Austrocknung geschützt gelagert. Die 4.5 m langen Stämme wurden in 25 cm lange Proben aufgeteilt (Aufteilungsschema siehe Abb. 46). Durch diese Art der Probennahme (hintereinanderliegende Stammstücke) kann die probenbedingte Variation in den verschiedenen Tränkversuchen so klein wie möglich gehalten werden, und somit die Aussagekraft bezüglich des durch Enzyme verursachten Effekts erhöht werden. Die 25 cm langen Holzproben wurden beidseitig mit Epoxidharz (Acropox + Härter) abgedichtet, um eine übermäßige Aufnahme von Enzymen und Holzschutzmitteln über die Hirnenden zu verhindern. Aus jedem Stamm wurden zusätzlich noch 6 Scheiben a 3 cm Dicke entnommen. Diese Scheiben dienten zur Holzfeuchtebestimmung und zur Anfärbung von Kern- und Splintholz.

Enzyme

Diese Rundholzversuche wurden mit einer Enzymkombination von Rohament CA/ DSP5 (1 % + 1 %) durchgeführt. Als Puffer wurde ein Citronensäure-Phosphatpuffer (pH 4.8) angewandt und als Fungizid 0.01 % Natriumazid zugefügt.

Holzschutzmittel

Die Tränkung der Rundhölzer wurde mit einem wasserlöslichen Holzschutzmittel (CKB-Salz Impralit CCO, 5 %) vorgenommen. Die Eindringtiefe dieses Mittels in die Holzproben wurde nach Auftrennen der Proben und Anfärbung der Kupferkomponente mit 5 % Rubeanwasserstoff in Alkohol (Kottlors und Theden 1965) gemessen.

Tränkanlagen

Die Imprägnierung der Rundholzproben mit Holzschutzmitteln erfolgte in den Tränkanlagen der BFH. Für das Vacuum-Druckverfahren stand eine gewöhnliche Kesseldruckanlage zur Verfügung, die OPM- und APM-Tränkung erfolgte in einer computergesteuerten Wechsellagerungs-Versuchsanlage der Firma DWT (Danish Wood Treating), die im Aufbau den von DWT produzierten Grossanlagen entspricht (Goetsch 1987).

VERSUCHSDURCHFÜHRUNG

Probeneinteilung im Versuch

In diesem Versuch sollten unter anderem Erkenntnisse gewonnen werden, über die Wichtigkeit der Holzfeuchte vor der Enzymbehandlung sowie den Einfluss unterschiedlicher Kesseldruckverfahren auf die Eindringtiefe und -menge von Holzschutzmitteln. Zu diesem Zwecke wurden aus 6 verschiedenen Stämmen Proben nach dem in *Abb. 46* angegebenen Schema entnommen und auf den Versuch verteilt. Die Einteilung der Proben geschah folgenderweise: je Stamm wurden einige Proben vor der Enzymbehandlung auf ca. 20 % Holzfeuchte getrocknet, andere direkt nach dem Fällen und Entrinden mit Enzymen behandelt. Auch nach der Enzymbehandlung wurden einige Proben erst auf ca. 20 % Holzfeuchte zurückgetrocknet, andere direkt in feuchtem Zustand mit Holzschutzmitteln imprägniert. Eine Imprägnierung der feuchten Proben wurde nur mit OPM und APM vorgenommen, da im gewöhnlichen Vacuum/Druckverfahren die wassergesättigten Proben kein Holzschutzmittel aufnehmen können. Zur Kontrolle des Behandlungserfolges wurden ebenfalls unvorbehandelte Proben des gleichen Stammes mit den Holzschutzmitteln in den Kesseldruckverfahren imprägniert.

Enzymvorbehandlung

Nach Abdichten der Holzproben und Aufteilung in die verschiedenen Teilversuche (siehe *Abb. 46*) wurde ein Teil der Proben mit den genannten Enzymen behandelt. Dies geschah durch Tränkung der Proben mit den Enzymen in einem Druckkessel (2h Vac/ 3h Druck 8 bar). Die Proben wurden dann 12 Tage in Plastikbehältern in der Enzymflüssigkeit bei 40 °C gelagert. Jeden Tag wurde der pH-Wert der Lösung kontrolliert. Nach Ablauf der Enzymbehandlung wurde das Holz sofort nach Hamburg transportiert, wo daraufhin die Holzschutzbehandlung vorgenommen wurde.

Tränkung mit Holzschutzmitteln

Vacuum-Drucktränkung

Vacuum-Druckverfahren in Kesseldruckanlagen gehören zu den meist angewandten Tränkverfahren bei Holzschutzbehandlungen. Mit diesen Verfahren lassen sich

sowohl wasserlösliche als auch ölige Holzschutzmittel ins Holz einbringen. Das Holz wird einem Vacuum ausgesetzt, wodurch die im Holz vorhandene Luft teilweise entfernt wird und ein Unterdruck im Holz entsteht. In diesem Zustand wird das Holzschutzmittel in den Kessel eingebracht. Dann wird der Druck auf 6-10 bar erhöht und dadurch das Holzschutzmittel ins Holz eingedrückt. Voraussetzung für den Erfolg dieses Verfahrens ist, dass das Holz bei Tränkbeginn nicht zu feucht ist. Aus diesem Grunde konnte das enzymvorbehandelte Holz erst nach seiner Trocknung mit diesem Verfahren behandelt werden. Die Tränkung erfolgte im Kesseldruckverfahren (2 h Vacuum, Absolutdruck 0.4 bar, dann 5 h Druckphase, Absolutdruck 8 bar).

OPM-Verfahren (Oscillating Pressure Method)

Im OPM- (auch Wechseldruckverfahren genannt) werden Vacuum und Druck sehr oft und schnell gewechselt. In den vorliegenden Versuchen wurde nach einer 30 min Vordruckphase eine 10 h Wechseldruckphase (160 Perioden Druckaufbau bis 8 bar/ Druckabbau bis 0.4 bar) benutzt. Abschliessend wurde ein Nachvacuum angelegt (30 min, 0.4 bar).

Modifiziertes APM-Verfahren (Alternating Pressure Method)

Für das APM-Verfahren wurde die gleiche Tränkanlage wie für das OPM-Verfahren benutzt. Im APM-Verfahren wird der Tränkerfolg durch häufige Wechsel zwischen atmosphärischen Druck und Überdruck erreicht. Versuche bei der BFH (Goetsch 1987) ergaben, dass bei Fichtenholz aufgrund schlechter Druckfortpflanzung im Holz der häufige Druckwechsel nicht den gewünschten Erfolg hatte. Das APM-Verfahren wurde daraufhin für die vorliegenden Versuche so modifiziert, dass sich die Wechsel zwischen Druckaufbau und Druckabbau langsam und über längere Zeiträume verteilen.

Es wurden 5 Tränkzyklen hintereinander gefahren. Jeder Zyklus bestand aus einer einstündigen langsamen Druckaufbauphase auf 8 bar mit einer anschliessenden langsamen Druckabbauphase auf atmosphärischen Druck. Die totale Tränkzeit betrug somit 10 h.

ERGEBNISSE

Aufnahmemenge und Eindringtiefe von Holzschutzmitteln in enzymvorbehandelte und unbehandelte Proben

Mit einem Arealmessgerät wurde die Eindringtiefe des Mittels in der Holzprobe gemessen und ins Verhältnis zur gesamten Probenfläche sowie zur Splintfläche gesetzt. Die Ergebnisse (Schutzmittelaufnahme und -eindringung) sind in *Abb. 47* wiedergegeben.

Die Vorbehandlung der Rundhölzer mit den Enzymen CA/DSP 5 führt bei allen Versuchen zu einer deutlichen Steigerung der Eindringtiefe des Holzschutzmittels. Das Holzschutzmittel dringt nach den wirksamen Behandlungen (2,8) sehr tief in die Proben ein. Das geschützte Gebiet umfasst dann 70 - 80 % des gesamten Probenquerschnitts. Dagegen beträgt das geschützte Gebiet bei den unvorbehandelten Proben nur ca. 20 % des Probenquerschnitts. Bei diesem Tränkerfolg spielt offensichtlich das gewählte Kesseldruckverfahren eine untergeordnete Rolle. OPM und modifiziertes APM führen zu ähnlich guten

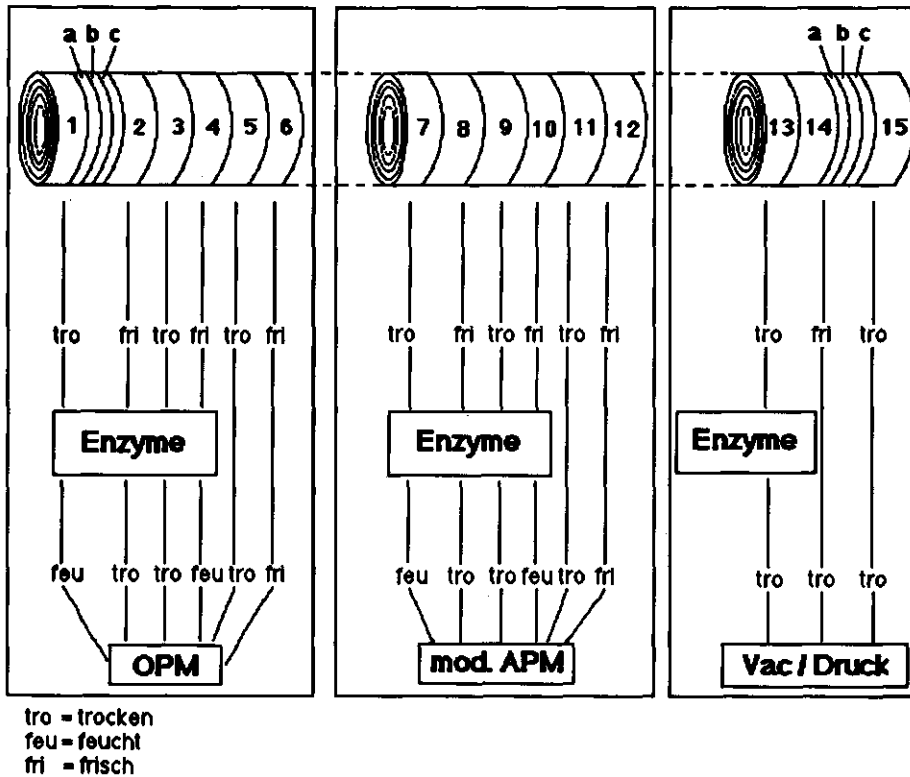


Abb. 46: Verteilung der Proben auf die verschiedenen Teilversuche, Abschnitt 3.2.2.2. Scheibe a: für Holzfeuchtemessung; Scheibe b und c: für Anfärbung Kern-Splintgrenze.

Stammnr.	Position	Kernholz	Splintholz
1	unten	40 %	114 %
	oben	41 %	76 %
2	unten	39 %	103 %
	oben	39 %	84 %
3	unten	44 %	102 %
	oben	44 %	132 %
4	unten	39 %	131 %
	oben	31 %	123 %
5	unten	42 %	159 %
	oben	45 %	127 %
6	unten	40 %	155 %
	oben	44 %	120 %

Tab. 27: Gemittelte Holzfeuchte der 6 im Versuch verwendeten Stämme vor der Enzymbehandlung. Angegeben sind die Werte für Kernholz und Splintholz in 2 Stammhöhen (Stammfuß = unten, Stammzopf = oben)

Tränktiefen; dieses gilt sowohl für die vorbehandelten Proben (Behandlung 1;2;3;4 - 7;8;9;10) als auch für die unbehandelten Kontrollproben (5;6 - 11;12). Die Eindringtiefen bei den im Vacuum/Druckverfahren getränkten Hölzern sind etwas schlechter als die bei den anderen Verfahren. Dies muss nicht zwangsläufig an der Imprägniermethode liegen, sondern ist eventuell auf die verschiedenen Tränkzeiten zurückzuführen (Tränkzeit im Vac/Druckverfahren nur 7h im Vergleich zu 11h bei OPM und APM). Bei den unbehandelten Kontrollproben ist das Vac/Druckverfahren hingegen den anderen Verfahren nicht unterlegen.

Die besten Ergebnisse werden mit Enzymbehandlungen des frischen Holzes erreicht, das anschliessend getrocknet und erst dann mit Holzschutzmittel getränkt wurde. Eine sehr tiefe Eindringung des Schutzmittels ist dabei sowohl mit dem OPM- als auch dem APM-Verfahren zu erreichen (Behandlungen 2; 8). Eine Tränkung mit dem Vac/Druckverfahren (Behandlung 14) führt ebenfalls zu guten Tränkergebnissen. Aus Sicht der Prozesstechnologie ist bei diesem Behandlungsablauf jedoch von Nachteil, dass das frisch mit Enzymen behandelte Holz nicht direkt mit Holzschutzmitteln getränkt werden kann, da es im vollgesogenen Zustand keine Tränkmittel aufnimmt. Es muss also vor der Tränkung eine 2-3 wöchige Freilufttrocknung des Holzes erfolgen.

Aus verfahrenstechnischer Sicht bieten dagegen die Behandlungen 4 bzw. 10 den Vorteil, dass unmittelbar nach der Enzymbehandlung die Holzschutztränkung geschehen kann.

Bei einigen Behandlungen ist der Vorbehandlungseffekt der Enzyme an frischem Holz grösser als bei getrocknetem Holz. Dies gilt jedoch nur für die Enzymbehandlung frischen Holzes mit anschliessender Trocknung vor Kesseldrucktränkung (Behandlungen 2; 8). Geht man davon aus, dass aus verfahrenstechnischen Gründen eine Tränkung direkt nach Beendigung der Enzymbehandlung erfolgen sollte, scheint die Holzfeuchte vor Enzymbehandlung unwesentlich (siehe Behandlungen 1-4, 7-10). Dieses Ergebnis ist für die praktische Anwendung von grosser Bedeutung, da nicht nur bei frischem Holz, sondern ebenso bei angetrocknetem und trockenem Holz die Aufnahmefähigkeit durch eine Enzymbehandlung erhöht werden kann.

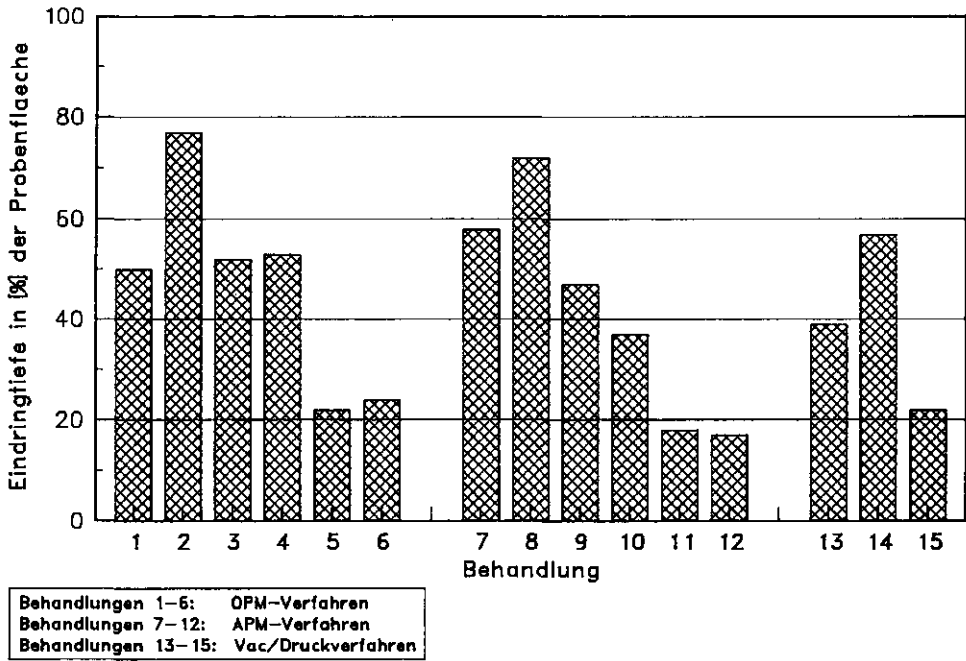


Abb. 47: Eindringung von Holzschutzmitteln (CKB-Salz, 5 %) in enzymbehandelte und unbehandelte Proben (Versuch Abschnitt 3.2.2.2, Behandlungen siehe Abb. 46). Die Eindringtiefe des Mittels wird im Verhältnis zur gesamten Probenfläche angegeben.

3.2.2.3 Vergleich wirksamer Handelspräparate

EINLEITUNG

Enzymversuche mit Fichtenholz-Kleinproben ergaben, dass einige Enzyme die Aufnahme und Eindringung von Holzschutzmitteln mehr vergrösserten als andere. Um die Wirkung dieser an Kleinproben besonders effektiven Enzyme auch an grösseren Rundholzproben zu untersuchen, wurde der folgende Versuch durchgeführt. Die Behandlungstemperatur wurde dabei auf 20 °C gesenkt.

MATERIAL

Holz

Der Versuch wurde mit sowohl frisch gefällten (A) als auch bereits längere Zeit gelagerten Holzproben (B) verschiedener Herkunft durchgeführt. In jede Teilbehandlung wurden 10 Proben eingebracht.

	<u>Frisches Holz (A)</u>	<u>Gelagertes Holz (B)</u>
<u>Herkunft</u>	belg. Ardennen	Norddeutschland
<u>Holzfeuchte</u>		
Splint	ca. 130 %	ca. 25 %
Kern	ca. 40 %	ca. 25 %
<u>Abmessungen</u>	Durchmesser 10 - 12 cm Länge 25 cm	
<u>Hinflächen</u>	abgedichtet mit Epoxy	

Enzyme

Die folgenden Enzyme wurden für die Behandlung der Rundhölzer jeweils in einer 0.5 % Konzentration in 0.1 M Na-acetatpuffer (ph 5) gelöst.

- Rohament 7069 + Rohament D5L (0.5 % + 0.5 %)
- Rohament CA + Rohament D5L (0.5 % + 0.5 %)
- Rohament 7069 + Pectinex 3xL (0.5 % + 0.5 %)

VERSUCHSDURCHFÜHRUNG

Die Rundholzproben wurden in einer Kesseldruckanlage kurzzeitig mit Enzymlösung getränkt (1 h Vacuum/ 1 h Druck 8 bar) und dann in Plastikwannen bei 20 °C in der Lösung belassen. Ein Teil der Proben wurde nach 5 Tagen, der andere Teil der Proben nach 10 Tagen aus dem Enzymbad entnommen.

Bei der Enzymbehandlung nehmen die Proben erheblich an Gewicht zu. Deshalb wurden alle Proben 4 Wochen bei 20 °C/ 60 % relativer Luftfeuchte auf ca. 20 % Holzfeuchte getrocknet und dann mit Holzschutzmittel imprägniert.

Die Effektivität der Enzymbehandlung wurde, wie bereits an anderer Stelle ausführlich beschrieben, anhand der aufgenommenen Menge Holzschutzmittel und der Eindringtiefe ins Holz ermittelt (siehe *Abschnitt 3.2.2.1*).

ERGEBNISSE

In *Abb. 48 a u. b* ist die aufgenommene Menge an Holzschutzsalz/ m³ sowie deren Eindringtiefe in die Proben für die verschiedenen Enzymbehandlungen getrennt dargestellt. Alle Enzymbehandlungen verbessern die Aufnahme und Eindringung von Holzschutzmitteln.

Ein Vergleich der drei getesteten Enzymkombinationen ergibt, dass keine sehr grossen Unterschiede in ihrer Effektivität bei der Verbesserung der Aufnahmefähigkeit des Holzes gegenüber dem Holzschutzmittel bestehen. Bei dem getrockneten Holz sind nach der Behandlung mit 7069/D5L die Eindringtiefen besser als dieses nach einer Vorbehandlung mit anderen Enzymen der Fall ist. Beim frischem Holz der Herkunft "A" liessen sich mit der Kombination CA/D5L bessere Resultate erzielen.

Auffallend ist jedoch, dass das vor der Enzymbehandlung trockne Holz mehr Salz aufnimmt und ein tieferes Imprägnierbild zeigt als das vor der Behandlung frisch gefällte Holz. Beim Vergleich der Kontrollproben ist zu erkennen, dass dies nicht auf eine unterschiedliche Effektivität der Enzyme zurückzuführen ist, sondern an Unterschieden in der Tränkbarkeit des Holzes liegt. Die Ursachen dafür sind in der verschiedenen Herkunft des Holzes und seiner Unterschiede in den Holzeigenschaften zu suchen (Rohdichte, Jahrringbreite, Zellabmessungen etc.). Der grosse Einfluss dieser Eigenschaften auf die Tränkbarkeit von Fichtenholz ist allgemein bekannt. Ein Vergleich der Wirksamkeit der Enzymbehandlungen bei trockenem und frischem Holz ist somit nicht möglich.

Bei beiden Holzgruppen ist zu erkennen, dass bereits nach 5 Tagen Behandlung die Aufnahme und Eindringung von Holzschutzmitteln stark verbessert ist. Eine Verlängerung der Behandlungszeit auf 10 Tage verbessert dieses Ergebnis nicht weiter, sondern bewirkt sogar eine verschlechterte Aufnahme und Eindringung. Worauf dieser Effekt zurückzuführen ist, konnte im Rahmen dieser Versuche nicht geklärt werden. Eventuell steht er jedoch im Zusammenhang mit dem in der Enzymlösung nach einigen Tagen beginnenden Wachstum von Oberflächenschimmeln, das am Ende der 10-tägigen Versuche auch auf der Holzoberfläche wahrnehmbar ist. Solche Schimmelpilze können unter Umständen die Eindringung der Holzschutzmittel behindern. Um Schimmelbildung zu vermeiden, wurde deshalb den Enzymlösungen in den folgenden Versuchen ein Fungizid beigefügt. Zusammenfassend kann gesagt werden, dass das Ergebnis dieses Versuches zufriedenstellend ist, weil:

- durch alle Enzymbehandlungen erheblich grössere Aufnahmemengen und Eindringtiefen erreicht wurden als bei unbehandeltem Holz;
- dies bei einer Vorbehandlungsdauer von nur 5 Tagen und einer Behandlungstemperatur von nur 20 °C erreicht wurde.

Die Ergebnisse dieses Versuches sind aufgrund der verschiedenen Herkunft des Holzes nicht direkt mit den Ergebnissen der vorherigen Versuche zu vergleichen. Dennoch kann gesagt werden, dass auch die hier im Versuch getesteten Enzymkombinationen die Imprägnierbarkeit des Holzes verbessern.

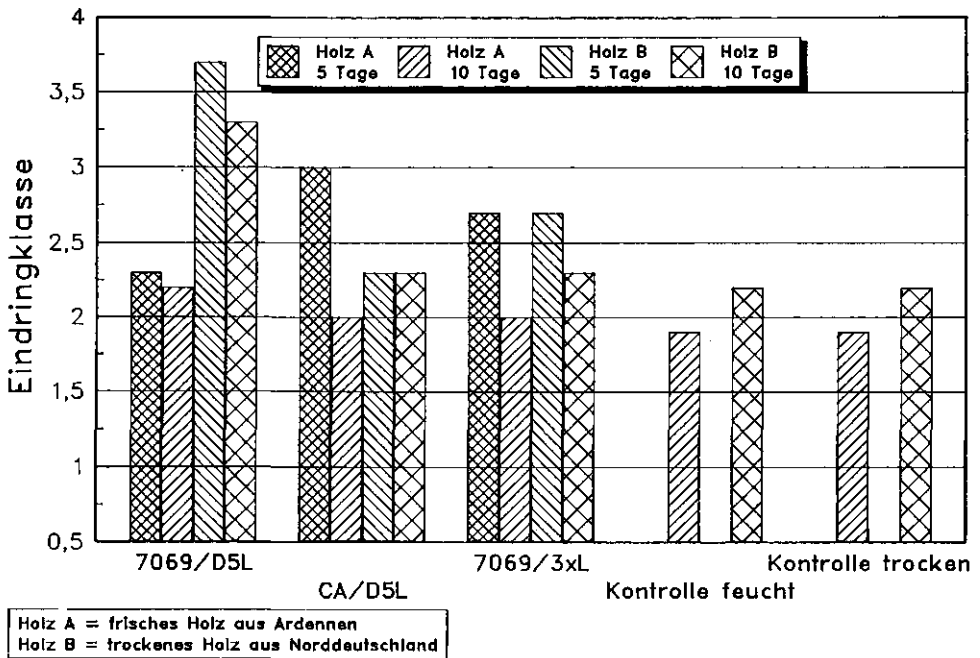
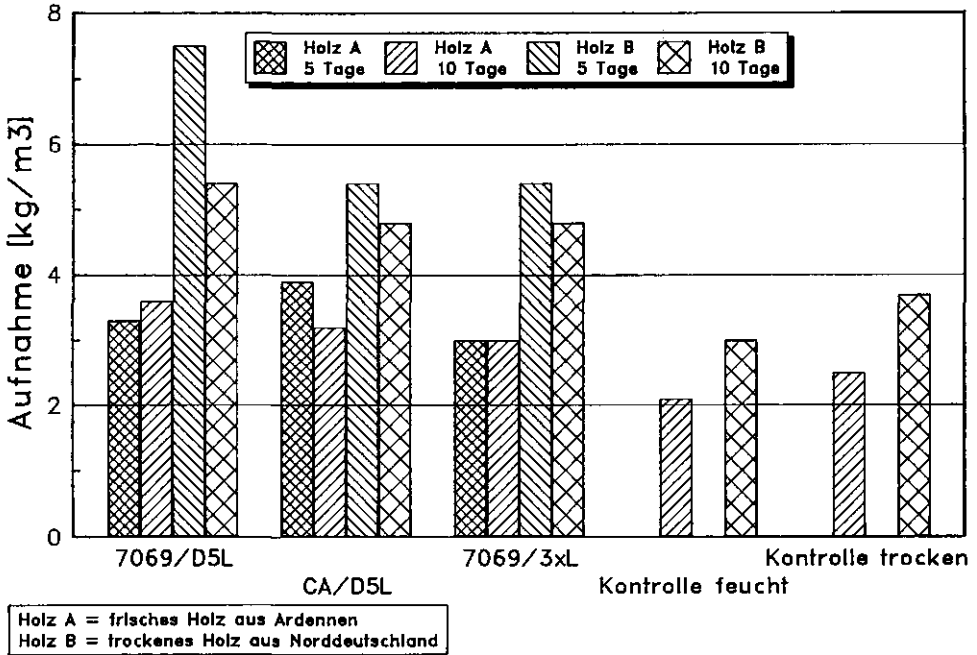


Abb. 48 a u. b: Aufnahme und Eindringung von Holzschutzmittel in unbehandelte und enzymbehandelte Rundholzproben (Versuch Abschnitt 3.2.2.3). Die Eindringung wurde bei jeder Probe anhand des in Tab. 26 beschriebenen Schlüssels bestimmt (Klasse 1: schlechte Eindringung...Klasse 4: gute Eindringung)

3.2.2.4 Beregnung mit Enzymen

EINLEITUNG

Im vorliegenden Versuch wurde untersucht, ob eine Beregnung des Holzes mit Enzymflüssigkeit anstelle der Lagerung in der Flüssigkeit ebenfalls zu guten Resultaten führt.

In allen Enzymversuchen mit Fichtenholzmehl (*Abschnitt 2.2.2*) erwies sich Maxazym CL 2000 beim Abbau von Uronsäuren und neutralen Zuckern als besonders effektiv und den meisten anderen Produkten überlegen. In den bisherigen Rundholzversuchen wurde die Wirksamkeit des CL 2000 noch nicht untersucht, was deshalb im 1. Versuchsteil geschah. Im 2. Versuchsteil wurden andere, weitaus billigere Handelspräparate, die in den Versuchen mit Kleinproben wirksam waren, unter vergleichbaren Versuchsumständen getestet.

1. Versuchsteil: Beregnung mit Maxazym CL 2000

MATERIAL

Holz

In diesem Versuch wurde frisch gefälltes und entrindetes Rundholz verwendet. Je Behandlung wurden 5 Proben verwendet.

<u>Herkunft</u>	Nordbelgien
<u>Holzfeuchte bei Versuchsbeginn:</u>	
-Splint	ca. 125 %
-Kern	ca. 35 %
<u>Abmessungen</u>	Durchmesser 11 - 14 cm Probenlänge 25 cm
<u>Hirnflächen</u>	abgedichtet mit Epoxy

Enzym

1 % Maxazym CL 2000 wurde in entmineralisiertem Wasser gelöst. Zur Vermeidung von Schimmelbildung wurde 0.01 % Natriumazid hinzugefügt.

VERSUCHSDURCHFÜHRUNG

Die Holzproben wurden im Kesseldruckverfahren (1 h Vacuum/ 3 h Druck 8 bar) mit den Enzymen getränkt. Ein Teil der Proben wurde danach in Plastikwannen in der Enzymlösung untergetaucht gehalten, ein anderer Teil wurde täglich 4 mal eine halbe Stunde lang mit der Enzymlösung beregnet (4 Liter pro Beregnung; Enzymlösung wiederverwendet). Die Versuchstemperatur betrug 20 °C. Nach 4 und 8 Tagen wurde ein Teil der Proben aus dem Versuch (Wannen und Beregnung) geholt; der Versuch wurde nach 14 Tagen beendet. Nach Beendigung der Enzymbehandlung wurden die Holzproben bei 20 °C/ 60 % r.F. getrocknet und bei ca. 15 % Holzfeuchte im Kesseldruckverfahren (1 h Vacuum/ 4 h Druck 8 bar) mit einem wasserlöslichen Holzschutzmittel (CKB-Salz, 3 %) getränkt.

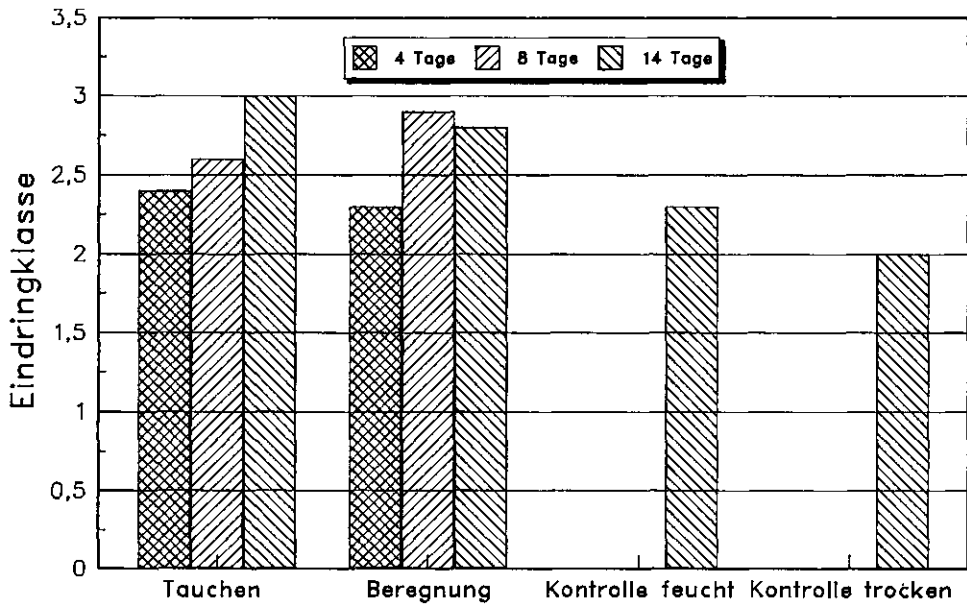
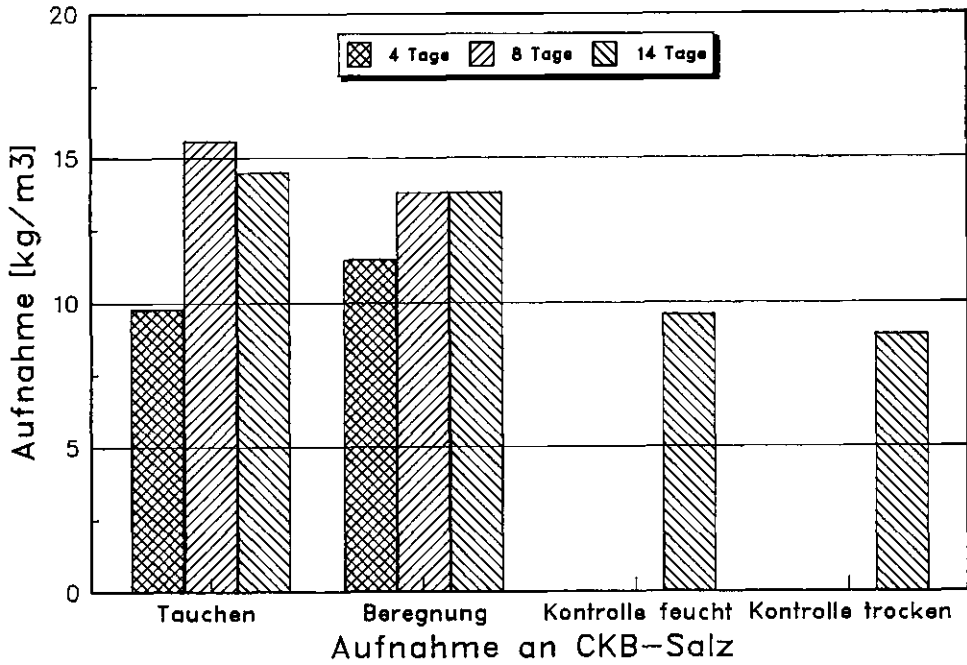
ERGEBNISSE

Für jede Holzprobe wurden die Aufnahmemenge und Eindringtiefe des Holzschutzmittels mit der in 3.2.2.1 beschriebenen Methode bestimmt. Die Ergebnisse dieser Messungen sind in *Abb. 49 a u. b* für jede Behandlung gemittelt wiedergegeben.

Auch dieser Versuch belegt erneut, dass sich durch eine Enzymbehandlung die Imprägnierfähigkeit des Fichtenrundholzes verbessern lässt. Ob dieser Effekt mit dem hier verwendeten Enzym CL 2000 grösser ist als bei den in vorherigen Versuchen verwendeten Enzymen, ist aufgrund der Verschiedenheit des Ausgangsmaterials (Holz anderer Herkunft) nicht zu erkennen. Vergleicht man jedoch die Verbesserung der Schutzmittelaufnahme in diesem Versuch nach 8 Tagen (Eindringung unbehandeltes Holz: Eindringklasse 2.3, enzymbehandeltes Holz: Eindringklasse 2.6 bzw. 2.9) mit den Resultaten der vorherigen Versuche, so lässt sich vermuten, dass durch die Behandlung mit CL 2000 die Verbesserung der Eindringung in der gleichen Grössenordnung liegt, wie die der anderen effektiven Enzyme (7069/D5L, CA/D5L, CA/DSP5, 7069/3xL).

Nach 4 Tagen Vorbehandlung mit CL 2000 lässt sich noch keine deutliche Verbesserung in der Aufnahme und Eindringung der Schutzmittel erkennen. Erst nach 8 Tagen ist dieser Effekt sichtbar. Die 14-tägige Behandlung führt lediglich beim Tauchversuch zu höheren Mitteleindringungen im Vergleich zur 8-tägigen Vorbehandlung. Das gilt nur für die Eindringtiefe, nicht jedoch für die Aufnahmemenge.

Eine Beregnung mit Enzymflüssigkeit anstelle der Lagerung der Proben im Enzymbad führt zu 5-10 % geringeren Holzschutzmittelaufnahmen und Eindringungen. Die Eindringtiefen des Holzschutzmittels bei den mit Enzymen beregneten Proben liegen jedoch höher als die bei den unbehandelten Proben. Für die praktische Anwendung kann diese Methode der Enzymbehandlung sehr interessant sein, da für die Beregnung von grossen Mengen Holz anstelle der Lagerung in Enzym-Tauchbädern ein geringerer technischer und finanzieller Aufwand notwendig ist. Eine solche Behandlung führte im hier beschriebenen Versuch mit einem in Wasser gelösten Enzym bei 20 °C zu guten Erfolgen.



Bewertung der Eindringung in "Eindringklassen"
 1=sehr schlecht...4=sehr gut

Abb. 49 a u. b: Aufnahme [kg/m³] und Eindringtiefe von Holzschutzmittel in enzymvorbehandeltes und unbehandeltes Rundholz nach unterschiedlicher Vorbehandlung (Versuch Abschnitt 3.2.2.4/1). Die Eindringung wurde nach dem in Tab. 26 beschriebenen Schlüssel bestimmt (Klasse 1: schlechte Eindringung....Klasse 4: gute Eindringung)

2. Versuchsteil: Beregnung mit Enzymkombinationen

MATERIAL

Holz

Es wurde angetrocknetes, geschältes Rundholz verwendet. Je Behandlung wurden 5 Proben in den Versuch eingebracht.

<u>Herkunft</u>	Niederlande/ Provinz Brabant
<u>Holzfeuchte bei Versuchsbeginn:</u>	
-Splint	ca. 40 %
-Kern	ca. 30 %
<u>Abmessungen</u>	Durchmesser 9 cm Probenlänge 20 cm
<u>Hirnlflächen</u>	abgedichtet mit Epoxy

Enzyme

Die folgenden Enzymkombinationen wurden in 1.5 % Konzentration in Wasser gelöst:

- Rohament 7069 + Ultrazym AFP (0.75 % + 0.75 %)
 - Rohament 7069 + Rohament CA + Rohament D5L (0.5 % + 0.5 % + 0.5 %)
- Als Fungizid wurde Na-benzoat in 0.1 % Konzentration zugefügt.

VERSUCHSDURCHFÜHRUNG

Die Holzproben wurden im Kesseldruckverfahren (1h Vacuum/ 2 h Druck 8 bar) mit der Enzymflüssigkeit imprägniert. Ein Teil der Proben wurde danach in Plastikwannen im Enzym gelagert, der andere Teil in Plastikplanen vor Austrocknung geschützt gelagert und jeden 2.Tag 5 Minuten mit der Enzymflüssigkeit beregnet. Beide Behandlungsvarianten wurden bei 20 °C durchgeführt. Die Versuchsdauer betrug 10 Tage; ein Teil der Proben wurde jedoch bereits nach 5 Tagen aus dem Versuch entnommen.

Nach der Enzymbehandlung wurden die Proben auf ca. 20 % Holzfeuchte getrocknet, um sie anschliessend im Kesseldruckverfahren (2 h Vacuum/ 1 h Druck 8 bar) mit einem wasserlöslichen Holzschutzmittel (CKB-Salz, 3 %) zu imprägnieren.

5 Tage nach Behandlungsbeginn wurde in allen Enzymlösungen Schimmelbildung konstatiert. Diese Schimmelbildung trat auf, obwohl den Enzymlösungen 0.1 % Na-benzoat zugefügt war und nahm mit fortschreitender Versuchsdauer stark zu.

ERGEBNISSE

Für jede Holzprobe wurden die Aufnahmemenge und Eindringtiefe an Holzschutzmitteln mit der in 3.2.2.1 beschriebenen Methodik bestimmt. Die Ergebnisse dieser Messungen sind in *Abb. 50 a u. b* für jede Behandlung gemittelt wiedergegeben. Der Versuch macht deutlich, dass beide Enzymbehandlungen die Aufnahmefähigkeit des Holzes für Holzschutzmittel gleichgut verbessern. Wie auch

bereits bei anderen Versuchen festgestellt, vergrößert sich dieser Effekt durch eine Verlängerung der Enzymbehandlung von 5 auf 10 Tage nicht.

Die Tauchbehandlung des Holzes im Enzymbad führt dabei zu besseren Eindringtiefen als die Beregnung mit Enzymen. Die "Beregnungsbehandlung" ihrerseits verbessert die Aufnahme und Eindringung von Holzschutzmitteln im Vergleich zu unbehandelten Proben.

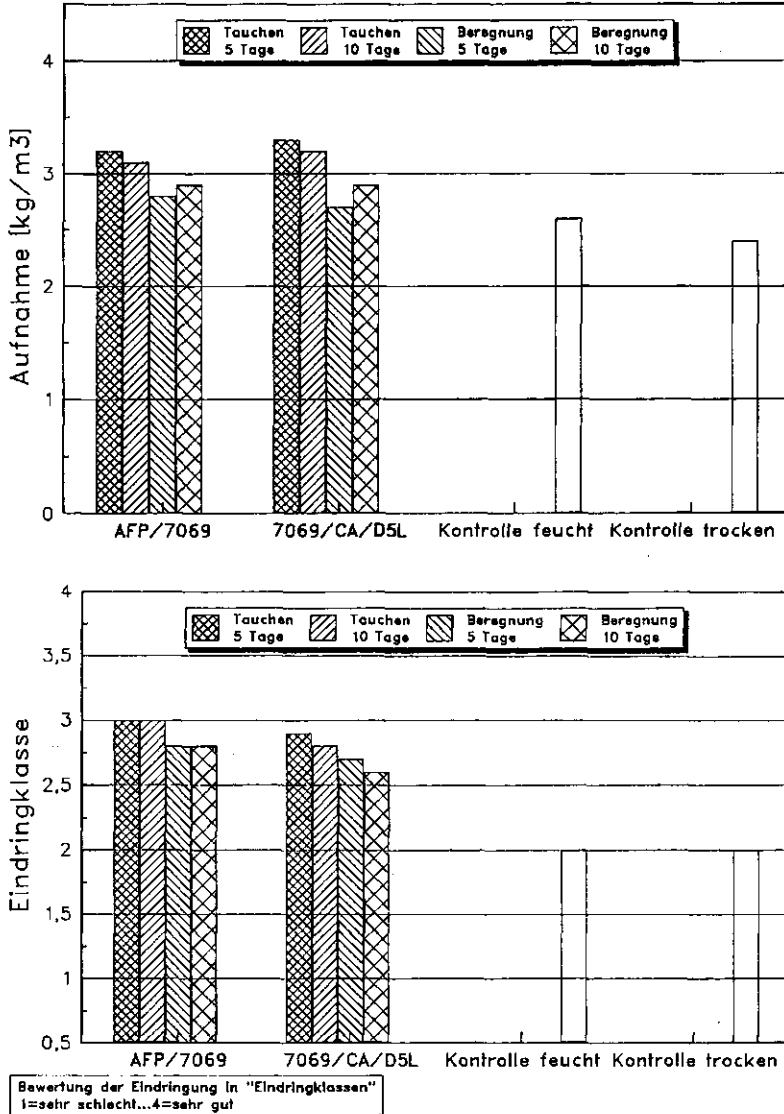


Abb. 50 a u. b: Aufnahmemenge [kg/m³] und Eindringtiefe von Holzschutzmittel in enzymvorbehandeltes und unbehandeltes Holz nach unterschiedlicher Vorbehandlung (Versuch Abschnitt 3.2.2.4/2). Die Eindringung wurde nach dem in Tab. 26 beschriebenen Schlüssel bestimmt (Klasse 1: schlechte Eindringung...Klasse 4: gute Eindringung)

3.2.3 Enzymversuche mit Schnittholz

3.2.3.1 Behandlung mit Rohament CA / DSP 5

EINLEITUNG

In dem Versuch wurde untersucht, ob eine einwöchige Vorbehandlung von Schnittholzbohlen mit einer bei den Kleinprobenversuchen erfolgreichen Enzymkombination die Aufnahme und Eindringung von Holzschutzmitteln verbessert.

MATERIAL

Holz

In diesem Versuch wurde getrocknetes Schnittholz verwendet.

<u>Herkunft</u>	Mittelgebirge Deutschland (Oberberg)
<u>Holzfeuchte bei Versuchsbeginn:</u>	ca. 12 %
<u>Abmessungen</u>	30 x 15 x 3 cm (l x b x d)
<u>Hirnflächen</u>	abgedichtet mit PVAC-Leim
<u>Probenanzahl</u>	10 in Enzym/ 10 Kontrolle

Enzym

Rohament CA / DSP5 (2 % + 2%) wurden in 0.1 M Citronensäure/ Phosphatpuffer (pH 5) gelöst und als Fungizid 0.01 % Natriumazid beigefügt.

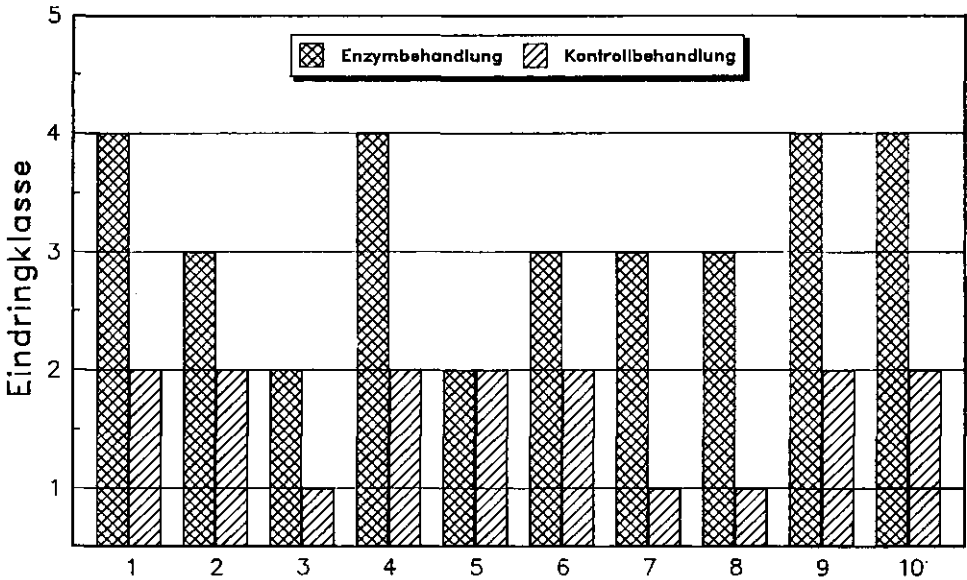
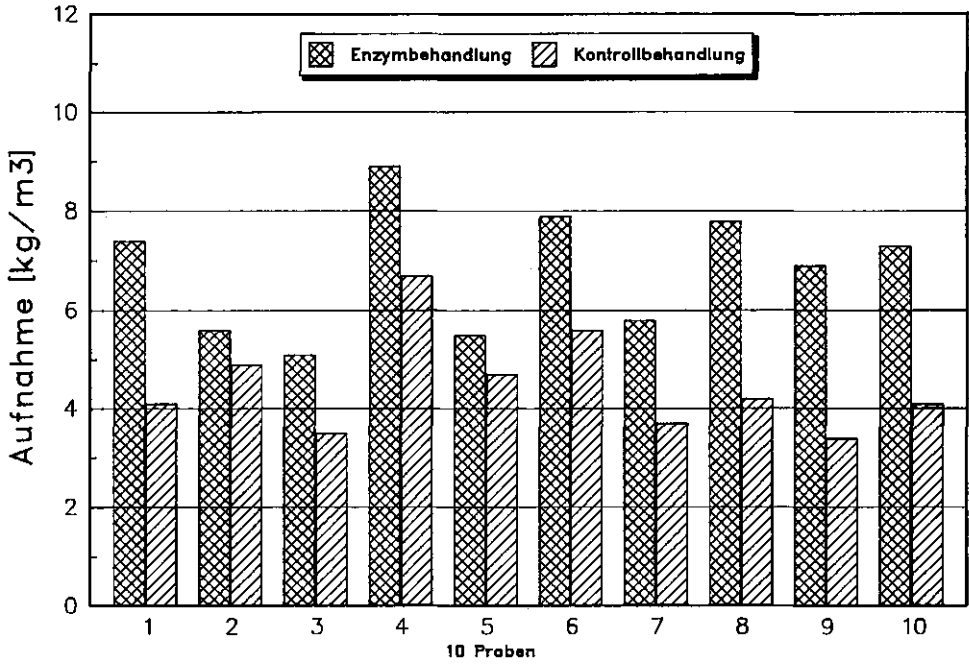
VERSUCHSDURCHFÜHRUNG

Die Proben wurden in einer Kesseldruckanlage (1 h Vacuum/ 2 h Druck 8 bar) mit der Enzymlösung imprägniert. Anschliessend wurde das Holz untergetaucht in Plastikwannen 7 Tage bei 40 °C gelagert. PH-Messungen wurden regelmässig durchgeführt. Nach der Enzymbehandlung wurde das Holz auf ca. 20 % Holzfeuchte klimatisiert und dann im Kesseldruckverfahren (1 h Vacuum/ 2 h Druck 8 bar) mit einem wasserlöslichen Holzschutzmittel (CKB-Salz, 3 %) getränkt. Die Aufnahme an Holzschutzmittel wurde errechnet und nach Trocknung der Proben und mittigem Auftrennen die Eindringtiefe des Schutzmittels optisch beurteilt. Eine Klassifizierung der Eindringtiefe erfolgte in 4 Eindringklassen (siehe Tab. 26).

ERGEBNISSE

Bei Beendigung der Enzymbehandlung fiel zunächst auf, dass die enzymbehandelten Proben im Vergleich zu den unbehandelten Proben sehr schwer waren und auch langsamer trockneten als diese. Dieses war auch bereits bei einigen Rundholzversuchen festgestellt worden.

Die Schutzmittelaufnahme und -eindringung bei enzymbehandelten und unbehandelten Proben zeigt Abb. 51 a u. b. Alle behandelten Proben nehmen mehr Holzschutzmittel auf als unbehandelte. Zudem dringt das Mittel tief in die Proben ein.



Bewertung der Eindringung in "Eindringklassen"
 1=sehr schlecht...4=sehr gut
 10 Proben

Abb. 51 a u. b: Aufnahme [kg/m³] und Eindringung [Eindringklasse] von Holzschutzmittel in 10 enzymbehandelte und unbehandelte Schnittholzproben (Versuch Abschnitt 3.2.3.1).

Bei der optischen Beurteilung fällt jedoch auf, dass die Eindringung über den Probenquerschnitt gesehen nicht regelmässig ist, sondern an manchen Stellen viel besser ist als anderen. Bei einigen Proben ist zudem erkennbar, dass die Eindringung ins Kernholz geringer ist als ins Splintholz.

3.2.3.2 Variation der Behandlungsdauer

EINLEITUNG

Der folgende Versuch wurde durchgeführt, um den Effekt der an Kleinproben wirksamen Enzyme auch an Schnittholz zu untersuchen. Er wurde zeitgleich mit dem in *Abschnitt 3.2.2.3* beschriebenen Rundholzversuch ausgeführt.

MATERIAL

Holz

Für diesen Versuch wurde gehobeltes Schnittholz verwendet. Aus langen Brettern wurden hintereinanderliegende Proben entnommen und verschieden behandelt. In jede Behandlung wurden 10 Proben eingebracht.

<u>Herkunft</u>	Niederlande, Provinz Brabant
<u>Holzfeuchte</u>	ca. 14 %
<u>Abmessungen</u>	13.8 x 12 x 1.6 cm (l x b x d)

Enzyme

Die folgenden Enzyme wurden für die Behandlung des Schnittholzes jeweils in einer 0.5 % Konzentration in 0.1 M Natriumacetatpuffer (ph 5) gelöst.

- Rohament 7069 + Rohament D5L (0.5 % + 0.5 %)
- Rohament CA + Rohament D5L (0.5 % + 0.5 %)
- Rohament 7069 + Pectinex 3xL (0.5 % + 0.5 %)

VERSUCHSDURCHFÜHRUNG

Das Schnittholz wurde in einer Kesseldruckanlage kurzzeitig mit Enzymlösung getränkt (1 h Vacuum/ 1 h Druck 8 bar) und dann in Plastikwannen bei 20 °C in der Lösung belassen. Ein Teil der Proben wurde nach 5 Tagen, der andere Teil der Proben nach 10 Tagen aus dem Enzymbad genommen. Bei der Enzymbehandlung nehmen die Proben erheblich an Gewicht zu. Deshalb wurde alles Holz 4 Wochen bei 20 °C / 60 % relativer Luftfeuchte getrocknet.

ERGEBNISSE

In *Abb. 52 a u. b* ist die aufgenommene Menge an Holzschutzsalz/ m³ und die Eindringtiefe des Salzes für die verschiedenen Enzymbehandlungen getrennt wiedergegeben. Alle Enzymbehandlungen verbessern die Aufnahme und die Eindringung von Holzschutzmitteln erheblich. Bereits nach 5 Tagen Behandlungszeit

wird bei den enzymbehandelten Proben ca. 2-3 mal mehr Holzschutzmittel aufgenommen als bei den Proben ohne Vorbehandlung. Dabei erzielten alle Enzymkombinationen gute Resultate.

Durch eine längere Behandlung werden lediglich die mit CA/D5L behandelten Proben noch aufnahmefähiger. Bei beiden anderen enzymatisch vorbehandelten Probenreihen verschlechtert sich die Aufnahme im Vergleich zur 5 Tage dauernden Vorbehandlung sogar. Die gleiche Tendenz wurde bereits bei dem Versuch mit Rundholzproben (3.2.2.3) beobachtet. Eine eindeutige Erklärung hierfür kann auch hier nicht gegeben werden.

Bereits bei den anderen Enzymversuchen mit Kleinproben und Schnittholz zeigte sich, dass das Kernholz trotz gleicher Enzymbehandlung weniger Holzschutzmittel aufnimmt als das Splintholz. Dies war auch in diesem Versuch so. Bei der Beurteilung der Eindringtiefe des Schutzmittels wurde neben dem Gesamtbild der Eindringung (Abb. 52 b) auch die Eindringung getrennt für Splint- und Kernholz derselben Proben (Abb. 52 c) bewertet. Dabei ist gut zu erkennen, dass das Kernholz der Proben durch die Enzymbehandlung im Vergleich zum unbehandelten Holz zwar auch aufnahmefähiger wird, jedoch weitaus geringer als das Splintholz derselben Probe.

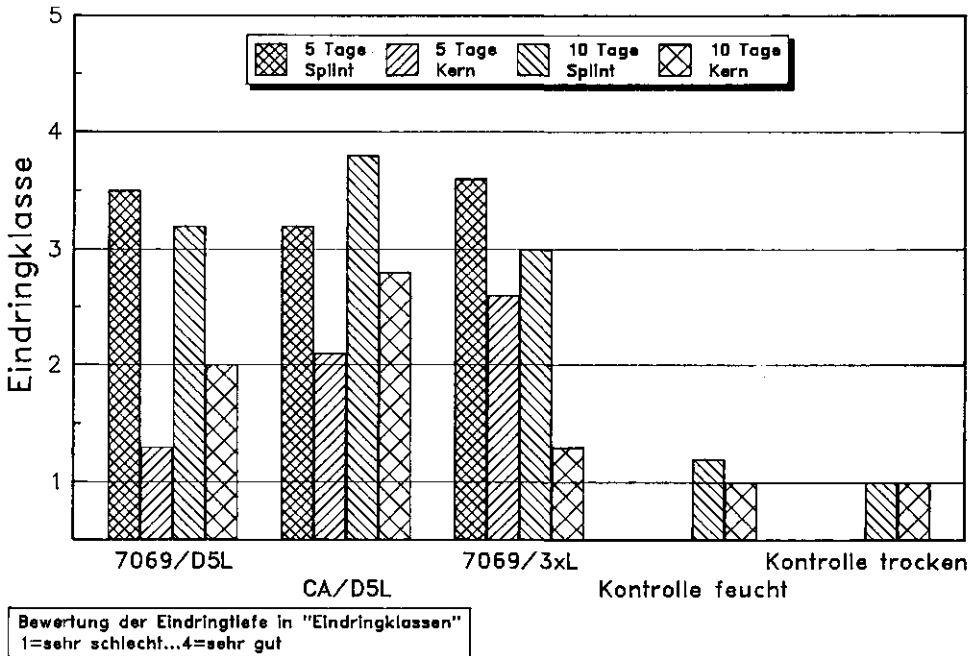
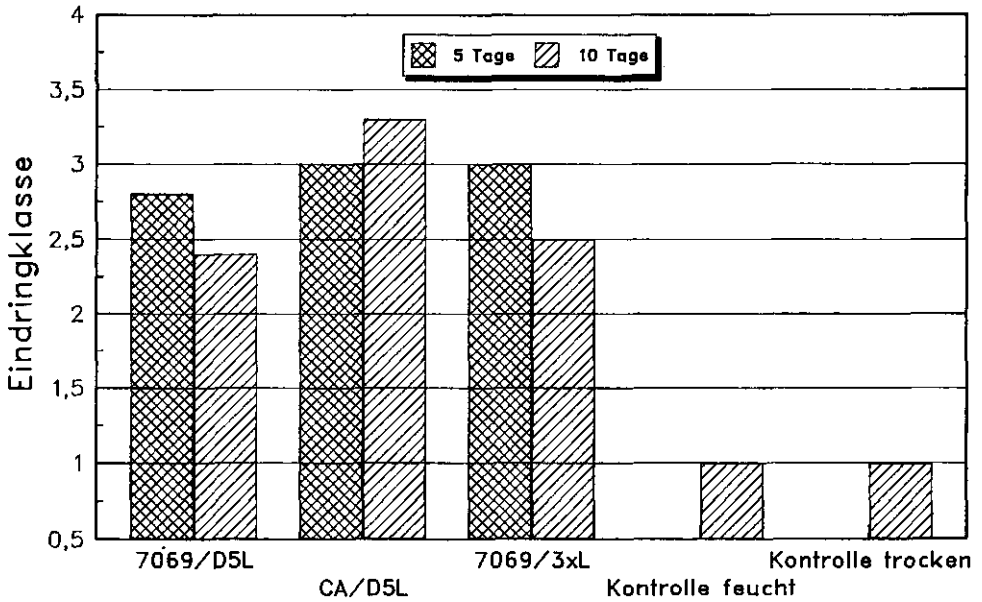
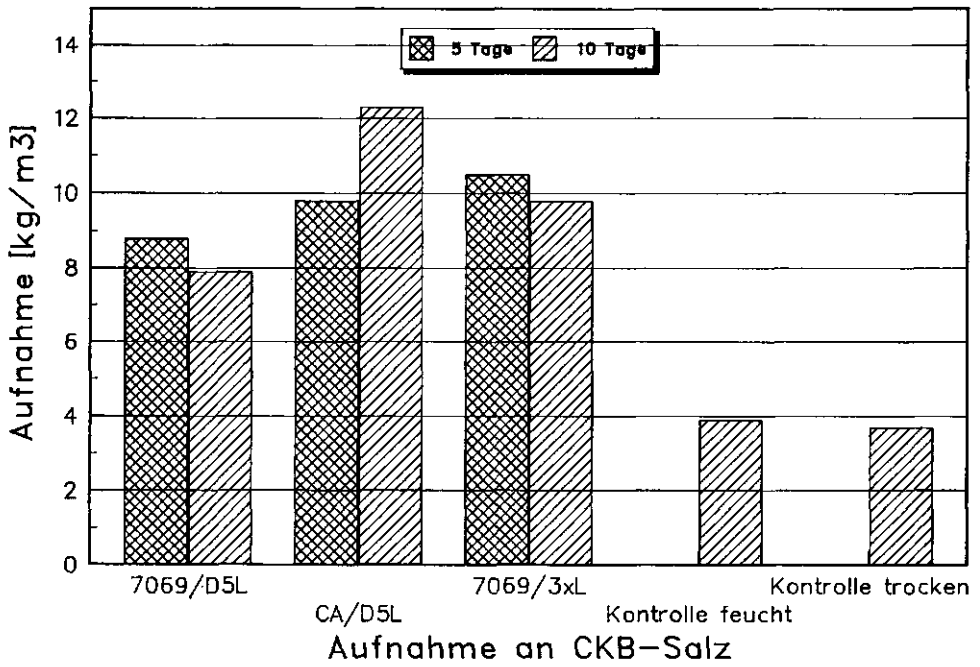
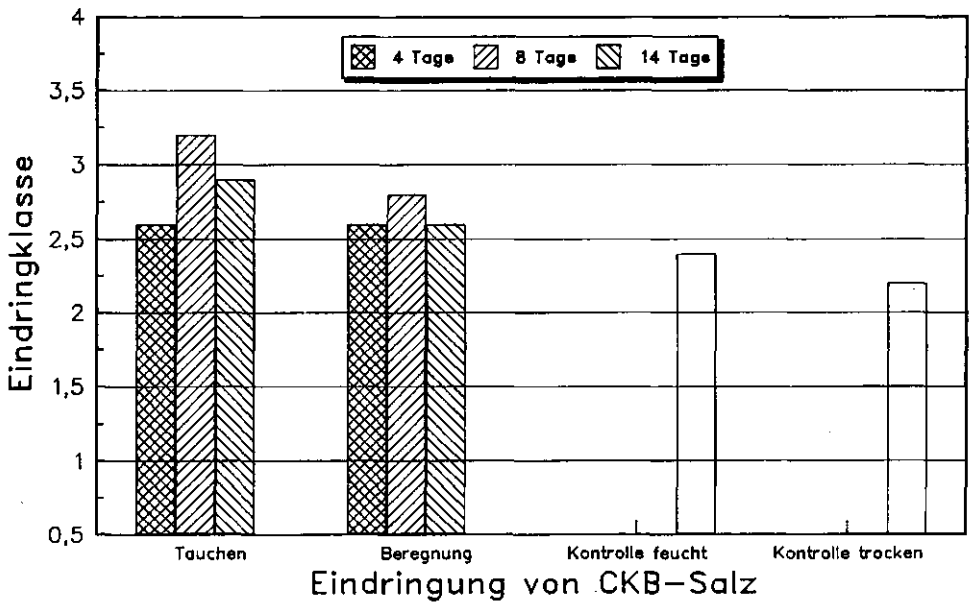
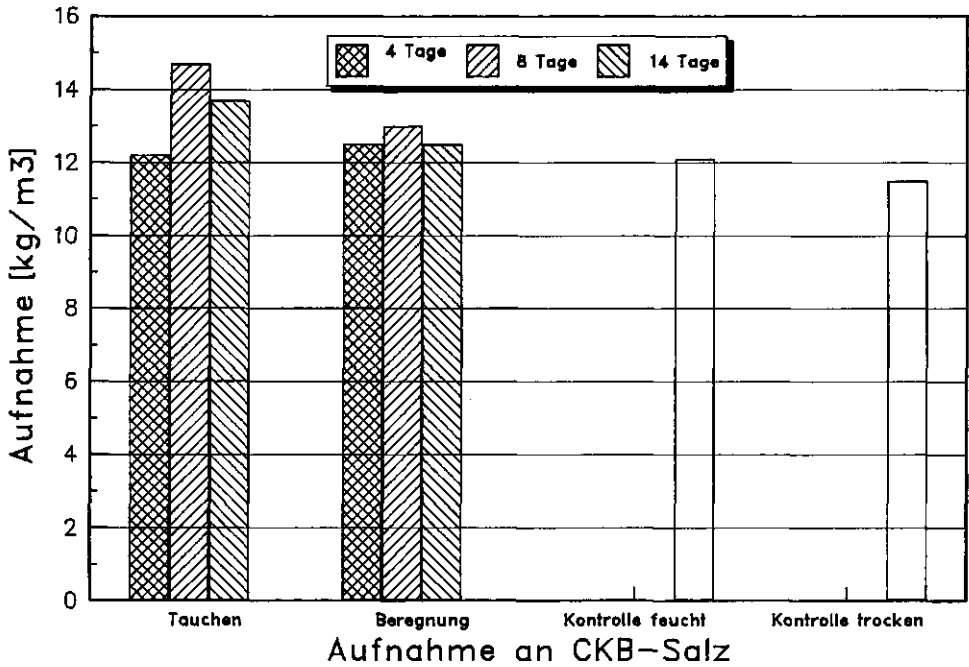


Abb. 52 c: Vergleich der Eindringtiefe von Schutzmittel in enzymbehandeltes und unbehandeltes Kern- und Splintholz der selben Probe (Versuch Abschnitt 3.2.3.2).



Bewertung der Eindringtiefe in "Eindringklassen"
 1=sehr schlecht...4=sehr gut

Abb. 52 a u. b: In Holzschutzbehandlung (1 h Vac/ 2 h Druck 8 bar) aufgenommene Menge Salz [kg/m³] sowie dessen Eindringung in enzymbehandeltes und unbehandeltes Schnittholz (Versuch Abschnitt 3.2.3.2, Mittelwert von 10 Proben)



Bewertung der Eindringung in "Eindringklassen"
 1=sehr schlecht...4=sehr gut

Abb. 53 a u. b: Aufnahmemenge und Eindringtiefe von Holzschutzmittel in enzymvorbehandeltes und unbehandeltes Holz nach unterschiedlicher Vorbehandlung (Versuch Abschnitt 3.2.3.3/1). Die Eindringung wurde nach dem in Tab. 26 beschriebenen Schlüssel bestimmt (Klasse 1: schlechte Eindringung...Klasse 4: gute Eindringung)

3.2.3.3 Beregnung mit Enzymen

EINLEITUNG

Im vorliegenden Versuch wurde untersucht, ob eine Beregnung des Schnittholzes mit Enzymflüssigkeit anstelle der Lagerung in der Flüssigkeit ebenfalls zu guten Resultaten führt.

1. Versuchsteil: Beregnung mit Maxazym CL 2000

In diesem Versuch wurde die Wirksamkeit des bei Holzmehl sehr effektiven Enzyms Maxazym CL 2000 auf Schnittholz untersucht. Dieser Versuch wurden zeitgleich mit dem in 3.2.2.4 beschriebenen Rundholzversuch durchgeführt.

MATERIAL

Holz

Es wurde sägerauhes Schnittholz mit unbekanntem Splint-/Kernholzanteil verwendet. Am Jahrringverlauf zu erkennen, enthielten die Proben überwiegend Kernholz.

<u>Herkunft</u>	Nordschweden
<u>Holzfeuchte</u>	ca. 10 %
<u>Abmessungen</u>	20 x 20 x 4 cm (l x b x d)
<u>Hirnflächen</u>	abgedichtet mit Epoxy
<u>Pro Behandlung</u>	5 Proben

Enzym

1 % Maxazym CL 2000 gelöst in entmineralisiertem Wasser. Als Fungizid wurde 0.01 % Natriumazid zugefügt.

VERSUCHSDURCHFÜHRUNG

Die Schnittholzberegnungsversuche wurden mit der gleichen Methode wie die Rundholzberegnungsversuche ausgeführt. Für die Beschreibung der Versuchsdurchführung wird deshalb auf *Abschnitt 3.2.2.4* verwiesen.

ERGEBNISSE

Auch dieser Versuch belegt erneut (vgl. *Abb. 53 a u. b*), dass sich durch eine Enzymbehandlung die Imprägnierbarkeit des Fichtenholzes verbessern lässt. Ob dieser Effekt mit dem in diesem Versuch verwendeten Enzym CL 2000 grösser ist als mit denen, die in den vorherigen Versuchen verwendet wurden, lässt sich aufgrund der Verschiedenheit des Ausgangsmaterials (Holz anderer Abmessungen und anderer Herkunft, zum Teil Kernholz) sowie der anderen Imprägnierbehandlung nicht erkennen.

Wie auch bei den Rundholzproben sichtbar, ist nach 4 Tagen Vorbehandlung mit

CL 2000 noch keine deutliche Verbesserung in der Aufnahme und Eindringung des Schutzmittels zu erkennen. Erst nach 8 Tagen ist die Wirkung sichtbar. Die 10-tägige Behandlung führt im Vergleich zur 8 Tage dauernden Behandlung zu keiner weiteren Verbesserung. Vielmehr scheint es sogar so zu sein, dass die Aufnahme geringfügig schlechter ist als nach einer 8-tägigen Vorbehandlung.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass die Beregnung des Holzes mit Enzymlösung anstelle der Lagerung der Proben im Enzymbad zwar zu etwas geringeren Holzschutzmittelaufnahmen und Eindringungen führt, diese aber nach 8 Tagen höher als die der unbehandelten Proben liegen. Bei der Bewertung der Eindringtiefe fällt auf, dass einige Zonen im Holz bedeutend schlechter imprägniert waren als andere. Dem Jahringverlauf zufolge handelt es sich bei diesen Bereichen um Kernholz.

2. Versuchsteil: Beregnung mit Enzymkombinationen

MATERIAL

Holz

In diesem Versuch wurde zunächst frisch gesägtes Schnittholz auf ca. 15 % Holzfeuchte getrocknet. Dann fand eine Verteilung der im Stamm hintereinanderliegenden Holzproben auf die verschiedenen Behandlungen statt. Je Behandlung wurden 5 Holzproben in den Versuch eingebracht.

<u>Herkunft</u>	Niederlande, Provinz Gelderland
<u>Holzfeuchte</u>	ca. 15 %
<u>Abmessungen</u>	20 x 2.4 cm (l x d); unterschiedliche Breiten
<u>Hirnflächen</u>	mit Epoxy abgedichtet

Enzyme

Die folgenden Enzymkombinationen wurden in 1.5 % Gesamtkonzentration in Wasser gelöst; als Fungizid wurde Na-benzoat in 0.1 % Konzentration zugefügt.

- Rohament 7069 + Ultrazym AFP (0.75 % + 0.75 %)
- Rohament 7069 + Rohament CA + Rohament D5L (0.5 % + 0.5 % + 0.5 %)

VERSUCHSDURCHFÜHRUNG

Für die Beschreibung der Versuchsdurchführung siehe *Abschnitt 3.2.2.4/2*.

ERGEBNISSE

Bei diesem Beregnungsversuch ist die Enzymkombination AFP/ 7069 wirksamer als die Kombination 7069/ CA/ D5L. Die höhere Wirksamkeit äussert sich in grösseren Aufnahmemengen und besseren Eindringtiefen des Schutzmittels bei der Vac/Drucktränkung (siehe *Abb. 54 a u. b*). Bei den Proben war, wie auch bereits bei allen anderen Versuchen mit Schnittholz, eine geringere Eindringung im Kernholz im Vergleich zum Splintholz derselben Probe zu erkennen.

Die Beregnung mit Enzymen führte bei diesem Versuch zu ebenso guten Resultaten wie die Lagerung der Proben im Enzymbad. Diese Methode der Enzymbehandlung ist für die praktische Anwendung sehr interessant, da für die Beregnung von grossen Mengen Holz anstelle der Lagerung in Enzym-Tauchbädern ein geringerer technischer und finanzieller Aufwand notwendig ist.

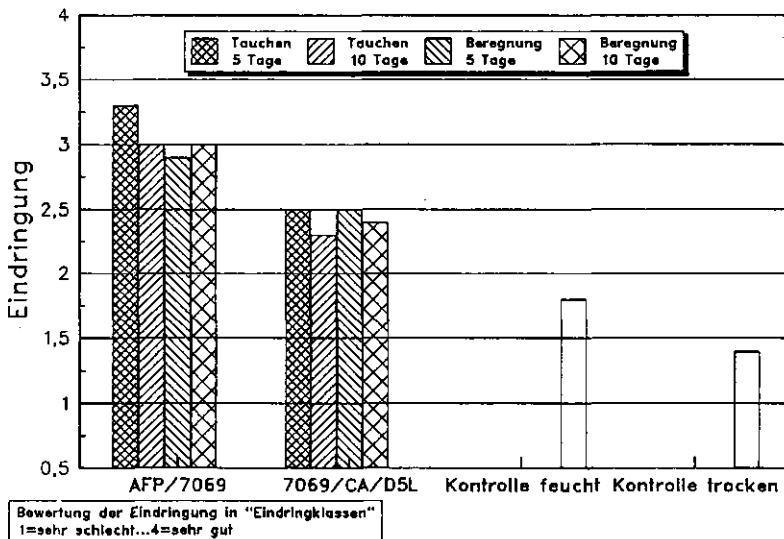
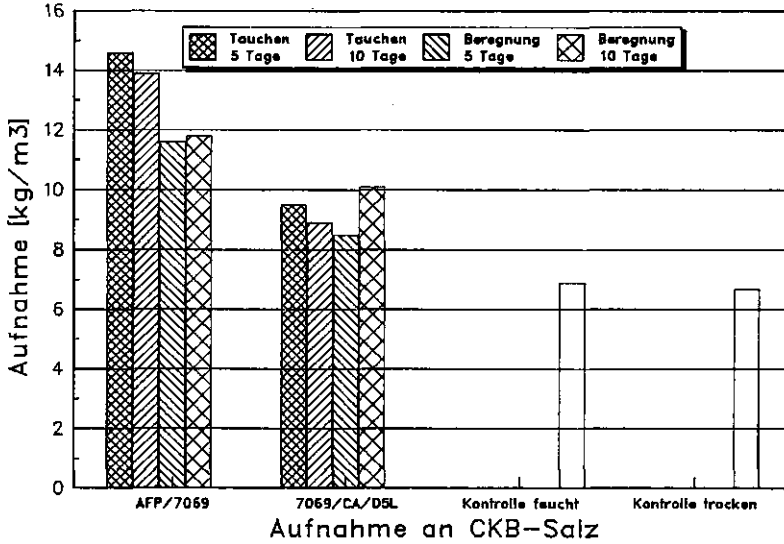


Abb. 54 a u. b: Aufnahmemenge und Eindringtiefe von Holzschutzmittel in enzymvorbehandeltes und unbehandeltes Schnittholz nach unterschiedlicher Vorbehandlung (Versuch Abschnitt 3.2.3.3/2). Die Eindringung wurde mit dem in Tab. 26 beschriebenen Schlüssel bestimmt (Klasse 1: schlechte Eindringung....Klasse 4: gute Eindringung)

3.2.3.4 Kurztauchversuch

EINLEITUNG

Bei diesem Versuch sollte der Frage nachgegangen werden, ob ein kurzzeitiges Tauchen (von 1h bis hin zu 24h) des getrockneten Holzes in ein Enzymbad (anstelle einer Imprägnierung mit Enzymen im Kesseldruckverfahren) mit anschliessender mehrtägiger Lagerung in feuchtem Milieu zu verbesserten Schutzmittelaufnahmen führt.

MATERIAL

Holz

Luftgetrocknetes Schnittholz mit bekanntem Kern-/ Splintholzanteil (Herkunft "H1", siehe *Abschnitt 3.1.1*) wurde langsam auf ca. 12 % Holzfeuchte getrocknet und gehobelt. Die Aufteilung in die verschiedenen Teilversuche wurde so vorgenommen, dass stets aus einem Brett hintereinanderliegende Holzproben in die verschiedenen Versuchsvarianten eingebracht wurden. Die Probengrösse betrug 15 x 12.5 x 2 cm (l x b x d). Die Hirnflächen der Proben wurden mit PVAC-Leim abgedichtet.

Enzyme

Für die Versuche wurde die Enzymkombination Rohament CA / DSP5 (1 % + 1%) verwendet. Als Puffer wurde erneut ein 0.1 M Citronensäure-Phosphatpuffer (pH 4.8) verwendet, dem als Fungizid 0.01 % Natriumazid zugegeben wurde. Die Enzymtemperatur wurde während der Versuche auf 40 °C gehalten.

VERSUCHSDURCHFÜHRUNG

Ein Teil der Proben wurde in Enzymflüssigkeit getaucht; die Parallelproben blieben unbehandelt. Nach 1 h - 8 h - 24 h wurden die Proben aus den Flüssigkeiten geholt, erneut gewogen und in Plastik eingepackt, um eine feuchte Lagerung während der folgenden Tage zu erreichen. Nach diesem Tauchen wurden alle Proben 14 Tage gelagert. Nach Ablauf dieser Zeit wurde das Plastik von den Proben entfernt und die Proben auf ca. 20 % Holzfeuchte konditioniert. Bei allen Proben erfolgte dann eine Holzschutzbehandlung durch 10 min Tauchen in ein wassergelöstes Holzschutzmittel (CKB-Salz, 5 %).

ERGEBNISSE

In *Abb. 55* ist die Schutzmittelaufnahme [kg/m³] während des Tauchversuchs dargestellt. Die Enzymbehandlung führte zu einer Steigerung der Schutzmittelaufnahme. Ausserdem zeigte sich anhand der steigenden Aufnahme, dass die längere Enzymbehandlung wirksamer war als die sehr kurze.

Aufgrund dieser unterschiedlichen Aufnahmemenge wäre auch ein Unterschied in der Eindringtiefe zu erwarten gewesen. Eine Messung der Eindringtiefe des Schutzmittels ergab jedoch, dass sich die Eindringtiefe durch das Kurztauchen nicht verbessert. Das Ergebnis dieses Versuches ist somit nur teilweise zufriedenstellend: Zwar lässt sich

die Einbringmenge an Holzschutzmittel durch kurzfristiges Tauchen in einem Enzymbad verbessern; jedoch reicht diese Behandlung offenbar nicht aus, um das Holz auch in tieferen Schichten besser permeabler zu machen.

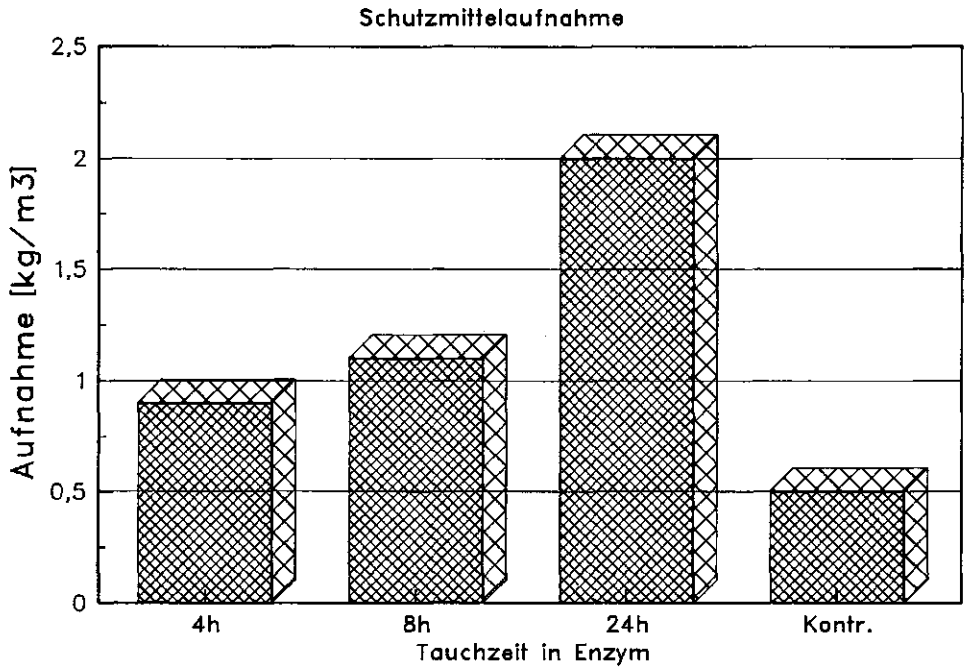


Abb. 55: Schutzmittelaufnahme [kg/m³] enzymbehandelter und unbehandelter Brettproben nach 10 min Tauchen in wasserlöslichem Holzschutzmittel.

3.3 Permeabilität von Holz gegenüber Luft und Wasser

3.3.1 Permeabilität gegenüber Luft

ALLGEMEINES

Für die Verwendung von Holz, insbesondere bei vielen technischen Verfahren, spielt die Permeabilität des Holzes für Flüssigkeiten und Gase eine wichtige Rolle. Anhand von Permeabilitätszahlen lassen sich Aufschlüsse gewinnen über Trocknungs- und Tränkverhalten von Holzarten, Eindringungsmöglichkeiten und Eindringgeschwindigkeiten von Flüssigkeiten ins Holz interpretieren (Erickson et al. 1937, Siau 1971, Böhner 1975).

Theoretische Fliessmodelle über die Permeabilität von Nadelhölzern wurden von Comstock (1970), Petty (1970) sowie Siau (1976) entwickelt, um Unterschiede im Durchflussverhalten zwischen verschiedenen Holzarten und innerhalb eines Stammes mathematisch zu erfassen.

Die Permeabilität für Flüssigkeiten und Gase wird bei Nadelhölzern in erheblichen Masse durch die Durchflussrichtung bestimmt. So ist die longitudinale Luftpermeabilität durch Werte gekennzeichnet, die 3-10 Zehnerpotenzen höher liegt als der radiale oder tangentielle Durchfluss.

Wie auch bei vielen anderen physikalischen, chemischen und biologischen Eigenschaften des Holzes beeinflussen eine Anzahl Faktoren, wie z.B. Holzfeuchte, Temperatur, Alter des Holzes, Lage im Stamm etc. die Permeabilität. Eine Diskussion und Wertung all dieser Faktoren würde jedoch im Rahmen dieser Arbeit zu weit führen.

Bellmann (1955) wies darauf hin, dass bei Nadelhölzern die Position und der Zustand der Hoftüpfel als Verbindungspforten zwischen den Tracheiden von ausschlaggebender Bedeutung ist. Dies gilt auch für Permeabilitätsunterschiede zwischen Früh- und Spätholz, da im Spätholz aufgrund dickwandiger Zellwände und Tüpfelmembranen mit weniger Tüpfelverschluss zu rechnen ist als bei den dünnwandigen Frühholzzellen. Bei Kernholz und Splintholz spielt neben den Unterschieden im Hoftüpfelverschluss (im Kernholz von Fichte sind ca. 90% der Tüpfel geschlossen, im Splintholz je nach Position und Trocknungszustand 30 -80 %; Bonsen 1987) auch die Einlagerung von Extraktstoffen eine Rolle (Cote u. Kraemer 1962, Charuk et al. 1973).

Für die vorliegenden Versuche war es aus diesem Grunde interessant zu ermitteln, in wieweit sich die Permeabilität von Fichtenholz durch eine Enzymvorbehandlung verändert. Anhand von Versuchen von Adolf et al. (1972), bei denen bakterieller Hoftüpfelabbau zu erhöhter Permeabilität führte, war mit Erhöhung der Permeabilität zu rechnen.

3.3.1 Permeabilität von Holz gegenüber Luft

Permeabilitätsmessungen mit Luft wurden auf einer speziell für diesen Zweck erstellten Testapparatur (Polaczek 1980, siehe Abb. 57) durchgeführt. Diese Anlage bietet den Vorteil, dass auch Luftdruck kleiner 0.01 bar exakt reguliert werden kann.

Als geeigneter Druck wurde nach Vorversuchen mit unbehandelten Holzproben 0.003 bar gewählt. Bei konstantem Druck wird dann die Durchflussmenge durch eine Holzprobe pro Zeiteinheit gemessen. Für die Messungen wurden zylinderförmige Proben, Durchmesser 15 mm, mit einem Spezialbohrer angefertigt und auf die Probenlänge 20 mm gekürzt. Aufgrund der sehr geringen radialen und tangentialen Permeabilität des Holzes wurden bei allen Versuchen stets Messungen in longitudinaler Richtung durchgeführt.

Die Holzproben und auch die Messanlage befanden sich in einem Klimaraum (20 °C, 60% r.F.), um für alle Proben die gleichen Bedingungen zu schaffen und Einflussfaktoren wie unterschiedliche Holzfeuchte, Temperatur etc. so gering wie möglich zu halten.

Vorversuche

Ein Problem der Luftpermeabilitätsmessungen liegt in der geringen Reproduzierbarkeit der Versuche (Polaczek 1980). Dafür ist vor allem eine ungenügende seitliche Probenabdichtung verantwortlich, so dass bei höherem Druck die Luft nicht nur durch den Probenquerschnitt gelangt, sondern seitlich an den Proben vorbeiströmen kann. Dadurch wird das Messergebnis stark verfälscht. Zur Vermeidung dieses Fehlers wurden im Rahmen der eignen Versuche verschiedene Abdichtungsmöglichkeiten ausprobiert, die im folgenden kurz genannt und gewertet werden:

- a. Zylinderproben werden in einen Polyäthylenschlauch eingeführt und mit einer Schlauchklemme abgedichtet. Diese Methode führt zu unbefriedigenden Ergebnissen. Die Schwankungen im Durchfluss sind erheblich und die Reproduzierbarkeit gering.
- b. Holzproben werden mit Epoxidharz eingegossen und dann in einen PVAC-Schlauch eingeführt. Die Ergebnisse dieser Methode sind besser als bei a. Jedoch weisen die schwankenden Werte auf die Möglichkeit hin, dass durch eine unregelmässige Eindringung des Epoxids in die Proben der für den Luftdurchfluss zur Verfügung stehende Querschnitt unregelmässig eingeschränkt wird und dadurch das Ergebnis verfälscht wird.
- c. Als weitaus einfacher und zugleich besser stellte sich folgende Methode heraus: die Holzproben wurden in einen thermischen Schrumpfschlauch eingeführt. Auf die Enden dieses Schlauches wurden Verbindungsstücke aufgesetzt (siehe Abb. 58). Mit einer Heissluftpistole wurde diese Einheit erwärmt, so dass sich der Schlauch durch starkes Schrumpfen eng an die Holzprobe andrückt.

Wiederholte Durchflussversuche nach 0 Std, 24 Std, 72 Std belegten, dass die kurzzeitige Erhitzung der Proben keinen messbaren Einfluss auf die Permeabilität hatte. Befreiung der Proben aus dem Schwindschlauch und erneutes Einschweissen mit nachfolgender Durchflussmessung zeigten darüberhinaus, dass diese Methode der Probenabdichtung zu gut reproduzierbaren Ergebnissen führt. Die durch die Proben geflossene Luftmenge wurde stets nach 60 sec, 120 sec, 180 sec, 240 sec und 300 sec gemessen.

ERGEBNISSE

Luftpermeabilität von unbehandeltem Holz

Für Permeabilitätsmessungen an unbehandeltem Splintholz und Kernholz wurde Holz der gleichen Herkunft wie bei den Enzymversuchen an Kleinproben (siehe *Abschnitt 3.1, Holz "H1"*) verwendet. Die Proben wurden mit einem scharfen Lochbohrer ausgefräst. In der Stammachse hintereinanderliegende Proben wurden mit a und b gekennzeichnet. *Abb. 56 a-d* zeigt die Ergebnisse dieser Messungen. Zu erkennen ist, dass die in 60 sec durchgeflossene Luftmenge während des Versuchszeitraumes für die Einzelprobe konstant bleibt und noch im Messzeitraum 240-300 sec den gleichen Wert besitzt.

Im Stamm hintereinander liegende Proben erreichen dabei Werte in vergleichbarer Grössenordnung. Dagegen bestehen zwischen den aus verschiedenen Stammstücken entnommenen Proben Unterschiede in der Durchflussmenge.

Kernholzproben waren in den hier vorliegenden Versuchen weniger luftdurchlässig als Splintproben. Auffallend ist hierbei jedoch auch, dass die Variation im Kernholz zwischen gut und schlecht durchlässigen Proben grösser ist als im Splintholz.

Luftpermeabilität von enzymbehandeltem Holz

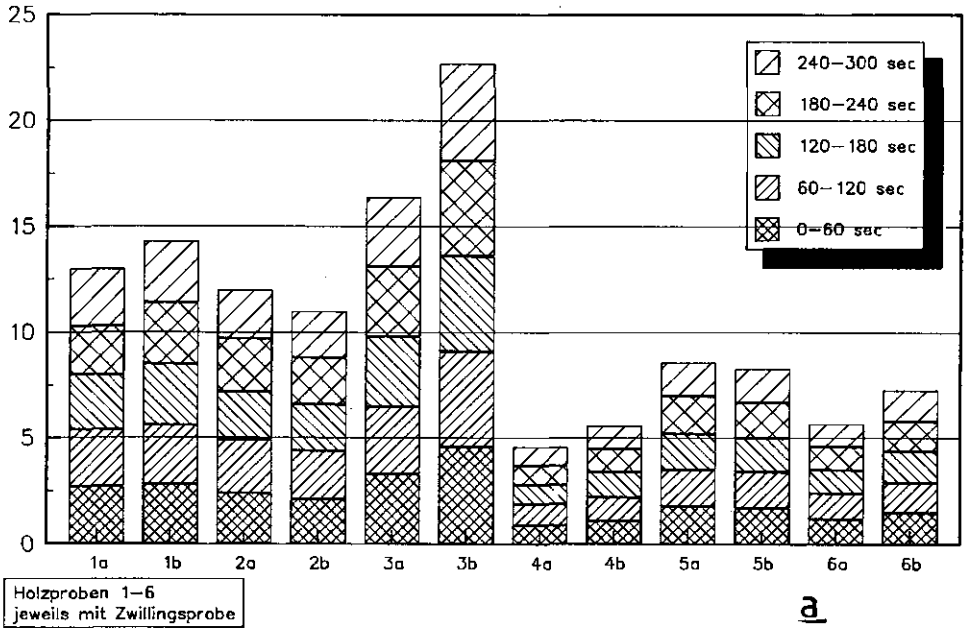
Für diesen Versuch wurden Holzproben aus dem gleichen Stammstück wie bei den unbehandelten Proben entnommen und in Enzymversuchen mit Rundholzproben (siehe *Abschnitt 3.2*) mitbehandelt. Die Enzymbehandlung mit 1 % Rohament CA und 1 % DSP 5 dauerte 12 Tage. Nach der Behandlung wurden die Proben auf die gleiche Holzfeuchte wie die der unbehandelt geprüften Proben konditioniert (ca. 12 %). Die Permeabilitätsmessungen erfolgten einige Wochen nach Beendigung der Enzymversuche.

Die Ergebnisse sind in *Abb. 56* abgebildet. Erstaunlicherweise zeigen sowohl die enzymbehandelten Kernholzproben als auch die Splintholzproben entgegen der Erwartung keine höhere Luftpermeabilität als die unbehandelten. Es ist sogar zu konstatieren, dass die Durchflussmenge pro Zeiteinheit geringer ist als bei den unbehandelten Proben. Dieses Ergebnis ist umso überraschender, da Tränkversuche mit den zur gleichen Zeit behandelten Rundholzproben zeigten, dass die Eindringtiefe von Holzschutzmitteln durch die Behandlung mit CA/DSP 5 stark zunimmt, folglich also auch die Permeabilität des Holzes für Flüssigkeiten.

Eine Erklärung für dieses Ergebnis könnte darin bestehen, dass die bei der Enzymbehandlung zum Teil abgebauten Zellwandpartikel und Hoftüpfelmembranen noch in den Zelllumina und Hoftüpfeln vorliegen. Die Luft, die bei den hier beschriebenen Permeabilitätsversuchen mit sehr niedrigem Luftdruck (0.003 bar) durch die Proben strömt, wird durch solche Verstopfungen in ihrem Fluss behindert. Bei der Tränkung des Holzes mit Holzschutzmitteln müssen diese Verstopfungen nicht zwangsläufig hinderlich sein, da bei den angewandten Tränkverfahren ein weitaus höherer Druck über einen längeren Zeitraum vorherrschte.

Für weitere vergleichende Versuche schien die Messung der Luftpermeabilität aus den eben genannten Gründen nicht sinnvoll. Vielmehr sollte die Permeabilität der Proben gegenüber wässrigen Lösungen bei höherem Druck untersucht werden.

Durchfluss Luft [ml/min]



Durchfluss Luft [ml/min]

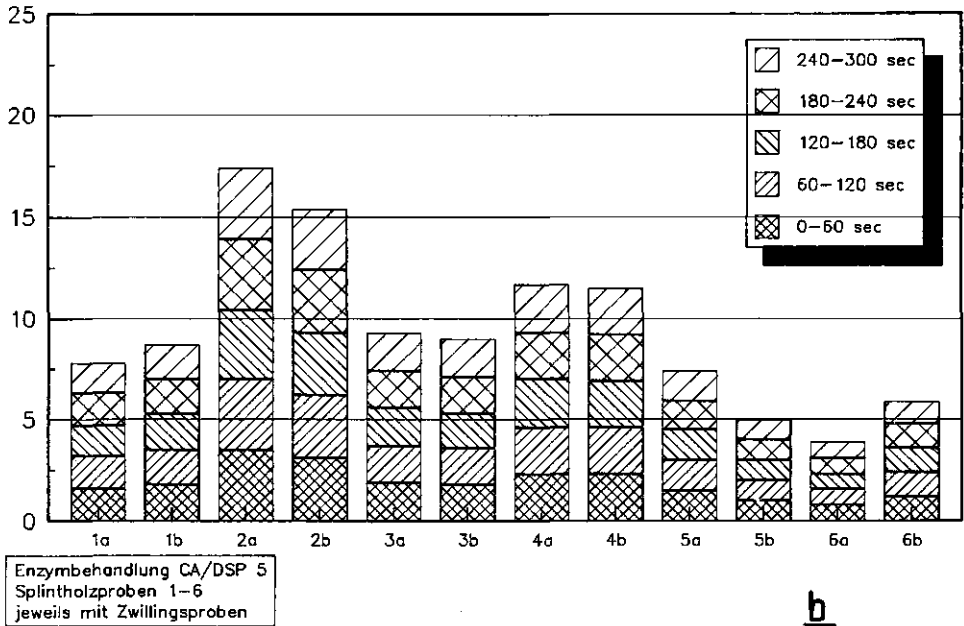
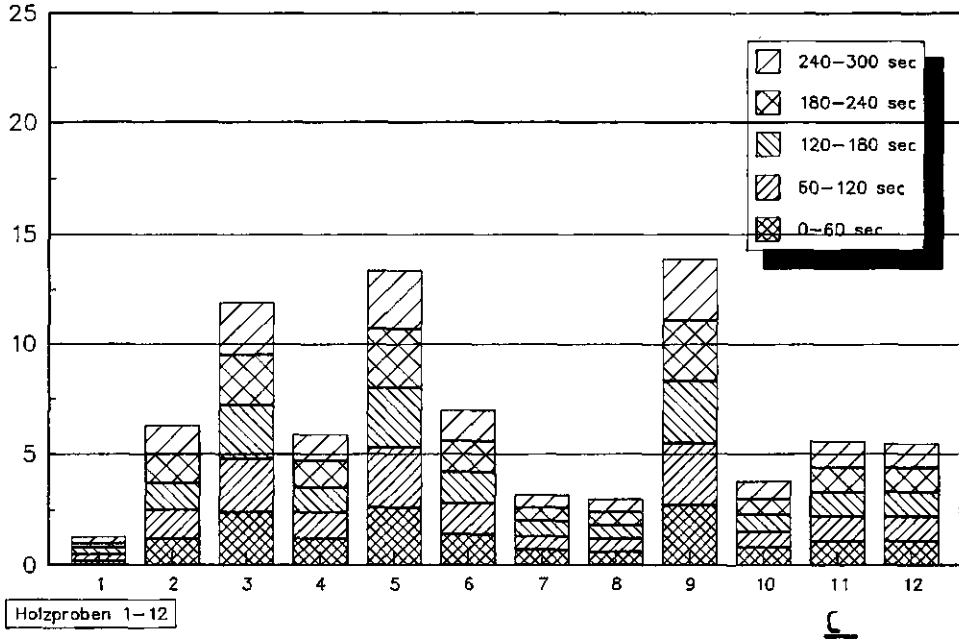
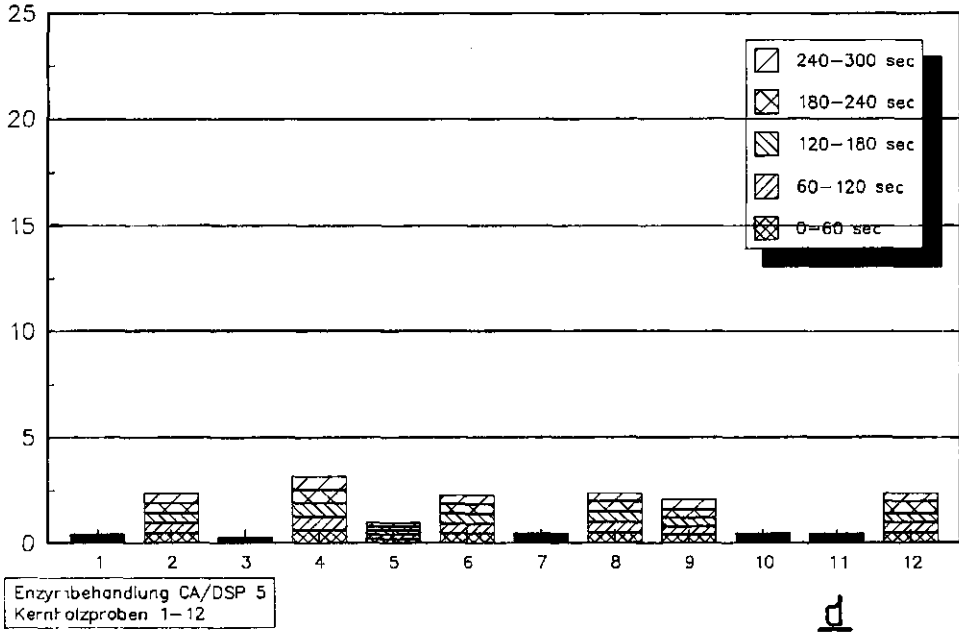


Abb. 56 a-d: Permeabilität enzymbehandelter und un behandelter Splintproben (Abb. a, Abb.c) bzw. Kernproben (Abb. b, Abb. d) gegenüber Luft. Angegeben ist die im Zeitraum von 60 sec durch die Proben geflossene Menge Luft [ml], getestet mit Messanlage siehe Abb. 57.

Durchfluss Luft [ml/min]



Durchfluss Luft [ml/min]



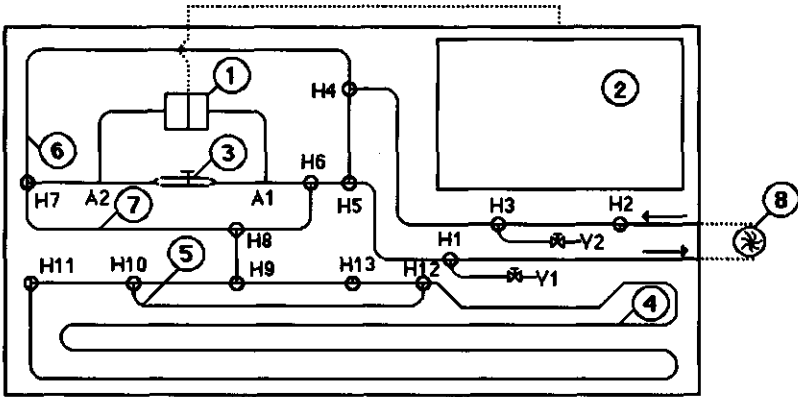


Abb. 57: Versuchsanlage zur Messung der Luftdurchlässigkeit von Holzproben (aus: Polaczek 1980)

- 1 = induktiver Differenzdruckaufnehmer
- 2 = Messverstärker
- 3 = Probeneinspannung
- 4 = Mäanderförmige Messröhre (Ablesegenauigkeit 0.1 cm^3)
- 5 = Messröhre mit Ablesegenauigkeit 0.01 cm^3
- 6 = Vacuumschlauch
- 7 = Schlauch für Volumenmessung der durchgeströmten Luft
- 8 = Druck/ Vacuumpumpe

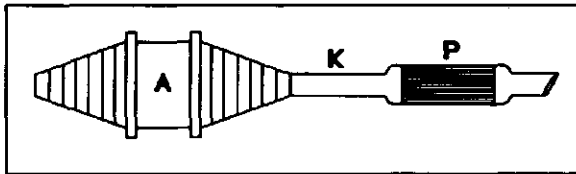
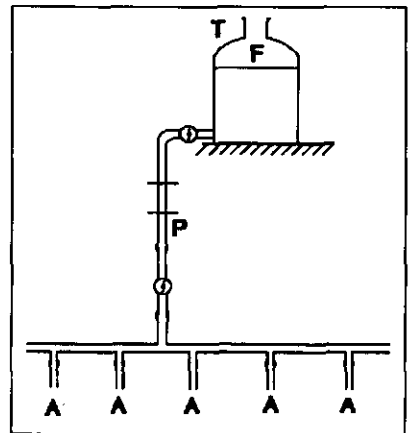


Abb. 58: Holzprobe (P), eingeschweisst in Schwindschlauch (K) mit Anschlussstück (A)

Abb. 59: Messanlage für die Bestimmung der Wasserdurchlässigkeit von Holzproben (Probenhalterung siehe Abb. 58).

- T = Wassertank
- F = Flüssigkeitsspiegel
- A = Anschlussstück für Holzproben (siehe Abb. 58)
- P = Plastikschlauch



3.3.2 Permeabilität von Holz gegenüber Wasser

Messanlage und Messmethode

Bei der Tränkung von Holz mit wässrigen Holzschutzmitteln quillt die Zellwand aufgrund der Wasseraufnahme auf. Die Permeabilität des Holzes in diesem gequollenen Zustand ist sicherlich durch andere Faktoren gekennzeichnet als die Durchlässigkeit des Holzes gegenüber Luft. Deshalb und wegen der vorher beschriebenen Probleme bei den Luftpermeabilitätsmessungen wurde zusätzlich die Wasserpermeabilität der Holzproben bestimmt. Dafür musste jedoch zunächst eine Messanlage entwickelt werden (siehe Abb. 59). Umfangreiche Vorversuche mit unterschiedlichen Methoden führten zu der folgenden Messmethode:

- die Holzproben wurden auf die gleiche Weise wie die Proben bei den Luftpermeabilitätsmessungen vorbereitet und in Schwindschläuche eingeschweisst (siehe Abb. 58).
- die Proben wurden dann in einem Exikator mit Wasser getränkt und 24 h untergetaucht gehalten. Auf diese Weise sollte gewährleistet werden, dass alle Proben wassergesättigt waren.
- auf die Proben wurde während des Untersuchungszeitraumes ein konstanter Wasserdruck von 1.5 bar (15 m Wassersäule) ausgeübt.
- die durch die Proben hindurchfliessende Menge Wasser wurde in Massbechern aufgefangen und in regelmässigen Abständen gemessen [ml].

Berechnung Permeabilitätszahl

Die Durchlässigkeit des Holzes gegenüber Wasser wurde anhand der durch die Proben durchströmenden Wassermenge [ml] gemessen. Um eine auch für andere Versuchsaufstellungen und Probenabmessungen gemeingültige "Permeabilitätszahl" zu erhalten, wurde bei den meisten Versuchen diese Durchlässigkeit ins Verhältnis zur Durchstromoberfläche, der Dicke der Probe und dem ausgeübten Wasserdruck gesetzt.

Folgende Formel wurde für die Umrechnung der Wassermengen verwandt:

$$P = dV / dt * 1 / A * p * h \text{ (in Pa * s}^{-1} \text{)}$$

$$P = \text{Permeabilität [Pa * s}^{-1} \text{]}$$

$$dV/dt = \text{Volumen Flüssigkeit pro Zeiteinheit durch Probe [m}^3 \text{ / s]}$$

$$A = \text{Durchstromoberfläche [m}^2 \text{]}$$

$$p = \text{Druckunterschied [Pa]}$$

$$h = \text{Höhe (bzw. Dicke) der Probe [m]}$$

Der auf die Proben ausgeübte Druck wurde bestimmt durch den Höhenunterschied zwischen Messstelle (= Probe) und der Position des Wassertanks. Dieser betrug bei den Versuchen 15.29 m. Ausgehend von der Dichte von Wasser (1000 kg/m³) und der Gravitationskraft von 9.81 m/s² entspricht dieses einem ausgeübten Druck von 150 kPa. Die Proben hatten einen Durchmesser von 15 mm und eine Höhe von 20 mm.

ERGEBNISSE

In einer ersten Versuchsreihe wurden Wasserdurchflussmessungen an den Proben ausgeführt, die bereits für die vorher beschriebenen Luftpermeabilitätsmessungen benutzt worden waren. Die Messungen waren besonders interessant, da die Luftdurchflussmessungen ergeben hatten, dass die unbehandelten Proben permeabler waren als die mit Enzymen behandelten.

Die Ergebnisse dieser Wasserdurchflussmessungen sind in *Abb. 60 a-d* wiedergegeben. Sehr gut zu erkennen war bereits bei der ersten Messung nach 30 min, dass ein sehr grosser Unterschied zwischen den behandelten und unbehandelten Proben besteht. Die behandelten Splintproben sind um das 2 bis 4-fache durchlässiger als die unbehandelten Proben. Weitaus geringere Durchlässigkeiten zeigen die Kernproben. Unbehandelte Kernproben lassen trotz des hohen Wasserdruckes beinahe kein Wasser durchströmen (ca. 2.5-10 ml /30 min). Die behandelten Kernproben sind dagegen mit 5-25 ml /30 min viel permeabler, allerdings noch weitaus weniger durchlässig als enzymatisch behandeltes Splintholz.

Ausserdem ist zu erkennen, dass beim enzymbehandelten Splintholz und Kernholz erhebliche Unterschiede zwischen den verschiedenen Proben bestehen. Einige der getesteten Proben liessen nach der Enzymbehandlung sehr viel Wasser durchströmen, andere Proben waren trotz der Behandlung nur wenig besser als unbehandelte.

Eine andere Beobachtung wurde bei allen Versuchen, unabhängig ob enzymbehandelt oder nicht, gemacht. Bei den Messungen der Luftpermeabilität zeigte sich, dass die durchströmende Luftmenge pro Zeiteinheit während des Versuchszeitraumes von 300 sec konstant blieb. Dieses gilt für die Durchlässigkeit der Proben gegenüber Wasser nicht. Die zu verschiedenen Zeitpunkten ausgeführten Messungen zeigten einen eindeutigen Rückgang der Permeabilität der Proben mit fortlaufender Versuchsdauer. Die durchfliessende Wassermenge reduziert sich innerhalb der ersten Stunden sehr stark und nähert sich dann immer mehr einem konstanten Wert. Dieser Permeabilitätsverlauf ist in den *Abb. 61 a u. b* für einige enzymbehandelte und unbehandelte Splintproben abgebildet, gilt jedoch in gleicher Weise für die Kernholzproben.

Trotz dieser Reduktion der Durchflussmenge bei fortlaufender Versuchsdauer sind alle enzymbehandelten Proben permeabler als unbehandelte. Dass der Grund für die höhere Permeabilität nicht in unzureichender Probenabdichtung und seitlich an den Proben vorbeiströmendem Wasser liegt, wird deutlich beim Vergleich der verschiedenen "Zwillingsproben" a und b, die in fast allen Fällen ähnliche Permeabilitäten besitzen. Die Enzymbehandlung mit CA/DSP5 vergrösserte somit die Permeabilität des Splintholzes erheblich. Auch die Kernholzpermeabilität erhöhte sich gegenüber der des unbehandelten Kernholzes stark, blieb jedoch in vielen Fällen noch unter der des unbehandelten Splintholzes.

Weitere Permeabilitätsversuche

In einigen der Enzymversuche mit Kleinproben bzw. mit Rundholz oder Schnittholz (siehe *Kapitel 3*) wurden gleichzeitig Proben für Wasserpermeabilitätsmessungen enzymatisch vorbehandelt. Dafür wurde ca. 3 cm dickes und 30 cm langes Schnittholz

in den Enzymversuchen mitbehandelt, aus dem nach Ablauf der Behandlung die für die Permeabilitätsmessungen notwendigen Zylinderproben gebohrt wurden. Die verwendete Apparatur und Methode entsprach stets dem oben beschriebenen Versuchsablauf.

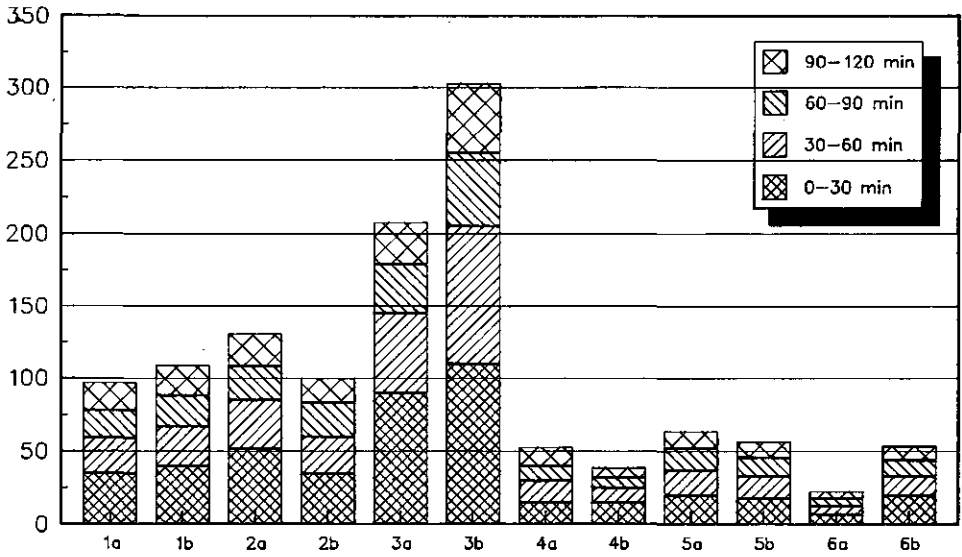
ERGEBNISSE

Um die durch eine verschiedene Holzherkunft bedingte Streuung der Messresultate (aufgrund anderer Rohdichte, Jahringbreite, Inhaltstoffe etc.) so niedrig wie möglich zu halten, wurden in allen Fällen Proben aus der gleichen Schnittholzbohle in die verschiedenen Versuche eingebracht. Trotz dieser Vorkehrung besteht die Wahrscheinlichkeit, dass das Probenmaterial bereits vor Enzymbehandlung unterschiedliche Ausgangspermeabilitäten besass. Dieses war bei dem gewählten Versuchsablauf nicht zu verhindern und solltedeshalb bei der Wertung der Ergebnisse mit beachtet werden.

Die Permeabilitätszahlen für einige repräsentative enzymatisch vorbehandelte und unbehandelte Holzproben sind im Anhang 1 graphisch dargestellt. Zu erkennen ist, dass die meisten Enzymbehandlungen die Permeabilität des Kern- und Splintholzes im Vergleich zu den unbehandelten Proben stark erhöhen. Von den getesteten Enzymen verbessert lediglich Rapidase C 80 die Permeabilität der Proben nicht oder nur geringfügig. Auch die Behandlung des Holzes mit dem Citronensäure-Phosphatpuffer erhöht in einigen Fällen die Permeabilität des Holzes, jedoch viel weniger als die meisten Enzymbehandlungen.

Bei der Begutachtung der Permeabilitätszahlen der Splintholzproben fällt weiterhin auf, dass die Enzymbehandlungen die Permeabilität nicht bei allen Holzproben in gleich starker Weise erhöhen. Einige Proben sind nach den Behandlungen sehr porös und lassen innerhalb der Testzeit mehr als 1 Liter Wasser durchströmen; andere Proben sind nach derselben Enzymbehandlung noch wenig durchgängig für Wasser. Diese sehr grosse Variationsbreite der Permeabilität bei Splintproben derselben Enzymbehandlung verhindert einen sinnvollen Vergleich zwischen den verschiedenen Enzymbehandlungen. Obwohl dies hier der Fall ist, lässt sich aber feststellen, dass die Behandlungen nicht bei allen Holzproben die Permeabilität gleich stark erhöhen. Das wird deutlich beim Vergleich der behandelten und unbehandelten Splintproben, besonders jedoch bei den Kernproben. Die meisten Enzymbehandlungen erhöhen die Kernholzpermeabilität, die Werte liegen jedoch weitaus niedriger als bei den Splintproben.

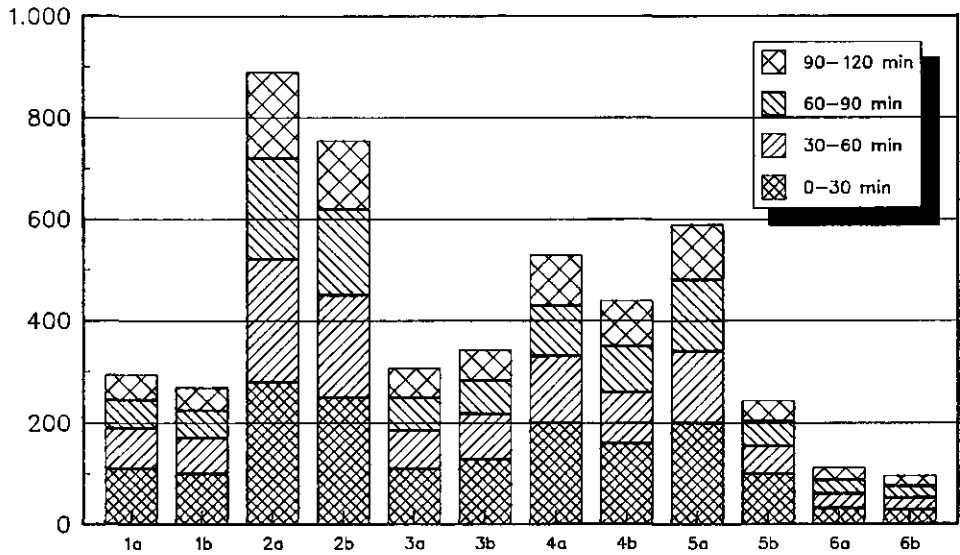
Durchfluss Wasser [ml]



ohne Enzymbehandlung
Splintholzproben 1-6
jeweils mit Zwillingsproben

a

Durchfluss Wasser [ml]

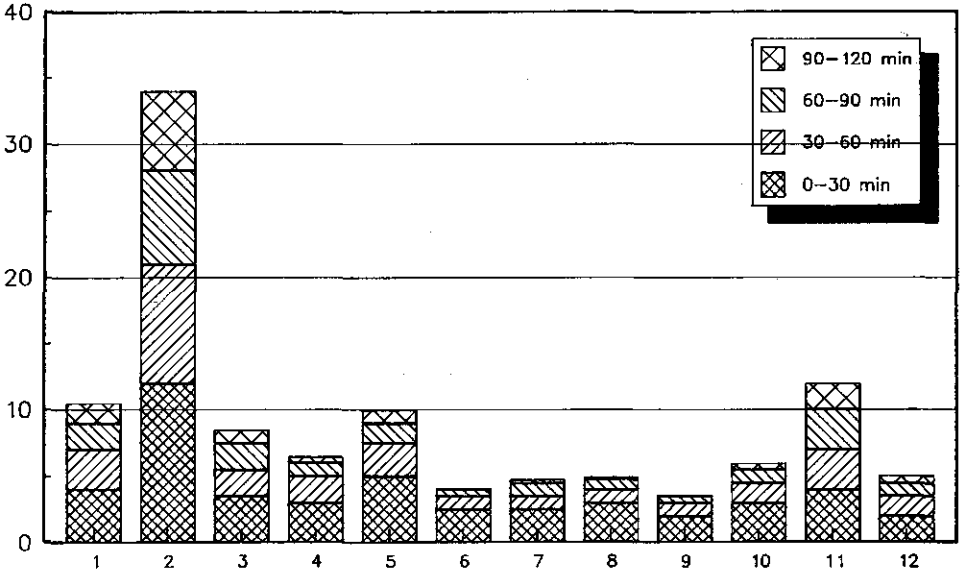


Enzymbehandlung CA/DSP 5
Splintholzproben 1-6
jeweils mit Zwillingsproben

b

Abb. 60 a-d: Permeabilität enzymbehandelter und unbehandelter Splintproben (Abb. a, Abb. c) bzw. Kernproben (Abb. b, Abb. d) gegenüber Wasser. Angegeben ist die im Zeitraum von 30 min durch die Proben geflossene Menge Wasser [ml], getestet mit Messanlage siehe Abb. 59.

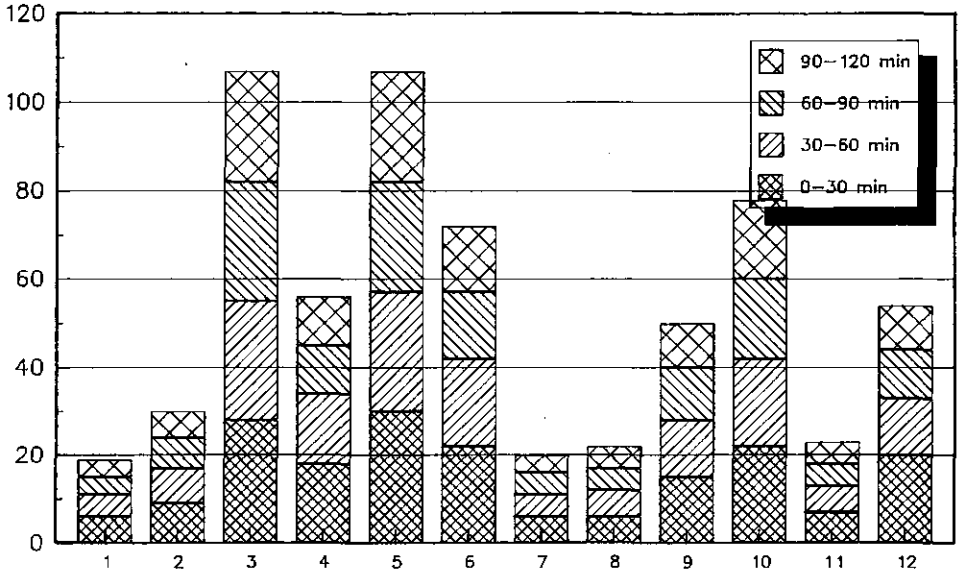
Durchfluss Wasser [ml]



ohne Enzymbehandlung
Kernholzproben 1-12

c

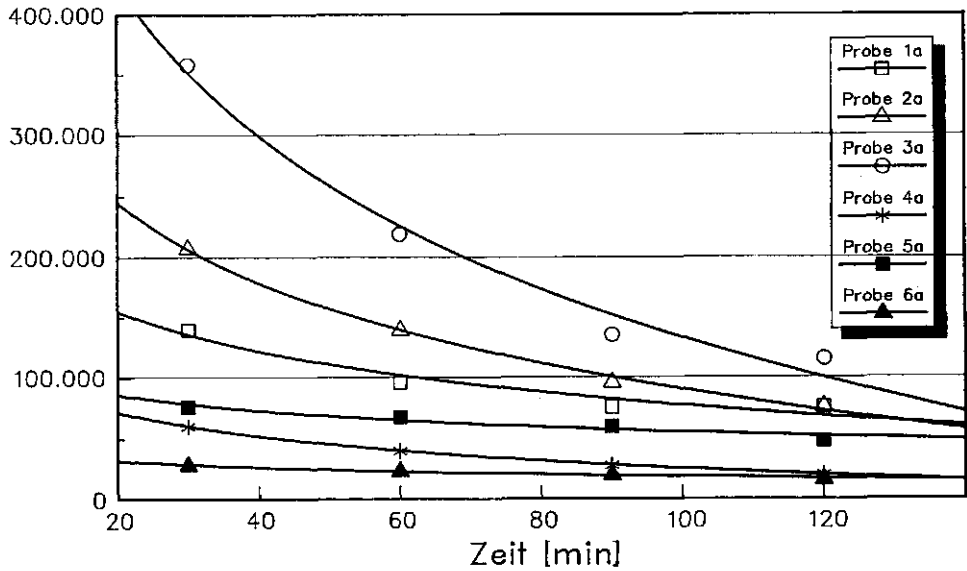
Durchfluss Wasser [ml]



Enzymbehandlung CA/DSP 5
Kernholzproben 1-12

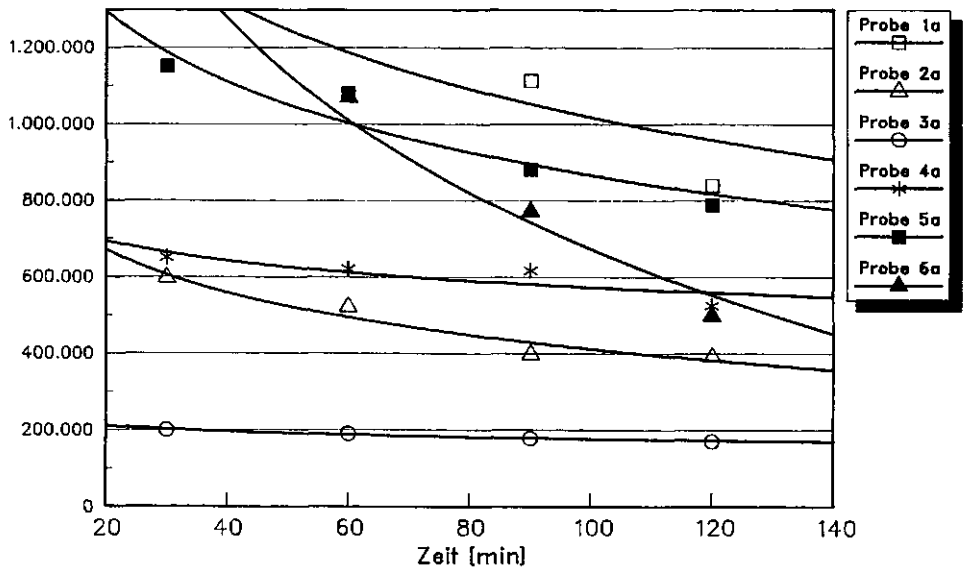
d

Permeabilität [1/Pa*s]



ohne Enzymbehandlung
Splintholz

Permeabilität [1/Pa*s]



Enzymbehandlung CA/DSP 5
Splintholz

Abb. 11 a u. b: Abnahme der Wasserpermeabilität [P] (Berechnung siehe Text) von unbehandelten (a) und enzymbehandelten (b) Holzproben mit fortlaufender Versuchsdauer.

3.4 Festigkeitseigenschaften enzymbehandelten Holzes

ALLGEMEINES

Eine Enzymbehandlung verbessert die Aufnahme und Eindringung von Flüssigkeiten in Fichtenholz. Diese Verbesserung wird verursacht durch den enzymatischen Abbau von Zellwandsubstanzen, vor allem leicht zugänglicher Pectine, Hemicellulosen und zum Teil auch Cellulosen. Durch eine solche Zellwanddegradierung verbessert sich jedoch unter Umständen nicht nur die Durchlässigkeit des Holzes. Es besteht die Gefahr, dass sich in mehr oder weniger starkem Masse auch die Festigkeit des Holzes reduziert. Für die praktische Anwendung enzymbehandelten Holzes ist dieser Punkt von grosser Wichtigkeit. Würde die Festigkeit des Holzes stark abnehmen, könnte dieses Holz nur für nicht-tragende Zwecke verwendet werden bzw. müsste, der Festigkeitsreduktion entsprechend, überdimensioniert werden. Im Vordergrund des im folgenden beschriebenen Versuches stand deshalb die Bestimmung einiger wichtigen Holzfestigkeitseigenschaften von enzymbehandeltem und nicht vorbehandeltem Holz. Im Hinblick auf das Anwendungsgebiet von Fichtenholz als Bau- und Konstruktionsholz wurden bei den Tests die Biege- und Druckfestigkeit sowie das E-modul untersucht.

MATERIAL UND VERSUCHSDURCHFÜHRUNG

Holz

Getrocknetes Fichtenholz (ca. 14 %), Splint, Herkunft H1 (siehe *Abschnitt 3.1*)
Abmessungen 20 x 20 x 500 mm für Biegefestigkeit und E-modul; Abmessungen 20 x 20 x 100 mm für Druckfestigkeit. Je Behandlung wurden 10 Proben verwendet.

Enzymbehandlung

Das Holz wurde mit Enzymen imprägniert und 14 Tage bei 40 °C in Enzymlösung untergetaucht gehalten. Alle Enzyme waren in Natriumacetatpuffer (pH 5) gelöst. Nach der Enzymbehandlung wurden die Proben auf 12 % Holzfeuchte klimatisiert.

<u>Behandlung</u>	<u>Konzentration</u>
Rohament 7069 / Rohament D5L	1 % + 1 %
Rohament CA / Rohament D5L	
Rohament 7069 / Pectinex 3xL	
Kontrolle in Puffer (K1) bzw. Wasser (K2)	

Bestimmung der Festigkeitseigenschaften

Die Biegefestigkeit sowie das E-modul wurden im Biegeversuch auf einer Amsler-Testbank mit Dreipunktbelastung ausgeführt. Der Versuch wurde nach DIN-Norm 52186 ausgeführt. Die Stützweite zwischen den Auflagerpunkten betrug 30 cm. Der Versuch wurde so gefahren, dass die Proben innerhalb 90 +/- 30 s brachen.

Die Druckfestigkeit wurde ebenfalls auf der Amsler-Testbank ausgeführt. Der Versuch wurde nach DIN 52192 ausgeführt. Die Versuchsbeschreibung ist der Norm zu

entnehmen. Die Resultate wurden mittels Varianz-Analyse mit Zweiklasseneinteilung (two-way classification) statistisch verglichen. Mit einem F-Test wurden eventuelle Behandlungsunterschiede ausgewertet. Ein t-Test (Student's t-test) diente zur Beurteilung des kleinsten signifikanten Unterschiedes. Es wurde dabei stets von Normalverteilung der Daten ausgegangen.

ERGEBNISSE

In Tab. 28 sind die Ergebnisse des Biege- und Druckversuchs dargestellt. Die statistische Auswertung dieser Werte zeigte, dass die geringen Festigkeitsunterschiede zwischen den verschiedenen enzymbehandelten Hölzern und den Kontrollproben statistisch nicht signifikant sind. Die Enzymbehandlungen führten somit nicht zu einer Reduzierung der Druck- und Biegefestigkeit sowie des E-modulus des Holzes. Obwohl die Anzahl der Proben je Behandlung (10 für Druckfestigkeit, 10 für Biegeversuch) sehr gering war, kann diese Aussage aufgrund der geringen Streuung der Werte getroffen werden.

Behandlung	Druckfestigkeit	Biegefestigkeit	E-modul
7069/D5L	49.8 (1.8/3.8)	80.4 (4.6/5.8)	10187 (683.9/6.7)
CA/D5L	46.8 (2.4/5.2)	86.6 (4.7/5.4)	11133 (602.7/5.4)
7069/3xL	54.1 (4.6/8.4)	94.1 (5.0/5.3)	11897 (416.2/3.5)
Kontr.1	47.1 (6.2/13.1)	81.7 (9.8/12.4)	10697 (973.3/8.9)
Kontr.2	50.1 (5.4/6.7)	84.3 (7.6/7.4)	11265 (567.2/7.6)

Tab. 28: Druck- und Biegefestigkeit sowie E-modul des enzymatisch behandelten und unbehandelten Holzes [N/mm²] (Bestimmung nach DIN 52186 und DIN 52192) mit Standardabweichung und Variationskoeffizient.

3.5 Auslaugung von Holzschutzmitteln aus enzymbehandeltem Holz

ALLGEMEINES

Holz, das mit umwelttoxischen Holzschutzmitteln behandelt wurde, wird ausschliesslich in Aussenbereichen mit oder ohne Bodenkontakt verwendet. In diesen Anwendungsbereichen wird das Holz Witterungsbedingungen ausgesetzt, bei denen eine ungewollte Auslaugung der eingebrachten Schutzmittel stattfinden kann. Die in diesen Verwendungsbereichen überwiegend eingesetzten Holzschutzmittel bestehen aus wasserlöslichen Salzen. In den meisten dieser Produkte sind als aktive Komponenten Chrom- und Kupfersalze enthalten, welche toxisch auf holzabbauende Pilze und Insekten wirken und ausserdem für eine Schutzmittelfixierung an der Holzfaser sorgen. Durch den Fixierungsvorgang der Holzschutzmittel an Bestandteilen der Zellwand wird die Auslaugung dieser Mittel aus dem Holz ausserordentlich erschwert.

Die Versuche in den vorhergehenden Kapiteln zeigten, dass sich durch eine Enzymvorbehandlung von Fichtenholz die Eindringtiefe und Eindringmenge von Holzschutzmitteln in Rund- und Schnittholz verbessern lässt. Im oben genannten Zusammenhang ist es jedoch auch von grosser Wichtigkeit, dass die ins Holz eingebrachten Schutzmittelkomponenten an der Zellwand fixieren und nicht leicht und schnell auswaschbar sind. Da die Enzyme während der Holzvorbehandlung die Struktur der Zellwandpolysaccharide in mehr oder weniger grossem Masse verändern, besteht die Gefahr, dass die Fixierung von Holzschutzsalzen negativ beeinflusst wird.

Im vorliegenden Versuch sollte deshalb mit Auslaugversuchen von enzymbehandeltem und unbehandeltem Holz untersucht werden, inwieweit eine Enzymvorbehandlung Einfluss auf die Auslaugung von Holzschutzsalzen aus imprägniertem Fichtenholz hat.

VERSUCHSDURCHFÜHRUNG

Enzymvorbehandlung

Für den Vergleich der Auslaugung von Holzschutzmitteln aus enzymatisch behandeltem und unbehandeltem Holz wurden Kleinholzproben mit Enzymen behandelt. Genauere Angaben über das verwendete Holz und den Ablauf der Enzymbehandlung sind der Versuchsbeschreibung (siehe *Abschnitt 3.1.3.6*) zu entnehmen. Die Grösse der Holzproben betrug 20 x 20 x 50 mm.

Holzschutzbehandlung

Nach den Enzymbehandlungen wurden pro Behandlung drei Holzproben auf ca. 18 % Holzfeuchte klimatisiert und anschliessend mit einem in Wasser gelösten Holzschutzsalz auf Basis von Chrom-, Kupfer- und Borsalzen (Impra CCO) imprägniert. Die Aufnahme an Tränkmittel wurde für jede Probe bestimmt. Anschliessend wurde das Holz bei 23 °C / 65 % relative Luftfeuchte 6 Wochen klimatisiert. Dieser Zeitraum der Lagerung entspricht der in NEN-Norm empfohlenen Lagerzeit für frisch imprägniertes Holz. Es ist zu erwarten, dass innerhalb dieser Periode der grösste Teil des ins Holz eingebrachten Holzschutzmittels an der Zellwand fixiert ist (Illner 1988).

Auslaugtest

Die klimatisierten Holzproben wurden einzeln in Bechergläser gelegt, mit 35 ml destilliertem Wasser übergossen und 20 min in einer Schüttelmaschine ausgelaut. Nach dieser Auslaugbeanspruchung wurden die Proben aus dem Auslaugwasser genommen. Dieses Wasser wurde dann mittels Atomabsorptionsspektrometrie (AAS) auf Gehalt an Chrom- und Kupferionen analysiert.

ERGEBNISSE

Die kleinen Probenabmessungen sowie die im Auslaugversuch angewandte Methode des "Ausschüttelns" in Bechergläsern beinhaltet einige Probleme bei der Übertragung der Auslaugergebnisse auf grössere Holzproben in "Praxisabmessung" (Illner 1988, Militz 1990). Der Zweck dieses Versuches lag jedoch nicht in der Beurteilung der aus Grossproben auslaugenden Holzschutzmittelmengen. Vielmehr sollte verglichen werden, ob aus enzymbehandeltem Holz mehr oder weniger Holzschutzmittel auslaugen als aus unbehandelten Proben.

Die AAS-Analyse des Holzschutzmittels erbrachte folgende Zusammenstellung des Mittels zum Zeitpunkt der Imprägnierung:

Kupfer	5640 ppm
Chrom	10100 ppm

Unter Zuhilfenahme dieser Werte und der Aufnahmemenge an Holzschutzmittel liess sich die in die Holzproben eingebrachte Menge an Kupfer und Chrom berechnen. Die bei der Analyse des Auswaschwassers gefundene Menge an diesen Metallionen lässt sich dann ins Verhältnis zur eingebrachten Menge Schutzmittel bringen und für die verschiedenen Enzymbehandlungen und die Kontrollbehandlung miteinander vergleichen. In *Tab. 29* sind diese Zahlenwerte aufgelistet. Die relative Menge ausgelauten Kupfers und Chroms ist zudem in *Abb. 62* abgebildet.

Zur objektiven Beurteilung der Auslaugung von Holzschutzmittelkomponenten lässt sich das Verhältnis der ausgelauten zur eingebrachten Menge Kupfer bzw. Chrom vergleichen. Auffallend hierbei ist, dass bei allen enzymbehandelten Hölzern weniger Kupfer als bei unbehandeltem Holz auslaugt. Ein anderes Bild zeigt sich bei der Chromauslaugung. Bei den Enzymbehandlungen mit 7069, 3xL, CL/3xL sowie der Pufferbehandlung laugt deutlich mehr Chrom aus, wogegen die Auslaugung bei den Behandlungen mit CT bzw. CL in der gleichen Grössenordnung liegt wie bei unbehandeltem Holz.

Will man diese Werte der Auslaugversuche werten, muss man beachten, dass die gefundenen Unterschiede zwischen enzymbehandelten und unbehandeltem Holz sehr gering sind. Zudem führt die Vorbehandlung von Holz mit den effektivsten Enzymen Rohament CT und Maxazym CL 2000 zu einer, wenn auch geringen, Verminderung der Auslaugung von sowohl Kupfer als auch Chrom.

Es kann somit gefolgert werden, dass die Auslaugung von Kupfer und Chrom aus enzymbehandeltem und dann imprägniertem Holz nicht grösser ist als die aus unvorbehandeltem Holz. Dieses gilt zumindest für die Auslaugung 6 Wochen nach Imprägnierung. Aussagen über die Langzeitauslaugung nach Monaten und Jahren können anhand der Versuche nicht gemacht werden.

Beh.	eingebr. Menge (A)			ausgel. Menge(B)		B / A	
	Mittel [g]	Cu [mg]	Cr [mg]	Cu [mg]	Cr [mg]	Cu [%]	Cr [%]
CL 2000	6.0	33.7	60.3	0.03	0.52	0.08	0.88
CT	5.6	31.5	56.4	0.03	0.37	0.09	0.66
3xl	2.8	15.8	28.2	0.03	0.59	0.19	2.03
CL/3xL	2.4	13.7	24.5	0.04	0.25	0.26	1.01
7069	1.6	9.0	16.1	0.02	0.27	0.17	1.68
Puffer	2.5	14.3	25.5	0.02	0.30	0.16	1.20
Kontrolle	3.5	19.8	35.5	0.05	0.24	0.29	0.68

Tab. 29: Auslaugung von Holzschutzmitteln aus enzymbehandeltem und unbehandeltem Holz nach Holzschutzimprägnierung und Auslaugbeanspruchung (20 min in Schüttelmaschine). In der Tabelle sind die in die Proben eingebrachte und ausgelaugte Menge Kupfer und Chrom wiedergegeben und ins Verhältnis zueinander gesetzt.

Menge ausgelaugtes Cu u. Cr [%]
von eingebrachter Menge

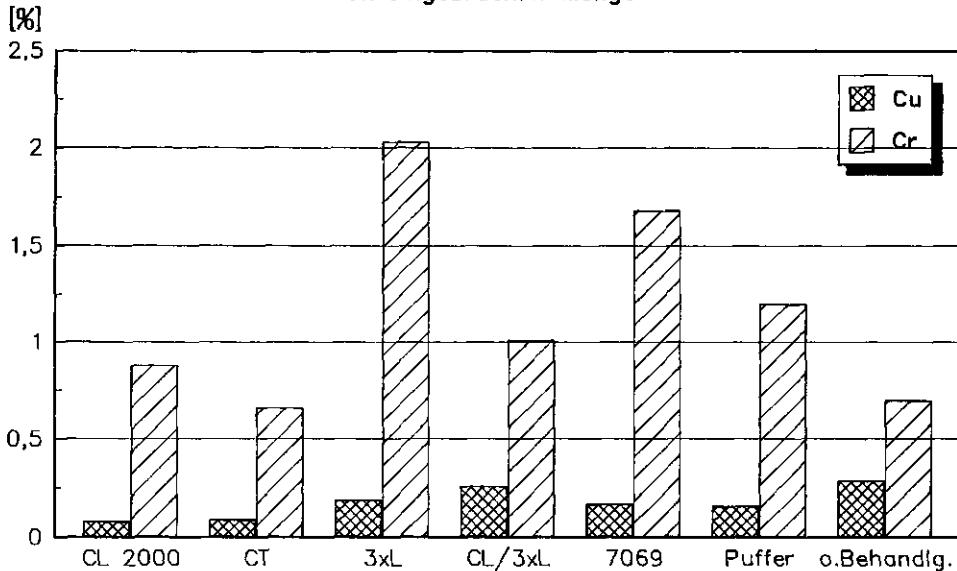


Abb. 62: Im Auslaugtest ausgewaschene Menge an Kupfer und Chrom im Verhältnis zur eingebrachten Menge [%]. Vergleich enzymbehandelter und unbehandelter Proben.

4 Chemische Vorbehandlung von Fichtenholz

4.1 Einleitung

Die in diesem Kapitel beschriebenen Versuche richteten sich auf die Auswahl geeigneter Chemikalien für Vorbehandlungen von Fichtenholz. Umfangreiche Versuche mit Kleinproben führten zunächst zu einer Auswahl effektiver Stoffe für weitere Versuche an Holzproben in Praxisabmessungen. Anschliessend wurden die Festigkeitseigenschaften vorbehandelter Holzproben bestimmt.

4.2 Chemische Vorbehandlungen

4.2.1 Angewandte Chemikalien

Für die Veränderung der Holzstruktur mit dem Ziel einer verbesserten Imprägnierbarkeit kommen unterschiedliche Chemikalien in Frage, deren Wirkungen auf die Zellwandbestandteile des Holzes nachfolgend kurz beschrieben werden. Einige dieser Stoffe wurden bereits bei einer Vorauswahl verworfen, da sie eine zu hohe Toxizität aufweisen oder aufgrund der Gefahr beim Umgang für eine eventuelle spätere grosstechnische Anwendung nicht zu empfehlen waren. Eine Übersicht über alle in den Behandlungen angewandten Chemikalien gibt *Tab. 30*.

Laugen	Säuren	Komplexbildner	Andere
Natronlauge Kalilauge	Essigsäure Ameisensäure Phosphonopropions. Ascorbinsäure	Natriumhexametaphosphat *CDTA *EDTA Nitriloessigsäure (NTA) Ammoniumoxalat	Ca-acetat
* CDTA = Trans-1,2-diaminocyclohexan-N,N',N'-tetraessigsäure * EDTA = Ethylendiaminotetraessigsäure			

Tab. 30: Zur Vorbehandlung von Fichtenholz verwendete Chemikalien.

Laugen

Laugen greifen, abhängig von ihrer Konzentration und Temperatur, die in der Holzzellwand vorkommenden Polysaccharide auf verschiedene Weise an. Bei niedriger Konzentration und Temperatur zerbrechen sie die Wasserstoffbrücken und verursachen zunächst ein Schwellen der Cellulose und Hemicellulosen; Esterbindungen werden ebenfalls gebrochen. Bei steigender Temperatur wird dieser Prozess von Abbauerscheinungen begleitet. Dabei kommt es vor allem an den reduzierenden Enden der Polysaccharide zur Depolymerisation durch "peeling-off-Reaktionen" und in geringerem Masse auch zu hydrolytischer Spaltung der Ketten. Hemicellulosen werden schneller abgebaut als Cellulosen. Es zeigt sich zudem, das

die Xylane der Hemicellulosen gegenüber alkalischem Abbau stabiler sind als die Glucomannane (Johannsson u. Samuelson 1977, Fengel u. Wegener 1984).

Bei Pectinen findet im alkalischen Milieu bereits bei Raumtemperatur eine Verseifung der Estergruppen statt. Bei steigender Temperatur werden in zunehmendem Masse die Pectinketten depolymerisiert. Dieser Abbau der Pectinketten wird vor allem durch β -Elimination verursacht und findet ausschliesslich an glykosidischen Bindungen statt, bei denen die benachbarte Carboxylgruppe verestert vorliegt. Aus den eben genannten Gründen sind hochveresterte Pectine für einen transeleminativen Abbau weitaus empfindlicher als niedrig veresterte (Doesburg 1965, Pilnik et al. 1986).

Lignin kann ebenfalls durch Alkali abgebaut werden, was bei technischen Holzaufschlussverfahren zunutze gemacht wird (Kraft- und Sodaufschluss). Die Abbaurate der Seitenkettenabtrennung bis hin zur Spaltung des aromatischen Ringes, wird jedoch in starkem Masse von der Konzentration und der Temperatur der Lauge beeinflusst. Sie ist bei niedrigen Temperaturen gering.

Säuren

Auch Säuren können auf verschiedene Weise die Polysaccharide der Holzzellwand degradieren. Die Abbaurate hängt auch hierbei von der Konzentration, dem pH-Wert und der Temperatur der Säure ab (Fengel u. Wegener 1984). Abspaltungen von Estergruppen werden bereits bei niedrigen Temperaturen beobachtet. Die hydrolytische Depolymerisation der Polysaccharide nimmt mit steigender Temperatur zu und überwiegt bei höheren Temperaturen (Pilnik et al. 1986). Mit starken Säuren und bei hohen Temperaturen lassen sich schliesslich die Monomere selbst aufspalten. Pyranosen werden dabei aufgrund der stabileren Form weniger schnell abgebaut als Furanosen. Versuche von Hoffmann u. Patt (1976) sowie Czirnich u. Patt (1976) zeigten zudem, dass Xylane, bei denen relativ viel 4-O-Methylglucuronsäure in der Kette vorkommt, gegen hydrolytischen Abbau resistenter sind als andere. Sie führen das auf die relative Resistenz der glykosidischen Bindungen zwischen Uronsäuren gegen hydrolytischen Abbau zurück.

Komplexbildner (Chelating agents)

In Arbeiten verschiedener Autoren wurde aufgezeigt, dass die Rhamnogalacturonsäureketten der Pectine untereinander und mit anderen Zellwandkomponenten durch zweiwertige Ca-kationen verknüpft sind (Jarvis 1982, McNeil et al. 1984, Selvendran 1985, Fry 1986). Komplexbildner sind in der Lage, diese Kationen zu binden und dadurch die Löslichkeit der Pectine zu erhöhen. Zum Entfernen dieser Ca-brücken wurde das Holz mit unterschiedlichen Komplexbildnern vorbehandelt, die eine grosse Affinität zu Metallen haben und diese an sich binden können.

Andere

Ein anderer Stoff, mit dem das Fichtenholz in den nachfolgend beschriebenen Versuchen behandelt wurde, ist Calciumacetat. Dieser Stoff hat eine den Komplexbildnern entgegengesetzte Wirkung. Pectine bilden mit dem Calcium untereinander schwerlösliche Brücken, wodurch sie beim Kontakt mit Wasser schlechter quellbar werden. Auf diese Weise kann unter Umständen verhindert werden, dass der Torus der Hoftüpfel beim Imprägniervorgang quillt und dadurch den

Porus abschliesst. Bei Versuchen von Sandermann u. Jonas (1952) wurden durch die Vorbehandlung von Fichtenholz mit Calciumacetat gute Resultate erreicht. Eine der Versuchsreihen wurde aus diesem Grunde mit Calciumacetat durchgeführt.

4.2.2 Versuche mit Kleinproben

In den Vorversuchen wurden Fichtenholz-Kleinproben mit unterschiedlich wirkenden Chemikalien behandelt. Anschliessend erfolgte mit den vorbehandelten und unbehandelten Proben eine Vacuumtränkung mit Holzschutzmitteln. Die Aufnahmemenge und Eindringtiefe dieses Holzschutzmittels diente als Mass der Effektivität der Vorbehandlungen. Anhand dieser Versuche mit kleinen Proben wurde eine Auswahl von Chemikalien getroffen, die im weiteren für Versuche mit Fichtenholz in grösseren Abmessungen verwendet wurden.

4.2.2.1 Vorversuch

MATERIAL UND METHODE

Holz

In den Versuchen wurde frisches Fichtenbrettholz (Herkunft: Fa. Gouderak b.v., Brabant, Holzfeuchte Splint gemittelt 38.5 %) verwendet. Aus den Brettern wurden Splintproben (18 x 18 x 50 mm) gesägt. Im Brett hintereinanderliegende Proben wurden stets in verschiedene Behandlungen eingebracht (5 Proben je Behandlung).

Chemikalien

Tab. 31 zeigt die im Versuch angewandten Chemikalien und Behandlungsparameter Konzentration, Temperatur und Zeit. Das auf Volumen bezogene Verhältnis Holz : Lösung betrug stets ca. 1 : 1.

BEHANDLUNGSMETHODE

Behandlung 1

Die Holzproben wurden in einem Exicator 35 min mit NaOH imprägniert, dann in der Flüssigkeit auf 90 °C erwärmt. Dieser Aufwärmvorgang dauerte 30 min. Die Proben wurden dann weitere 15 min in NaOH belassen, anschliessend aus der Lauge geholt und dann 7 Tage unter fliessendem Wasser ausgespült.

Behandlung 2

Die Holzproben wurden ebenfalls 35 min in einem Exicator mit NaOH getränkt, dann 45 min bei 22 °C in der Lösung gelagert und anschliessend 7 Tage in Wasser gespült.

Behandlung 3

Bei Behandlung 1 und 2 waren trotz der Exicatorimprägnierung die Holzproben nicht mit Lauge gesättigt. Aus diesem Grunde wurden bei Behandlung 3 die Proben 4 mal 20 min im Wechsel unter Vacuum und atmosphärischen Druck mit NaOH getränkt.

Behandlung	Konz. [%]	Temp. [C]	Dauer [h]	
1	NaOH	5	90	0.5
2	NaOH	5	22	0.75
3	NaOH	5	90	170
4	EDTA	1	90	2/18
5	CDTA	?	90	2/18
6	NaOH	0.5	90	2/18
7	NaOH	1	90	2/18
8	NaOH	5	90	2/18
10	CDTA+KOH	1+1	90	2/18
11	CDTA+KOH	1+1	70	2/18
12	EDTA	1	70	2/18
13	NaOH	0.5	70	2/18
14	NaOH	1	70	2/18
15	NaOH	5	70	2/18
16	NTA+KOH	1+1	90	2/18
17	Ammox.	1	90	2/18
18	KOH	0.5	90	2/18
19	KOH	1	90	2/18
20	KOH	5	90	2/18
21	NTA+KOH	1+1	70	2/18
22	Ammox.	1	70	2/18
23	KOH	0.5	70	2/18
24	KOH	1	70	2/18
25	KOH	5	70	2/18

Tab. 31: Verwendete Chemikalien und Behandlungsparameter Konzentration, Temperatur und Zeit.

Die Proben waren jedoch auch nach diesem Tränkzyklus noch nicht mit Lauge gesättigt (sie trieben noch auf der Flüssigkeit). Die Proben wurden daraufhin in 90 °C heisse NaOH gebracht und bei dieser Temperatur 7 Tage in der Lösung belassen.

Behandlungen 4 bis 25

Da sich in den ersten Behandlungen zeigte, dass die Vacuumimprägnierung nicht zur Sättigung der Proben mit der Chemikalienlösung führte, wurden die Proben in den Behandlungen 4 - 25 in einer Kesseldruckanlage 1 h mit Vacuum und 2 h mit Druck (10 bar) mit der Lösung imprägniert. In jede Behandlung wurden 5 Holzproben eingebracht, wovon 2 Proben nach 2 h Behandlung aus der Lösung genommen wurde und 3 Proben nach 18 h.

CDTA und NTA sind nur in geringer Konzentration in Wasser löslich, jedoch besser in KOH (Carr u. Swartzfager 1970). Die komplexierende Eigenschaft der Stoffe wird durch das KOH nicht beeinflusst. Aus diesem Grunde wurden beide Stoffe in KOH gelöst und dann in die Versuche eingebracht.

Die Proben in Behandlung 15 (NaOH 5 %) wurden nach der Behandlung 7 Tage in

Wasser ausgespült. Alle anderen Proben wurden direkt nach der Behandlung 2 - 3 Wochen bei 18 °C/40 % relativer Luftfeuchte getrocknet. Dann wurden die Hirnflächen mit einem PVAC-Leim abgedichtet.

Die unbehandelten Kontrollproben wurden während der Behandlungszeit bei 4 °C im Kühlraum gelagert. Um Pilzwachstum auf den Proben zu verhindern, wurde ein mit Xylol getränkter Wattebausch beigelegt.

Bestimmung der Aufnahmemenge und Eindringung

Nach dem Trocknen und dem Abdichten der Hirnflächen wurden alle Proben in einem Exicator mit wässriger Farblösung (ca. 0.1 % Rhodamine B; 15 min Vacuum, 5 min in Flüssigkeit) getränkt. Die Bestimmung der Aufnahme an Flüssigkeit sowie die Beurteilung der Eindringung des Farbstoffes wurde mit der in *Abschnitt 3.1* beschriebenen Methode durchgeführt.

Visuelle Beurteilung der Proben

Erste Vorbehandlungen mit starken Laugen hatten gezeigt, dass die Holzstruktur durch eine solche Behandlung stark verändert werden kann. Dabei traten zunächst dunkelbraune Verfärbungen auf. Im weiteren Verlauf der Behandlung zeigten die Proben eine waschbrettartige Oberfläche bis hin zu starken Verformungen des Probenquerschnittes. Alle Proben wurden daraufhin nach der Behandlung visuell auf Unregelmäßigkeiten beurteilt. Der Beurteilungsschlüssel für Verfärbungen und für den allgemeinen Zustand der Proben ist in *Tab. 32* wiedergegeben.

Code	Verfärbung	Holzstruktur
1	sehr starke Braunfärbung	sehr starke Verformung
2	starke Verfärbung	starke Verformung
3	mittlere Verfärbung	mittlere Verformung
4	leichte Verfärbung	geringe Verformung
5	nicht verfärbt	keine oberflächlich wahrnehmbare Veränderung

Tab. 32: Optische Beurteilung der Holzproben nach Behandlung mit Chemikalien.

ERGEBNISSE

Aufnahmemenge und Eindringtiefe

Die Aufnahmemengen und Eindringtiefen an wässriger Rhodamine B-Lösung nach den verschiedenen Behandlungen sind in *Abb. 63 a-f* dargestellt. Auffallend dabei sind die sehr hohen Aufnahmemengen und Eindringtiefen von allen unbehandelten Kontrollproben, die bei fast allen höher liegen als bei den behandelten Proben.

In einer mikroskopischen Studie des behandelten und unbehandelten Holzes wurde die Erklärung für dieses nicht erwartete Bild gefunden. Vor allem in den nicht behandelten Kontrollproben wurden Hyphen von Bläuepilzen entdeckt. Diese Bläuepilze sind in der Lage, durch Auflösung oder mechanische Zerstörung der

Tüpfelmembranen die Permeabilität des Holzes zu erhöhen. Da in allen behandelten Proben weitaus weniger Bläue konstatiert wurde, muss davon ausgegangen werden, dass sich bereits vor Beginn der Versuche Bläue im Holz befand. Diese konnte sich, trotz Lagerung im Kühlraum und unter Zufügen von Xylol, in den Kontrollproben weiter entwickeln. In den Versuchen mit Chemikalien hingegen fand kein weiteres Pilzwachstum statt, sodass die Permeabilität der Kontrollproben besser war als die des behandelten Holzes.

Beim Vergleich der behandelten Proben fiel auf, dass die Eindringung bei den meisten Behandlungen sehr schlecht war. Dieses gilt nicht für die Behandlungen 16, 17, 21 und 22 (NTA + KOH und Ammoniumoxalat bei 70 °C und 90 °C).

Visuelle Beurteilung der Proben

Vor allem Laugen verursachten eine starke Dunkelfärbung des Holzes. Auch führen sie, vor allem bei höheren Konzentrationen, zu Verformungen des Holzquerschnittes. Nach den NaOH und KOH-Behandlungen zeigt die Holzoberfläche eine waschbrettartige Struktur, nach den KOH-Behandlungen sogar starken Zellkollaps. Alle Proben mit sehr stark verfärbter Oberfläche, Waschbrettstruktur und Kollaps haben eine weiche, leicht zu zerfasernde Oberfläche. Gute Werte bekommen bei der visuellen Beurteilung die Proben, die mit Komplexbildnern behandelt waren sowie die Laugenbehandlungen mit niedrigen Temperaturen und Konzentrationen (70 °C, 0.5 %).

Zusammenfassung der Ergebnisse

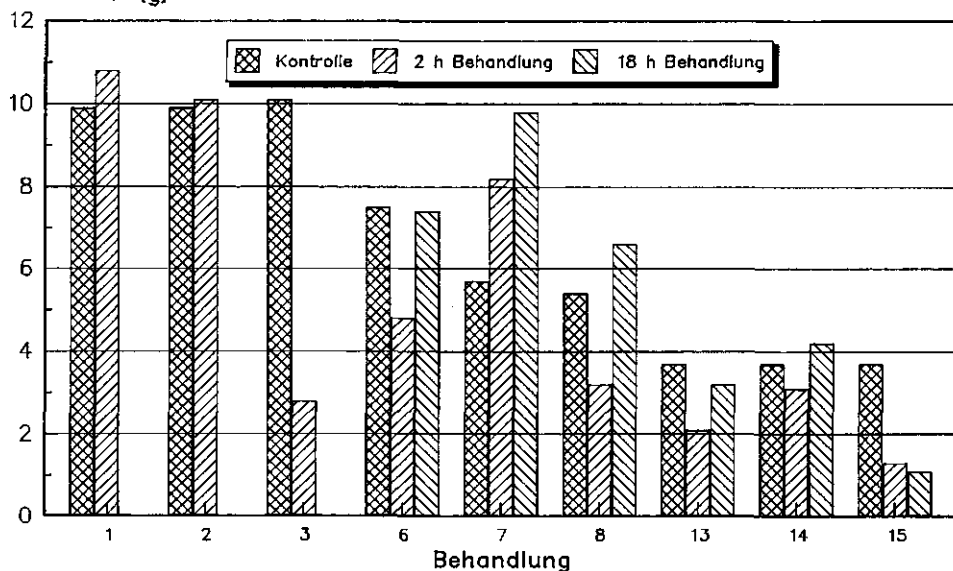
Durch den starken Befall der Kontrollproben mit Bläuepilzen und die dadurch verursachte Mehraufnahme an wässriger Lösung können die Ergebnisse dieses Versuches nicht zur Beurteilung der Effektivität einer chemischen Vorbehandlung herangezogen werden. Dennoch wurde der Versuch hier beschrieben, da einige wichtige Erkenntnisse gewonnen werden konnten.

Der Effekt der verwendeten Chemikalien bei der Verbesserung der Imprägnierfähigkeit des Fichtenholzes muss bei den meisten Behandlungen als "schlecht" beurteilt werden. Zu dieser Wertung muss man kommen, da trotz der z.T. recht intensiven Vorbehandlungen die von Bläuepilzen befallenen, aber ansonsten unbehandelten Kontrollproben mehr Flüssigkeit aufnahmen.

Die visuelle Beurteilung der Proben nach den Behandlungen zeigte auch, dass einige der Behandlungen, vor allem starke Laugen bei hohen Temperaturen, zu einer ungewollten Zerstörung der Holzstruktur führen. Bei niedrigeren Temperaturen wurden hingegen weitaus weniger Deformationen festgestellt. In weiteren Versuchen wurden deshalb starke Laugen bei niedrigen Temperaturen (KOH, 5-24 %, 4 °C) sowie schwache Laugen bei mässigen Temperaturen (0.5 %, 35 °C) verwendet.

Behandlungen mit CDTA, EDTA, NTA und Ammoniumoxalat haben, zumindest makroskopisch betrachtet, keinen negativen Einfluss auf die Holzstruktur. In Kombination mit KOH tritt zwar eine leichte Braunfärbung der Holzoberfläche auf, jedoch keine makroskopisch wahrnehmbare Strukturveränderung des Holzes.

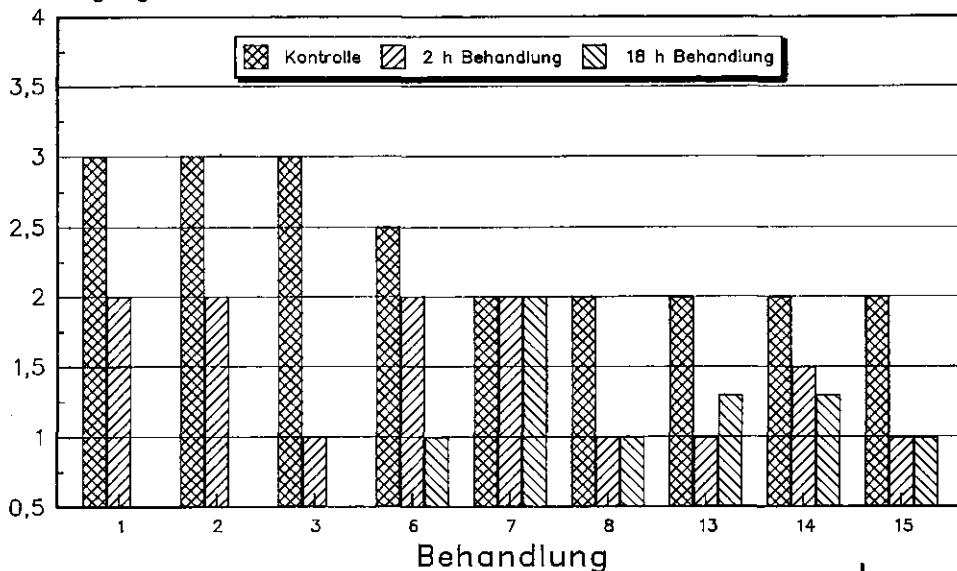
Aufnahme [g]



Aufnahme an wässrigem Rhodamine B
15 min Vacuum / 5 min in Flüssigkeit

a

Eindringung

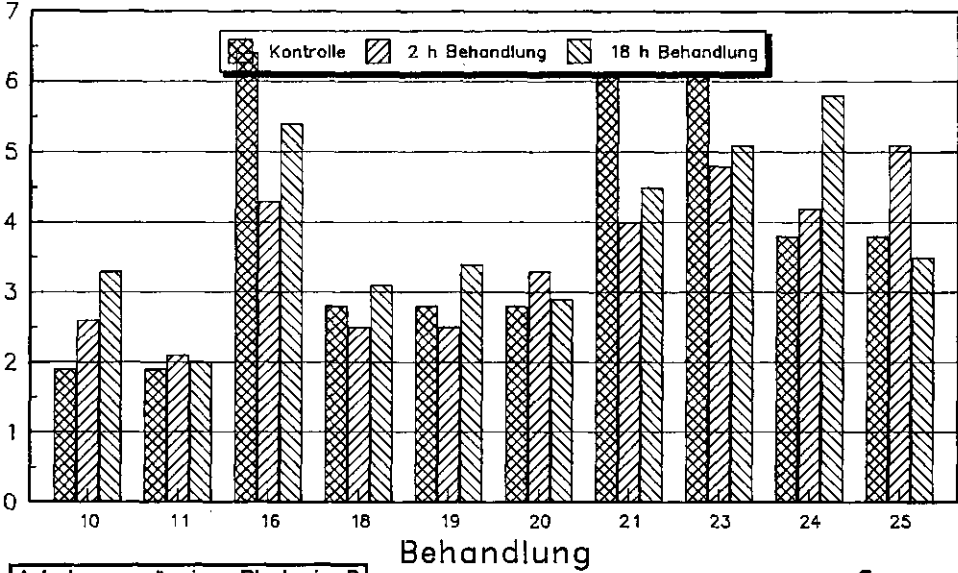


Bewertung der Eindringung in "Eindringklassen"
1=sehr schlecht...4=sehr gut

b

Abb. 63 a-f: Aufnahmemenge [g] und Eindringtiefe von Farblösung in chemisch vorbehandelte und unbehandelte Holzproben (zur Erklärung der Behandlungen 1-25 siehe Tab. 31; für die Methode der Beurteilung der Eindringung siehe Abschnitt 3.1).

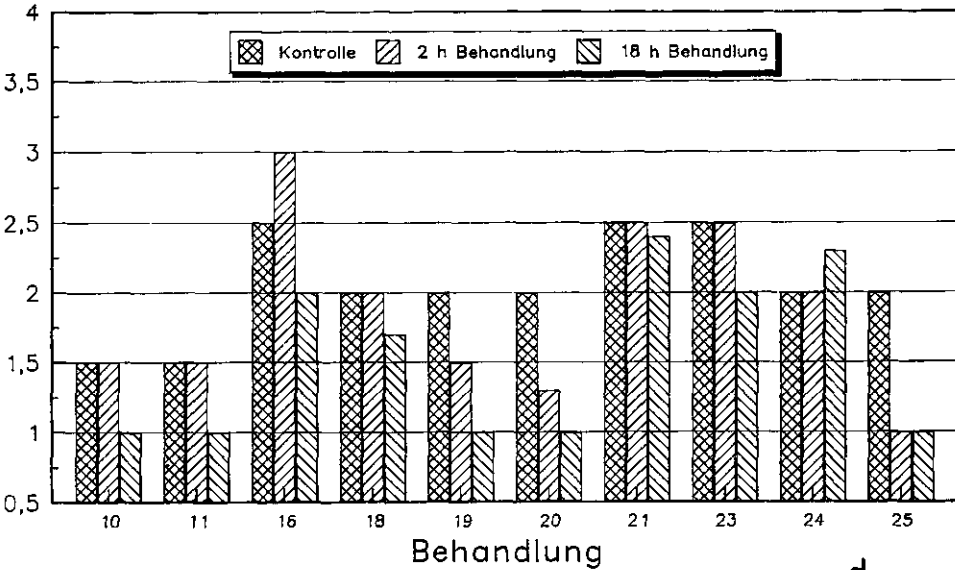
Aufnahme [g]



Aufnahme an wässrigem Rhodamine B
15 min Vacuum / 5 min in Flüssigkeit

c

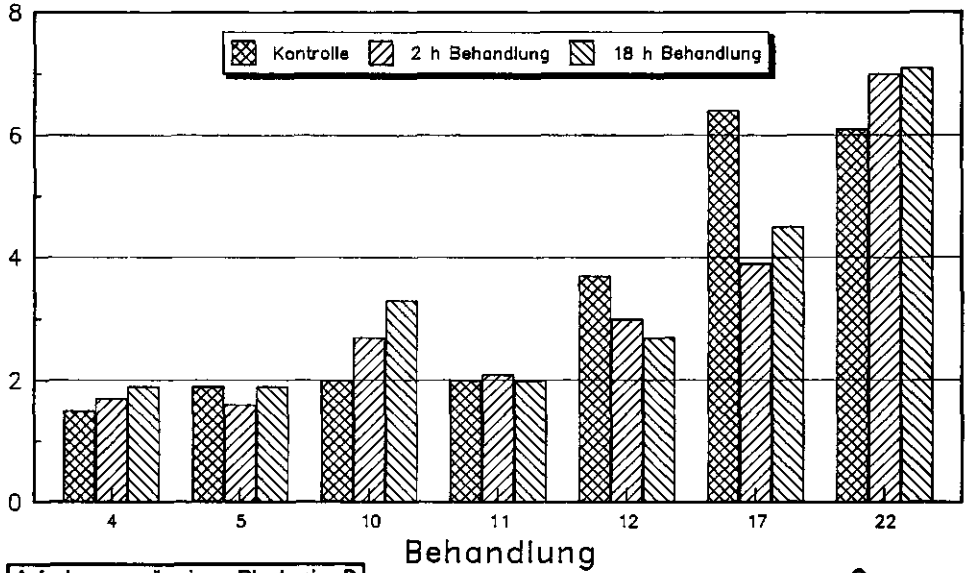
Eindringung



Bewertung der Eindringung in "Eindringklassen"
1=sehr schlecht...4=sehr gut

d

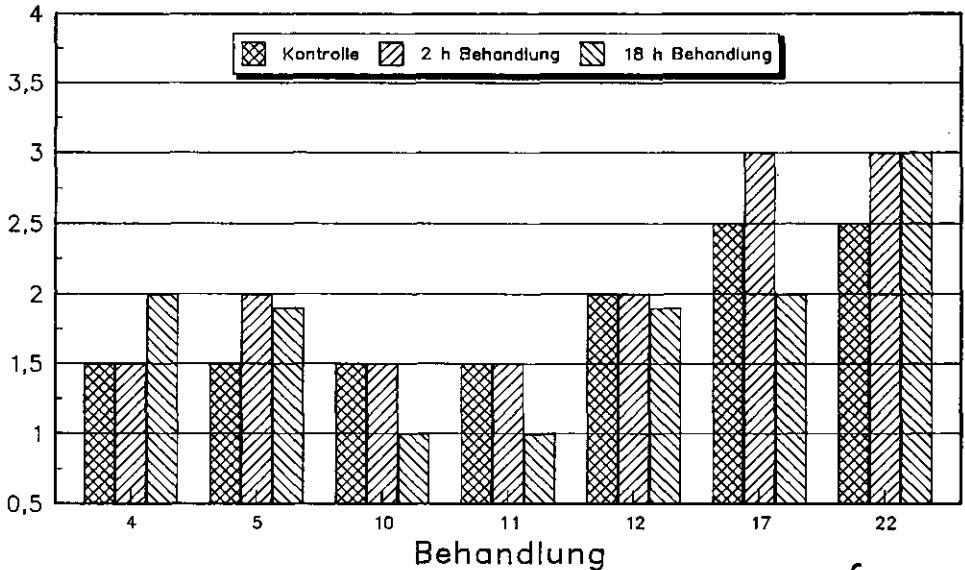
Aufnahme [g]



Aufnahme an wässrigem Rhodamine B
15 min Vacuum / 5 min in Flüssigkeit

e

Eindringung



Beurteilung der Eindringung in "Eindringklassen"
1=sehr schlecht...4=sehr gut

f

4.2.2.2 Behandlung mit Laugen, Komplexbildnern und Säuren

EINLEITUNG

Im vorliegenden Versuch wurden u.a. die Mittel des Vorversuchs erneut getestet, die die Holzstruktur -makroskopisch gesehen- nicht negativ beeinflusst haben. Zudem sollte die Wirksamkeit von Na-HMP und Ascorbinsäure untersucht werden.

MATERIAL UND METHODE

Holz

Die Proben wurden aus getrocknetem, bläuefreiem Schnittholz gesägt (Herkunft: deutsche Mittelgebirgslage "H1" vgl. Kapitel 3.1). In die verschiedenen Behandlungen wurden Splintproben (20 x 20 x 50 mm) eingebracht.

Chemikalien

Die im Versuch verwendeten Chemikalien und Behandlungsparameter Konzentration, Temperatur und Behandlungsdauer sind in Tab. 33 aufgelistet.

Behand.	Mittel	Konz.[%]	Temp.[°C]	Dauer[h]
26	NaOH	5	4	24/168
27	KOH	5	4	24/168
28	KOH	24	4	24/168
29	NaOH	0.5	35	24/168
30	KOH	0.5	35	24/168
31	CDTA+KOH	1+1	70	24/168
32	NTA+KOH	1+1	70	24/168
33	EDTA	1	90	24/168
34	Ammox.	1	90	24/168
35	Ascorbin	1	90	72/168
36	Na-HMP	2	90	72/168
37	Wasser		90	72/168
38	Wasserdampf			168

Tab. 33 : Im Versuch Abschnitt 4.2.2.2 verwendete Mittel und Behandlungsparameter.

Behandlung 26 - 37

Die Proben dieser Behandlungen wurden im Kesseldruckverfahren (1 h Vacuum, 2 h 10 bar Druck) mit dem Mittel getränkt. Anschliessend wurden die Proben in der Flüssigkeit auf die gewünschte Temperatur gebracht. Die Druckbehandlung wurde nach 24 h, 48 h, 120 h und 144 h wiederholt. Nach Ablauf der Behandlungen (24 bzw. 72 bzw. 168 h) wurden die Proben 7 Tage unter fließendem Wasser ausgespült und anschliessend bei 23 °C/ 50% relativer Luftfeuchte getrocknet.

Behandlung 38

Die Wasserdampfbehandlung wich von den anderen Behandlungen ab. Die Holzproben wurden in einem Glasbehälter auf Glasröhrchen gelagert, unter denen sich Wasser befand (siehe Abb. 64). Das Wasser wurde durch ein Heizelement zum

Kochen gebracht, der Dampf strömte an den Holzproben vorbei, kondensierte an einem Rückflusskühler wieder aus und floss zurück in die Lösung. Die Behandlung dauerte 7 Tage. Danach erfolgte keine Ausspülung wie bei den anderen Behandlungen.

ERGEBNISSE

Die Proben wurden mit der in *Tab. 32* beschriebenen Methode visuell beurteilt, dann mit wässrigem Rhodamine-B im Vacuumverfahren imprägniert und die Aufnahmemenge und Eindringtiefe des Mittels in die Proben bestimmt.

Aufnahme und Eindringung

Die Messergebnisse sind in *Abb. 65 a u. b* graphisch dargestellt. Anhand der Graphik ist deutlich zu erkennen, dass lediglich die Ammoniumoxalat- und EDTA-Vorbehandlungen die Aufnahme an wässriger Rhodaminlösung verbessern. Die Proben nehmen nach Behandlung mit Ascorbinsäure bzw. Na-HMP recht viel Flüssigkeit auf, die Kontrollproben dieser Behandlungen jedoch ebenfalls.

Obwohl die meisten Behandlungen die Aufnahme an Farblösung im Vergleich zum unbehandelten Holz verschlechtern, fällt bei der Betrachtung der Graphik auf, dass die Aufnahme an Flüssigkeit nach 7 Tagen Vorbehandlung besser ist als nach einer kurzzeitigen Behandlung (1 Tag). Diese Tendenz ist bei allen Behandlungen zu erkennen, bei denen Lauge verwendet wurde. Diese Beobachtung wird in Kapitel 6 diskutiert.

Visuelle Beurteilung

Die mit starken Laugen behandelten Proben (Behandlungen 26, 27, 28) zeigen keine Braunfärbung, jedoch starke Verformungen des Holzquerschnittes. Auch die mit schwachen Laugen behandelten Proben (29, 30) und die kombinierten Behandlungen von CDTA bzw. NTA mit Lauge (31, 32) sind verformt und wurden daher mit "schlecht" beurteilt. Die mit EDTA bzw. Ammoniumoxalat behandelten Proben (33, 34) sind zwar bräunlich verfärbt, zeigen aber insgesamt keinerlei Strukturveränderung und wurden deshalb mit "gut" bewertet. Die Behandlungen mit Ascorbinsäure und Na-HMP (35, 36) und in geringerem Masse auch die Wasserdampfbehandlung (38) führen zu Querschnittsverformungen und Verfärbungen und bekommen deshalb schlechte Beurteilungen. Auch die Heisswasserbehandlung des Holzes (90 °C) führt zur Braunfärbung der Holzoberfläche, jedoch zu keinerlei Verformungen oder anderen Strukturveränderungen.

Zusammenfassung der Ergebnisse

In diesen Versuchen wurde mit getrockneten, unverblauten Holzproben gearbeitet. Trotzdem verursachten die meisten Vorbehandlungen mit Chemikalien keinerlei Verbesserung der Schutzmittelaufnahme oder Eindringung, sondern brachten teilweise sogar eine starke Verschlechterung. Dieses ist vor allem bei allen Laugebehandlungen zu konstatieren. Auch die Behandlung mit Wasserdampf verbesserte die Aufnahme und Eindringung an Farblösung nicht. In der Diskussion (*Kapitel 6*) wird versucht, eine Erklärung für diese Beobachtungen zu finden.

Zu der Verschlechterung in der Aufnahme an Flüssigkeiten kommt zusätzlich als

negativer Effekt hinzu, dass viele der Behandlungen die Holzstruktur stark angreifen und schwächen. Auf weitere Versuche mit Laugen soll aus diesen Gründen verzichtet werden.

Lediglich die Behandlungen mit EDTA (33), Ammoniumoxalat (34), Ascorbinsäure (35) und Na-HMP (36) verschlechtern die Aufnahme und Eindringung der Farblösung nicht, vielmehr verbessern sie sie teilweise und greifen die Holzstruktur nicht oder in geringerem Masse an. Deshalb wurden weitere Versuche u.a. mit diesen Chemikalien durchgeführt.

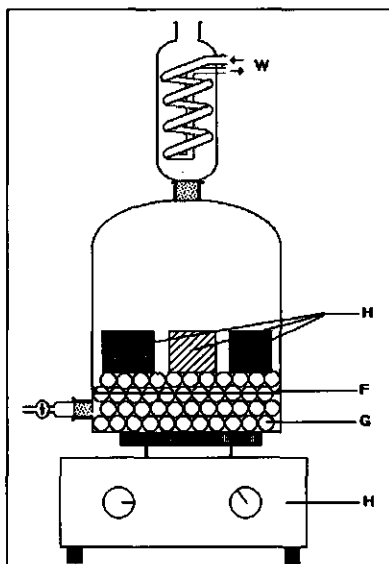
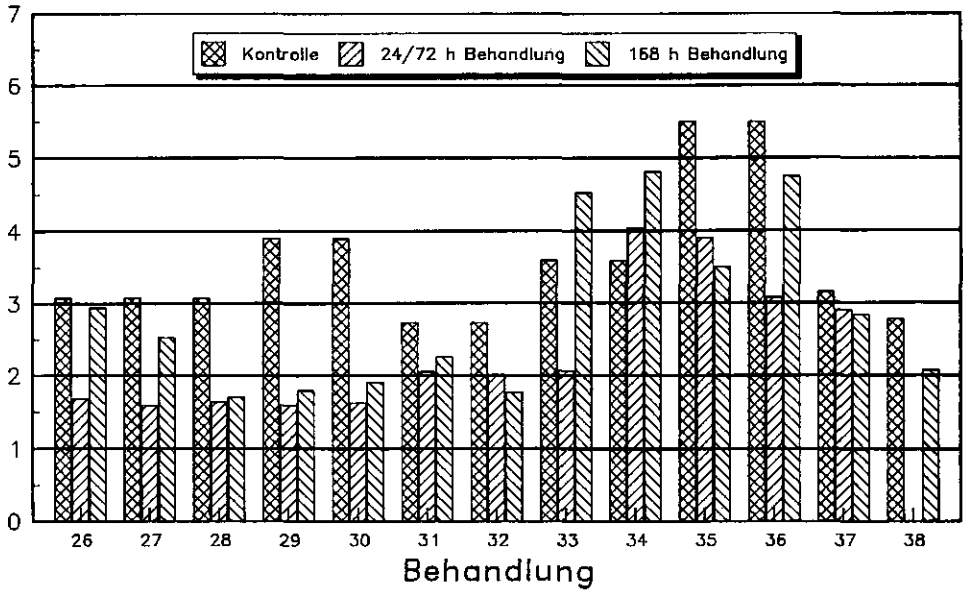
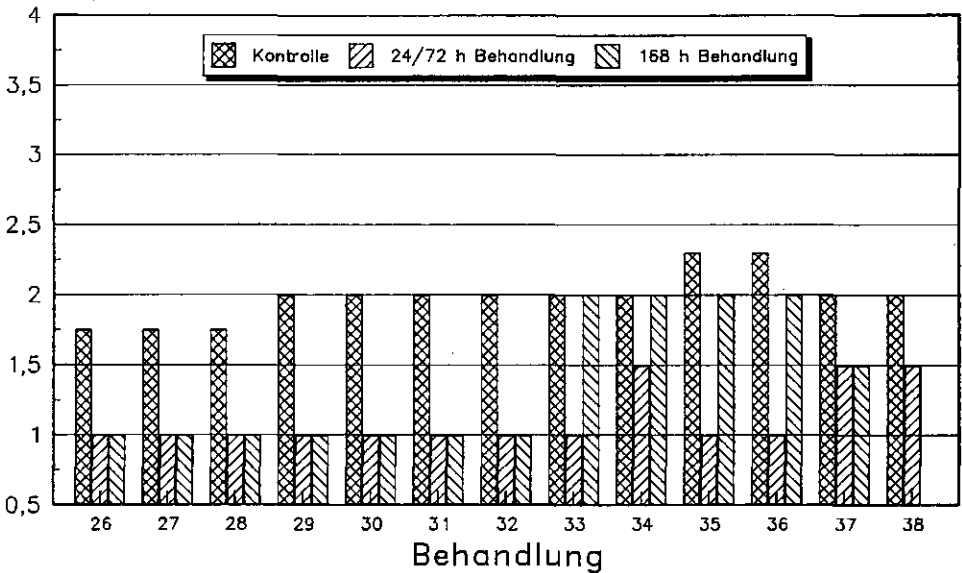


Abb. 64: Wasserdampfbehandlung der Proben (Behandlung 38). Holzproben (P) gelagert auf Glasröhrchen (g). Wasser wurde auf Heizplatte (h) verdampft, strömte an Proben vorbei, kondensierte an Kühlwendel (w). Das Kondensat wurde zurückgeführt.

Aufnahme [g]



Eindringung



Beurteilung der Eindringung in "Eindringklassen"
 1=sehr schlecht...4=sehr gut

Abb. 65 a u. b: Aufnahmemenge [g] und Eindringtiefe von Farbblösung in chemisch vorbehandelte und unbehandelte Holzproben (zur Erklärung der Behandlungen 26-38 siehe Tab. 33; für die Methode der Beurteilung der Eindringung siehe Abschnitt 3.1).

4.2.2.3 Auswahl von Chemikalien für Schnittholzversuch

EINLEITUNG

Im vorherigen Versuch waren einige Chemikalien in der Lage, die Imprägnierbarkeit der Fichtenproben -wenn auch nur geringfügig- zu verbessern, ohne dabei die Holzstruktur negativ zu beeinflussen. Die Mittel EDTA, Ammoniumoxalat und Na-Hexametaphosphat (Na-HMP) wurden deshalb hier erneut, jedoch in höherer Konzentration und mit höherer Temperatur, für Vorbehandlungen des Holzes verwendet. Ausserdem wurden die Mittel Ca-acetat und Essigsäure, mit welchen Sandermann und Jonas (1952) die Gaspermeabilität von kleinen Fichtenproben verbessern konnten sowie Ameisensäure und Phosphonopropionsäure angewandt.

MATERIAL UND METHODE

Holz

Für diese Versuche wurde getrocknetes Splintholz der gleichen Herkunft wie im vorherigen Versuch verwendet. Aus Brettern wurden Proben mit den Abmessungen 20 x 20 x 50 mm gesägt und gehobelt. Je Versuch wurden erneut 5 Proben eingebracht. Nur bei Behandlung 47 wurde frisch gesägtes Holz der Sägerei Zalo/ Loneker verwendet (Herkunft: Umgebung Zwolle).

Chemikalien

Die verwendeten Chemikalien und Versuchsparameter Konzentration, Temperatur und Behandlungsdauer sind in Tab. 34 aufgelistet.

Behand.	Mittel	Konz.[%]	Temp.[°C]	Dauer[h]
40	Ca-acetat	10	100	3/4
41	Ca-acetat	10	100	4
42	EDTA	1	100	4
43	Ammox.	10	100	4
44	Essigsäure	10	100	4
45	Na-HMP	10	100	4
46	Ameisensäure	10	20	360
47	Phosphonsäure	10	100	4

Tab. 34: Im Versuch Abschnitt 4.2.2.3 verwendete Chemikalien und Behandlungsparameter: Konzentration, Temperatur und Dauer.

BEHANDLUNGSMETHODEN

Behandlung 40

Die Behandlung mit Ca-acetat wurde ohne Vacuumimprägnierung der Proben mit der Flüssigkeit vorgenommen. Eine kochende 10 % Ca-acetatlösung wurde über die Proben gegossen, welche dann noch weitere 45 min in der Flüssigkeit gekocht wurden. Mit dieser Vorbehandlungsmethode hatten Sandermann u. Jonas (1952) die Gaspermeabilität getrockneten Holzes erhöhen können. Nach der Behandlung wurden die Proben ohne Ausspülen bei 18 °C/ 40 % relativer Luftfeuchte getrocknet.

Behandlungen 41 bis 45

Bei diesen Behandlungen wurden die Flüssigkeiten auf 100 °C erwärmt und dann die Holzproben unter Druck (2 h, 10 bar) mit der Lösung imprägniert. Anschliessend wurde die Temperatur erneut auf 100 °C gebracht und die Proben 2 h in der Lösung gekocht. Nach der Behandlung wurden die Proben ebenfalls bei 18 °C/40 % zurückgetrocknet. EDTA ist im Handel nur in 1 % Lösung erhältlich und wurde deshalb nicht in stärkeren Konzentrationen verwendet. Die Löslichkeit von Ammoniumoxalat bei Zimmertemperatur liegt bei ca. 2 %. Da hier jedoch mit heissen Lösungen gearbeitet wurde, konnte eine 10 % Konzentration erreicht werden.

Behandlung 46

Bei der Behandlung mit Ameisensäure (HCOOH) wurden die Proben untergetaucht und 15 Tage lang in einer 10 % Lösung bei Zimmertemperatur gelagert. Die Proben wurden anschliessend zurückgetrocknet und dann mit PVAc-Leim abgedichtet. Die Vacuumimprägnierung wurde jedoch diesmal nicht mit wässrigem Rhodamine B ausgeführt, sondern mit einem wässrigen Holzschutzmittel (Impra CCO) auf der Basis von Kupfer-, Chrom- und Borsalzen.

Behandlung 47

In dieser Behandlung wurden die Holzproben mit einer 10 % Lösung von Phosphonopropionsäure (pH 1) im Druckverfahren (2 h/ 10 bar) imprägniert. Die Proben wurden dann weitere 2 h in der Lösung gekocht, dann zurückgetrocknet und anschliessend mit einem wässrigen Holzschutzmittel imprägniert.

ERGEBNISSE

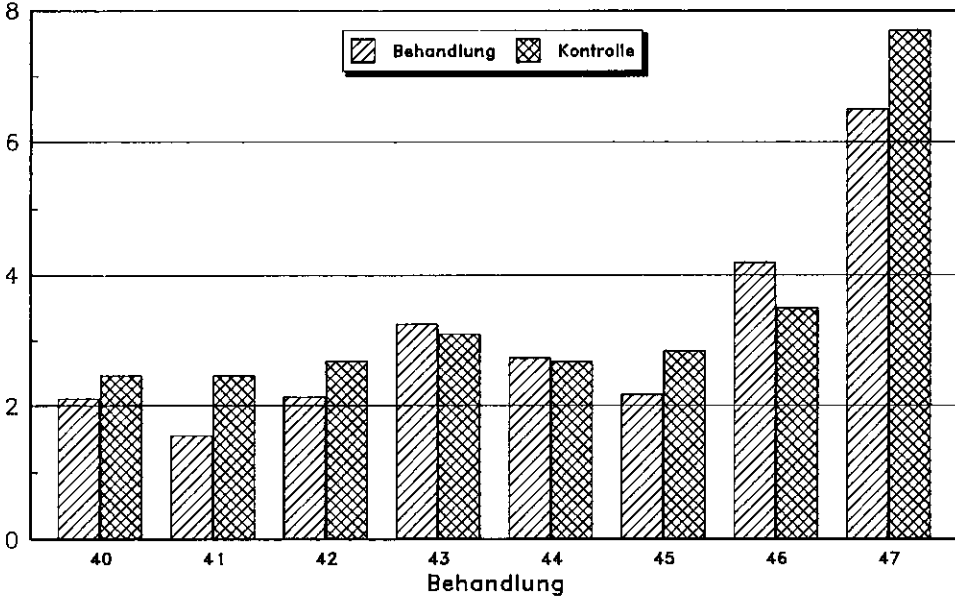
Wie auch bereits bei den vorherigen Versuchen wurden alle Proben nach der Behandlung visuell beurteilt. Dann erfolgte eine Vacuum-Druckbehandlung (15 min Vac/ 15 min Druck 3 bar) mit einem Holzschutzmittel, deren Aufnahme und Eindringung in den Proben als Mass für die Effektivität der Vorbehandlung genommen wird.

Aufnahme und Eindringung

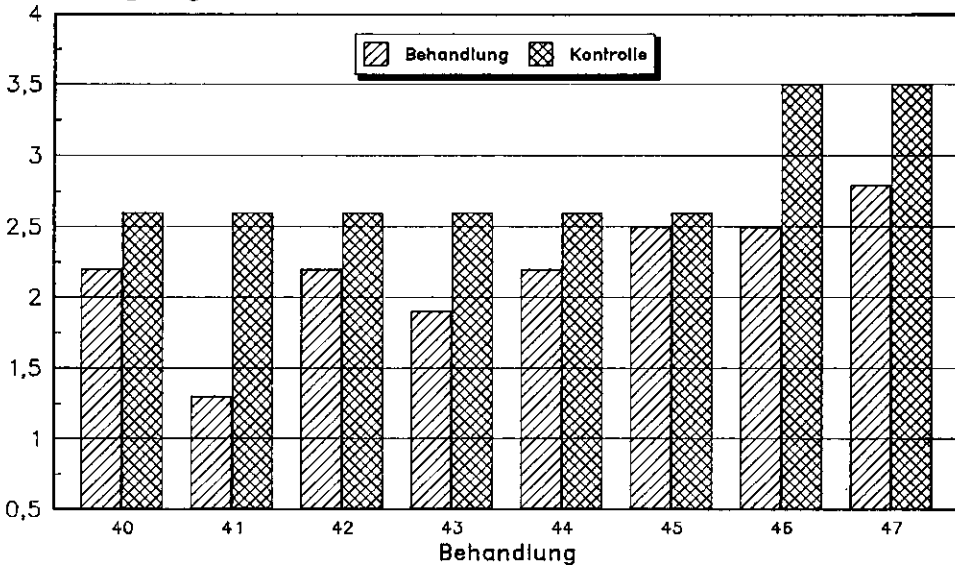
Die Messergebnisse der Aufnahme und Eindringung des wässrigen Farbstoffes bzw. des Holzschutzmittels in die Holzproben sind in *Abb. 66 a u. b* abgebildet. Anhand dieser Abbildungen ist zu erkennen, dass, wie auch bereits bei den vorherigen Versuchen, die Vorbehandlungen zu keiner oder zu nur geringen Verbesserungen der Imprägnierbarkeit des Holzes führen; und zwar dieses trotz höherer Behandlungstemperaturen und Mittelkonzentrationen.

Die Behandlungen mit Ca-acetat verschlechtern die Aufnahme und Eindringtiefe des Holzschutzmittels, wobei die "oberflächliche" Ca-acetatbehandlung (ohne Imprägnierung mit dem Mittel) zu einem besseren Resultat führt als die tiefergehende Behandlung (41). Das gute Ergebnis, welches Sandermann u. Jonas (1952) mit einer vergleichbaren Behandlung erzielten, kann mit den hier durchgeführten Versuchen nicht bestätigt werden.

Aufnahme [g]



Eindringung



Bewertung der Eindringung in "Eindringklassen"
 1 = sehr schlecht...4 = sehr gut

Abb. 66 a u. b: Aufnahmemenge [g] und Eindringtiefe von Farbblösung in chemisch vorbehandelte und unbehandelte Holzproben (zur Erklärung der Behandlungen 40 - 47 siehe Tab. 34; für die Methode der Beurteilung der Eindringung siehe Abschnitt 3.1).

Zu einer Verschlechterung der Holzschutzmittelaufnahme führte auch die Vorbehandlung mit EDTA. Dieses Resultat stimmt überein mit dem Ergebnis des vorherigen Versuches, in dem EDTA erst nach langer Behandlungszeit eine geringe Verbesserung verursachte. Die gleiche Tendenz wurde auch für Na-HMP konstatiert. Auch Phosphonopropionsäure verbesserte unter den gewählten Versuchsbedingungen die Imprägnierbarkeit des Holzes nicht.

Von den diversen Vorbehandlungen führten lediglich Ammoniumoxalat, Essigsäure und Ameisensäure zu einer Verbesserung der Aufnahme. Da jedoch beim Versuch mit Ameisensäure die Tränkung nach der Vorbehandlung nicht mit wässrigem Rhodamine B, sondern mit einem wässrigen Holzschutzmittel durchgeführt wurde, sind diese Ergebnisse nicht direkt miteinander vergleichbar. Sie weisen jedoch darauf hin, dass auch Ameisensäure die Imprägnierbarkeit des Fichtenholzes geringfügig verbessert.

Visuelle Beurteilung

Keine der Vorbehandlungen veränderte die Holzstruktur wesentlich. Auf eine Bewertung jeder einzelnen Probe konnte deshalb verzichtet werden.

Zusammenfassung der Ergebnisse

Die Ergebnisse dieses Teilversuches machen deutlich, dass keine der verwendeten Chemikalien bei einer kurzzeitigen Vorbehandlung die Imprägnierbarkeit des Holzes zufriedenstellend verbessert. Einige der Mittel verschlechterten die Aufnahme und Eindringung des Holzschutzmittels sogar und sind deshalb für weitere Versuche mit grösseren Holzproben (Schnittholz) nicht geeignet.

Eine Verbesserung der Schutzmittelaufnahme wurde nur mit Ammoniumoxalat, Essigsäure und Ameisensäure erreicht. Da die Behandlung mit Ameisensäure im Gegensatz zu den beiden anderen Behandlungen trotz der langen Dauer (15 Tage im Vergleich zu 4 h) keine besseren Resultate brachte, wurden für die weiteren, längerdauernden Versuche mit Schnittholz Ammoniumoxalat und Essigsäure ausgewählt.

Obwohl Na-HMP in diesem Versuch ein nur mässiges Resultat erreichte, wurde es dennoch für die Schnittholzversuche ausgewählt. Diese Auswahl erfolgte, weil Na-HMP in dem vorherigen Versuch bei längerer Einwirkdauer die Imprägnierbarkeit der Proben verbessern konnte.

4.2.3 Versuche mit Schnittholz

EINLEITUNG

Anhand der Resultate der drei Versuche mit Kleinproben wurden drei Chemikalien für Versuche mit Schnittholzproben ausgewählt. Dieses waren im einzelnen: Ammoniumoxalat, Na-Hexametaphosphat (Na-HMP) und Essigsäure.

Der Erfolg der chemischen Vorbehandlung wurde -wie auch bereits bei anderen Versuchen beschrieben (siehe *Kapitel 3*)- anhand von Tränkversuchen ermittelt. Die behandelten und unbehandelten Proben wurden dafür im Kesseldruckverfahren mit einem wässrigen Holzschutzmittel imprägniert und die Aufnahme und Eindringung des Mittels in den Proben miteinander verglichen. Als weiteres Mass für den Erfolg der

Vorbehandlung dienten Messungen der Wasserpermeabilität des unbehandelten und behandelten Holzes. Festigkeitsbestimmungen (Biegefestigkeit und E-modul) gaben abschliessend Auskunft über eine eventuelle Reduktion der Holzfestigkeiten aufgrund der chemischen Vorbehandlung.

MATERIAL UND METHODE

Holz

Für diese Versuche wurde, wie auch bereits im letzten Kleinprobenversuch, frisch gefälltes Holz aus der Gegend von Zwolle verwendet, welches am vorherigen Tag gefällt worden war und somit keine Verblauung aufweisen konnte. Die Stämme wurden in 25 mm dicke Bohlen gesägt, Kern- und Splintholz in frischem Zustand differenziert. Das Holz wurde anschliessend bei 18 °C/ 50 % relativer Luftfeuchte getrocknet. Für die Versuche wurden aus 5 Bäumen (Baum 1,3,6,7,8) jeweils 2 Bohlen in Proben mit 150 mm Länge und variabler Breite gesägt. Für die Festigkeitsversuche wurden fehlerfreie Splint- und Kernholzproben aus den gleichen Bohlen gesägt.

Chemikalien

Wie bereits in der Einleitung genannt, wurden die Schnittholzproben mit den in Tab. 35 aufgelisteten Chemikalien vorbehandelt.

Behandl.	Mittel	Konz. [%]	Temp. [°C]	Dauer [Tg]
I	Essigsäure	2	60	10/20
II	Na-HMP	2	60	10/20
III	Ammoniumoxalat	2	60	10/20
IV	Wasser		60	10/20

Tab. 35: Für die Vorbehandlung von Schnittholz verwendete Chemikalien (Abschnitt 4.2.3).

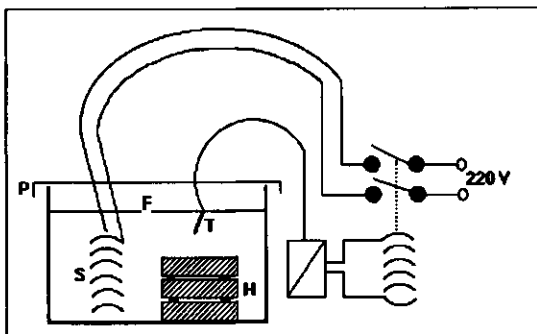


Abb. 67: Versuchsaufstellung bei der Behandlung mit Essigsäure. Die Holzproben (H) wurden in Plastikwannen in der Säure gelagert. Die Temperatur wurde durch T auchsieder (S) mit Thermosensor (T) geregelt. Weiterhin bedeuten: F = Flüssigkeitsspiegel, P = Plastikdeckel gegen Verdunstung.

Behandlungen I-IV:

Die Holzproben wurden in Plastikwannen (45 x 45 x 50 cm) gestapelt und in einer Kesseldruckanlage mit Vacuum (1.5 h) und Druck (3.5 h, 10 bar) mit den Flüssigkeiten imprägniert. Die Behandlungen II-IV wurden in Klimaschränken, durch Abdecken vor Verdunstung geschützt, auf 60 °C gebracht und dort während des Versuchszeitraumes gelagert. Zum Erreichen der Temperatur (60 °C) bei der Behandlung mit korrosiver Essigsäure (Behandlung I) wurden in die Plastikbehälter grosse Tauchsieder eingebracht. Ein Temperaturfühler regelte während des Versuchs die gewünschte Temperatur (siehe *Abb. 67*). Nach Beendigung der Versuche wurden die Proben bei 18 °C/ 50 % relativer Luftfeuchte zurückgetrocknet.

Ergebnisermittlung

Vor der Imprägnierung mit einem wässrigen Holzschutzmittel (CKB-Salz, 3 %) wurden alle Hirnflächen der Proben mit einem Epoxyharz abgedichtet. Die Imprägnierung wurde dann im Kesseldruckverfahren (15 min Vacuum, 15 min Druck 3 bar) vorgenommen und anschliessend die Schutzmittelaufnahme [kg/m³] und die Eindringtiefe bestimmt. Im Gegensatz zu der rein visuellen Beurteilung der Eindringtiefe in allen bisherigen Versuchen (siehe *Kapitel 3*) wurde in diesem Versuch aufgrund gleichmässiger Eindringung die Eindringtiefe des Mittels an 5 Stellen der Probe gemessen und rechnerisch gemittelt.

Aufgrund sehr geringer Unterschiede in der Eindringtiefe zwischen vorbehandelten und unbehandelten Proben wurden die Resultate der Eindringtiefe sowie der Aufnahmemenge der verschiedenen Behandlungen statistisch ausgewertet. Davon ausgehend, dass die Daten normalverteilt sind, wurden eine Varianzanalyse mit Zweifach-Einteilung (two-way classification) und ein F-Test angewandt. Auf diese Weise liessen sich "Behandlungseffekte" von "Baumeffekten" trennen. Mit einem t-Test (Student's t-Test) wurden kleinste signifikante Unterschiede (LSD) erarbeitet. Mit den gleichen statistischen Berechnungen wurden ebenfalls die Resultate der Festigkeitsuntersuchungen und der Permeabilitätsmessungen ausgewertet.

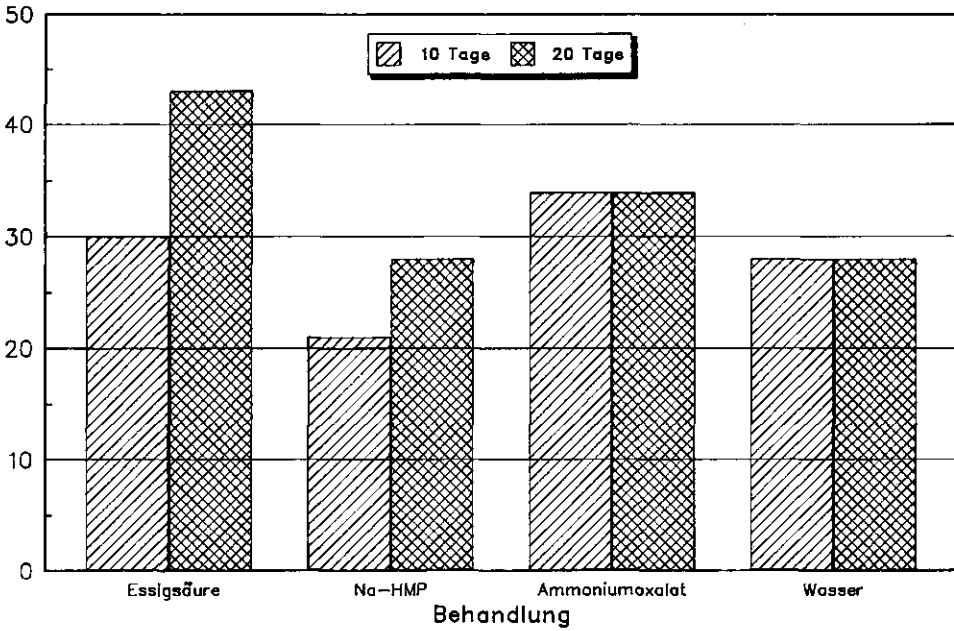
ERGEBNISSE

Aufnahme und Eindringung von Holzschutzmitteln

Die Aufnahmemengen und Eindringtiefen des Holzschutzmittels in die Proben sind in den ANOVA-Tabellen im Anhang 2 und 3 aufgelistet. *Abb. 68 a u. b* zeigen die gemittelten Werte der verschiedenen Behandlungen.

Bei der Betrachtung der Aufnahmewerte fällt auf, dass der durch die chemische Vorbehandlung verursachte Effekt nicht grösser ist als der durch die Anwendung von Holz verschiedener Bäume hervorgerufene Unterschied. Bei einer Signifikanzstufe von 0.05 können bei den meisten Behandlungen auch keine Unterschiede zum unbehandelten Holz nachgewiesen werden. Eine Ausnahme bildet hierbei die 20-tägige Vorbehandlung mit Essigsäure, die signifikant von der Kontrollbehandlung verschieden ist. Bei Erhöhung der Signifikanzstufe auf 0.10 lassen sich auch für die kurze Essigsäurebehandlung und die Ammoniumoxalatbehandlungen signifikante Unterschiede wahrnehmen. Die Werte der kurz- und langdauernden Behandlung mit Na-HMP hingegen unterscheiden sich nicht von der Kontrollbehandlung.

Gewichtszunahme [%]



Eindringtiefe [mm]

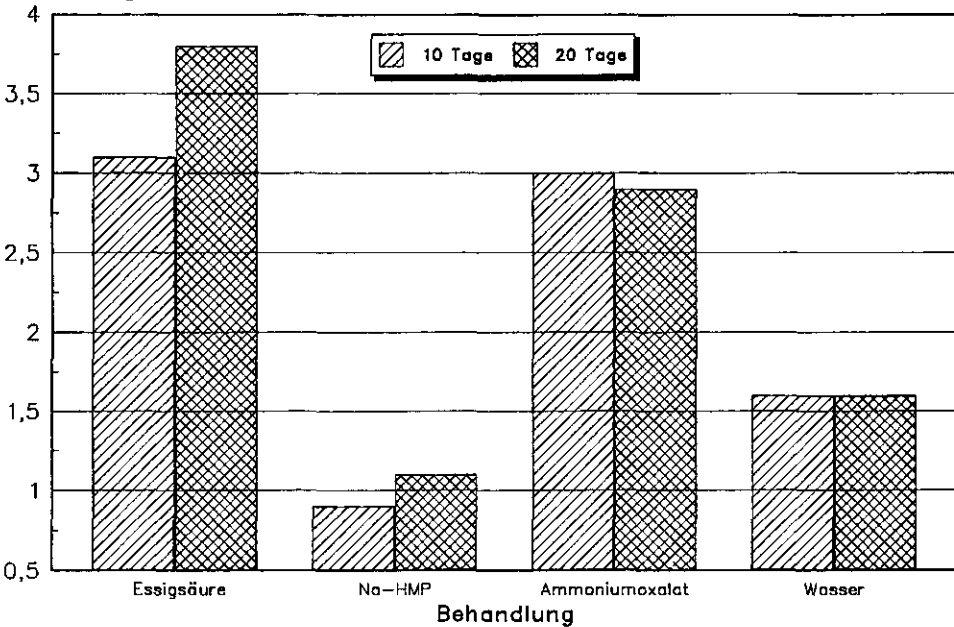


Abb. 68 a u. b: Aufnahmemenge [g] und Eindringtiefe [mm] von Farblösung in chemisch vorbehandelte und unbehandelte Holzproben.

Deutlicher sind die Behandlungseffekte bezüglich der Eindringtiefe nachweisbar. Sowohl Ammoniumoxalat als auch Essigsäure verbessern die Eindringung (Signifikanzniveau $L= 0.05$) bereits nach 10 Tagen Vorbehandlung signifikant. Ein Unterschied zwischen der kurz- und langdauernden Behandlung kann jedoch nicht nachgewiesen werden. Na-HMP verbesserte die Eindringung nicht.

Sowohl bezüglich der Aufnahmemenge als auch bei der Eindringtiefe lassen sich nicht nur durch die Vorbehandlungen verursachte Unterschiede nachweisen, sondern ebenfalls Unterschiede zwischen den verschiedenen Bäumen feststellen. Dies macht erneut deutlich, wie wichtig eine sorgfältige Probenauswahl und Probeneinteilung bei Versuchen mit Holz sind.

Permeabilität gegenüber Wasser

Die Messungen der Wasserpermeabilität wurden mit der gleichen Messanlage wie die in *Abschnitt 3.3.2* beschriebenen Versuche durchgeführt. Messmethode und Methode der Ergebnisermittlung sind dort nachzulesen. Die Ergebnisse der 60 min dauernden Permeabilitätsmessungen sind graphisch in den *Abb. 69 a-d* wiedergegeben.

Bei der Betrachtung der Graphiken wird deutlich, dass die Wasserpermeabilität nach den verschiedenen Behandlungen nicht grösser ist als die Permeabilität der Kontrollbehandlung.

Um jedoch auch eventuell geringfügig vorhandene Unterschiede nachweisen zu können, wurden die Messwerte zum Zeitpunkt $t=45$ min mittels der oben genannten statistischen Methoden miteinander verglichen. Auch diese Auswertung erbrachte das Ergebnis, dass bezüglich der Wasserpermeabilität mit der hier angewandten Messmethode keine signifikanten Unterschiede zwischen den Behandlungen nachweisbar sind.

4.2.4 Festigkeitseigenschaften des Holzes nach chemischer Vorbehandlung

MATERIAL UND METHODE

Splint- und Kernproben wurden in den vorher beschriebenen Versuchen mit unterschiedlichen Chemikalien behandelt. Anschliessend wurden im Biegeversuch (DIN-Norm 52186) die Biegefestigkeit und das E-modul behandelter und un behandelter Proben bestimmt (Methode des Biegeversuches: siehe *Abschnitt 3.4*). Eine genauere Beschreibung des Probenmaterials und der chemischen Vorbehandlung ist in *4.2.3* gegeben. Die Probenabmessungen betragen $20 \times 20 \times 400$ mm. Die Resultate wurden, wie auch bereits im vorherigen Kapitel erwähnt, mittels statistischer Methoden ausgewertet (Varianzanalyse, F-Test, t-Test).

ERGEBNISSE

Die Mittelwerte der im Biegeversuch bestimmten Festigkeiten sind in *Tab. 36* aufgenommen. Die Ergebnisse sind ausserdem als ANOVA-Tabellen im Anhang 4-6 aufgenommen. Die Kernholzdaten des Versuches mit Ammoniumoxalat wurden nicht ausgewertet, da aufgrund eines holzfehlerbedingten Probenausfalles nicht genug Daten zur Verfügung standen.

Der Vergleich der Festigkeiten des Splintholzes zeigt, dass zwar ein signifikanter Unterschied zwischen den aus verschiedenen Bäumen kommenden Proben besteht, nicht jedoch auch ein behandlungsbedingter Unterschied. Dieser Unterschied zwischen den verschiedenen Bäumen ist auch beim Kernholz zu erkennen, hier jedoch in geringerer Grössenordnung. Auch beim Kernholz führten die chemischen Vorbehandlungen in der Regel nicht zu einer Schwächung der Holzstruktur. Lediglich bei der kurzzeitigen Behandlung mit Na-HMP zeigte sich eine, wenn auch geringe, Verringerung der Biegefestigkeit. Warum dies dann nicht auch bei der 20-tägigen Behandlung mit Na-HMP nachzuweisen ist, kann nicht erklärt werden.

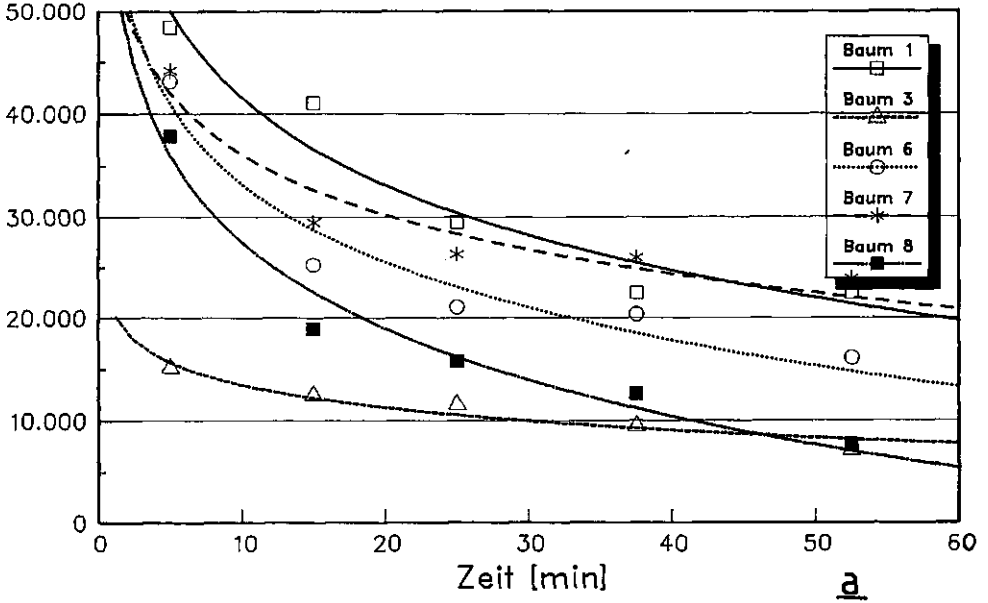
Zusammenfassend kann ausgesagt werden, dass eine 10- bzw. 20-tägige Behandlungen mit Ammoniumoxalat oder Essigsäure bei 60 °C Behandlungstemperatur die Biegefestigkeit und das E-modul des Splint- und Kernholzes nicht verringern.

	Splintholz				Kernholz				
	E-modul		Biegef.		E-modul		Biegef.		Tg.
	10	20	10	20	10	20	10	20	
Ammoniumox.	3140	3310	56	61	2400		51		
Essigsäure	3400	3400	60	54	2700	2750	49	48	
Na-HMP	3420	3050	59	54	2500	2700	48	57	
Wasser	3140		54		2870		54		

Tab.36: Gemittelte Werte des im Biegeversuch bestimmten E-moduls [N/mm²] und der Biegefestigkeit [N/mm²] von behandelten und unbehandelten Splint- und Kernholzproben.

Kontrolle

Permeabilität [1/Pa*s]



Behandlung I

Permeabilität [1/Pa*s]

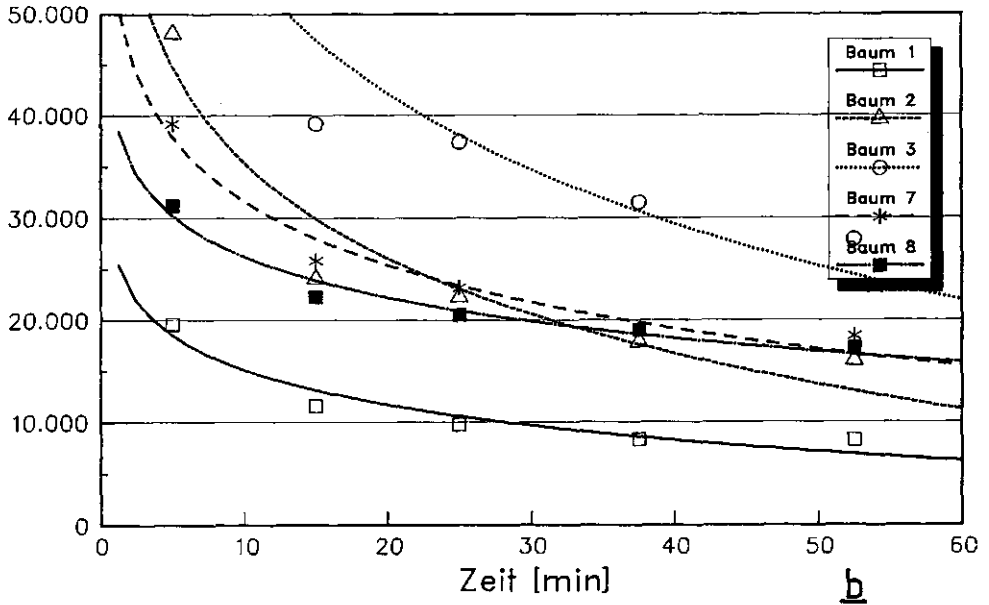
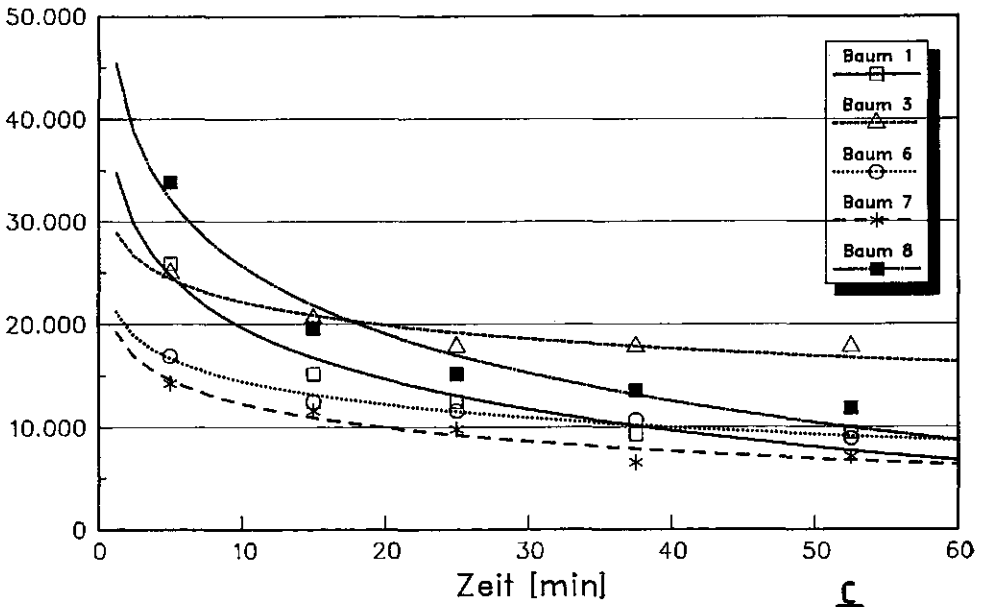


Abb. 69 a-d: Wasserpermeabilität [1 / Pa * s] von unbehandelten und chemisch behandelten Proben zu verschiedenen Zeitpunkten der Messungen.

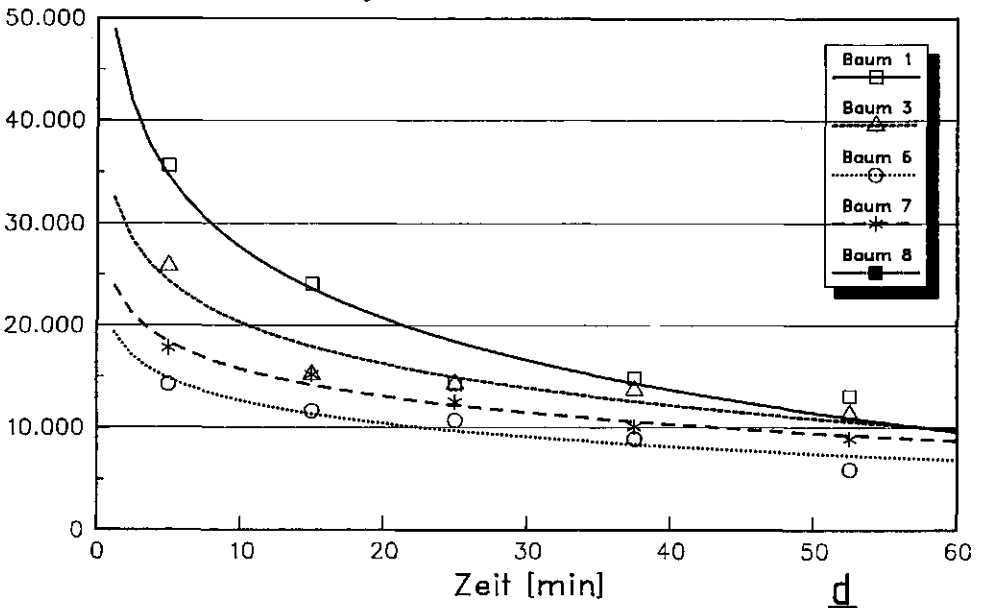
Behandlung II

Permeabilität [1/Pa*s]



Behandlung III

Permeabilität [1/Pa*s]



5 Rasterelektronenmikroskopie

Einige der in den Versuchen der Kapitel 3 und 4 mit Enzymen bzw. Chemikalien behandelten Fichtenholzproben wurden im Rasterelektronenmikroskop (REM) untersucht. Material und Methode der enzymatischen bzw. chemischen Behandlung sind den entsprechenden Kapiteln zu entnehmen. Die Holzproben wurden nach Meylan u. Butterfield (1978) für die REM präpariert. Die nachfolgend dargestellten Aufnahmen geben ein repräsentatives Bild der begutachteten Struktur der Proben wieder.

REM-Aufnahmen unbehandelten Fichtenholzes

- Abb. 70:** *Querschnitt durch eine Frühholztracheide. Zu erkennen sind die dünnwandigen Zellwände sowie die behöfteten Tüpfel als Verbindungspforten zwischen den benachbarten Tracheiden (2500 x Vergr.).*
- Abb. 71:** *Im Radialschnitt sind nebeneinander liegende Tracheiden mit intakten und geschlossenen Hoftüpfeln sowie Kreuzungsfeldtüpfel als Verbindung von Tracheiden mit Markstrahlparenchymzellen zu erkennen (600 x Vergr.).*
- Abb. 72:** *Wechselseitig nach oben bzw. unten geschlossene intakte Tüpfelreihen nebeneinander liegender Tracheiden unbehandelten Holzes (1000 x Vergr.).*
- Abb. 73:** *Intakter, geschlossener Hoftüpfel in Aufsicht. Deutlich zu erkennen ist der nach aussen gewölbte Hof, gegen den sich von innen der Porus anlegt und somit die Durchlässigkeit des Tüpfels gegenüber Flüssigkeiten und Luft behindert (4000 x Vergr.).*
- Abb. 74:** *Innenansicht des Hoftüpfels nach Entfernen des oberen Hofes. Zu erkennen ist der runde Torus, der seitlich durch das Fibrillengerüst der Margo mit der Zellwand verbunden ist (4000 x Vergr.).*



Abb. 70:



Abb. 71:



Abb. 72:

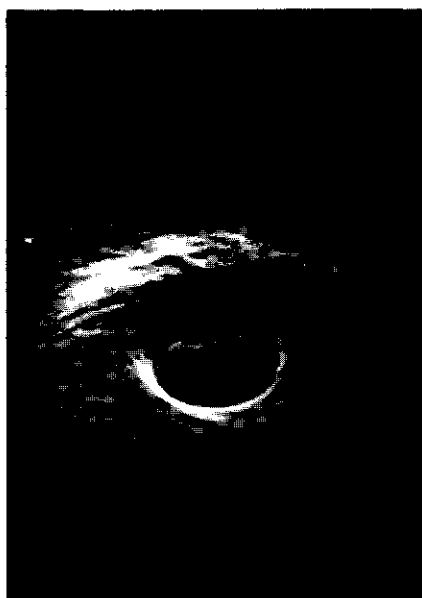


Abb. 73:



Abb. 74:

REM-Aufnahmen enzymatisch behandelten Fichtenholzes

Zu erkennen ist, dass durch die Enzymbehandlungen die Mikrostruktur der Zellwand auf unterschiedliche Weise verändert wird.

- Abb. 75:** *Angelöste Struktur nebeneinander liegender Hoftüpfel nach 10-tägiger Behandlung mit 2 % Rohament CT/ Pectinex 3xL (3500 x Vergr.).*
- Abb. 76:** *Durch Behandlung mit 1 % Rohament CA/ Rohapect DSP5 veränderte Struktur des Torus (4000 x Vergr.).*
- Abb. 77:** *Veränderung der Hoftüpfel durch 7-tägige Behandlung mit Rohament CT/ Pectinex 3xL. Die Margo und der Torus erscheinen stark aufgelöst und zeigen nicht mehr die normale Struktur (3000 x Vergr.; vgl. auch REM-Aufnahmen von unbehandeltem Holz).*
- Abb. 78:** *Brüchige Margo eines Hoftüpfels nach Behandlung mit 1 % Rohament CA/ Rohapect DSP5 (5400 x Vergr.).*
- Abb. 79:** *Aufsicht auf eine Tüpfelreihe nach Behandlung mit 1 % Rohament CA/ Rohapect DSP5. Die Tori der Tüpfel sind stark angegriffen und brüchig (1100 x Vergr.).*
- Abb. 80 u. 81:** *Durch Einwirkung von 1 % Rohament CA/ Rohapect DSP5 abgebaute Tori der Hoftüpfel. Ausserdem ist zu erkennen, dass die Zellwand selbst nicht angegriffen ist. Ebenso scheint die Margo nicht oder nur wenig durch die Enzymeinwirkung abgebaut zu sein (4000 x Vergr.).*
- Abb. 82:** *Kreuzungsfeldtüpfel (Tüpfel zwischen Tracheiden und Holzstrahlparenchym) nach Behandlung mit Rohament CA/ Rohapect DSP5. Deutlich zu erkennen sind die zerstörten Membranen vieler Tüpfel (1200 x Vergr.).*



Abb. 75:



Abb. 76:

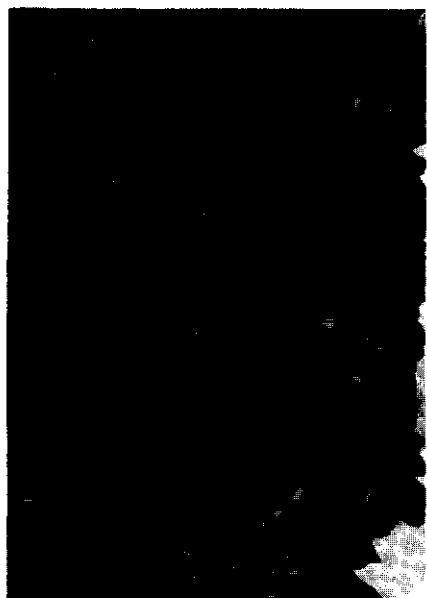


Abb. 77:



Abb. 78:

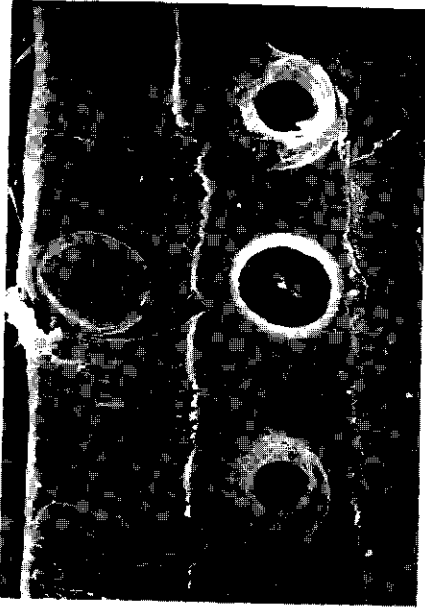


Abb. 79:



Abb. 80



Abb. 81:

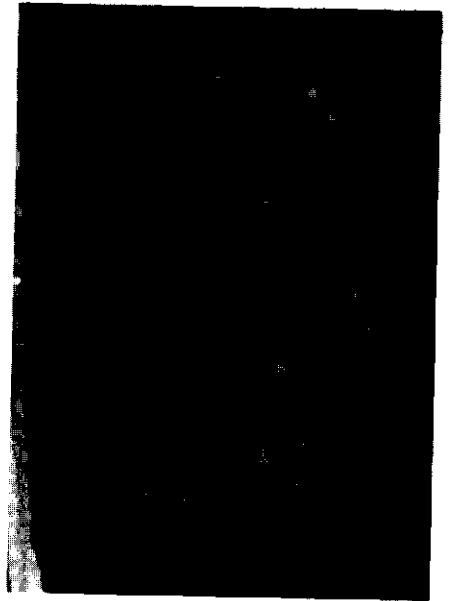


Abb. 82:

REM-Aufnahmen chemisch behandelten Fichtenholzes

Basterelektronenmikroskopische Aufnahmen (REM) des Splintholzes von Fichte nach 7 Tagen Behandlung mit 24 % KOH bei 4 °C

- Abb. 83:** *Nach KOH-Behandlung teilweise aufgelöste Tori der Hoftüpfel (3000 x Vergr.).*
- Abb. 84:** *Rauhe, teilweise angelöste Tracheidenwände (2200 x Vergr.).*
- Abb. 85:** *Angegriffene Hoftüpfel (1200 x Vergr.).*

REM-Aufnahmen des Splintholzes von Fichte nach 7 Tagen Behandlung mit 1 % Ammoniumoxalat bei 90 °C

- Abb. 86:** *Intakte Tracheidenwand mit Oxalatkristallauflagerungen nach Behandlung mit Ammoniumoxalat (1200 x Vergr.).*
- Abb. 87:** *Blick durch Pori in den Hof der Tüpfel. Die Tori liegen von der Margo losgelöst im Hof vor (3000 x Vergr.).*
- Abb. 88:** *Durch Ammoniumoxalatbehandlung teilweise gelöste Margofibrillen. Der Torus selbst ist nur wenig abgebaut (5000 x Vergr.).*
- Abb. 89:** *Durch Oxalatkristalle verstopfte Pori der Hoftüpfel. Die Zellwände der Tracheiden sind durch die Behandlung nicht angegriffen (2000 x Vergr.).*



Abb. 83:



Abb. 84:



Abb. 85:



Abb. 86:



Abb. 87:



Abb. 88:



Abb. 89:

6 Diskussion der Versuchsergebnisse

6.1 Chemische Vorbehandlung von Fichtenholz

Die im *Kapitel 4* beschriebenen Versuche hatten zum Ziel, die Permeabilität von Fichtenholz für Holzschutzmittel zu verbessern. Dazu wurden Fichtenholzproben mit Laugen, Säuren, Komplexbildnern und Calciumacetat in unterschiedlichen Konzentrationen, bei verschiedenen Temperaturen und mit unterschiedlicher Dauer vorbehandelt. Die Holzproben wurden anschliessend ausgewaschen, getrocknet und dann mit wässrigen Farblösungen bzw. Holzschutzmitteln imprägniert. Die von den Proben bei dieser Imprägnierung aufgenommene Menge Holzschutzmittel sowie die Eindringtiefe des Mittels in die Proben wurde als Mass für den Erfolg der Vorbehandlung genommen. Messungen der Wasserpermeabilität der Proben ergaben weitere Informationen über den Effekt der Vorbehandlungen. Behandlungsbedingte Festigkeitsreduktionen wurden durch Biegeversuche überprüft.

6.1.1 Vorbehandlung mit Laugen

Die Versuche der Vorbehandlungen mit KOH bzw. NaOH zeigen deutlich, dass sich als Folge der Laugenbehandlungen die Schutzmittelaufnahme und -eindringung ins Holz verschlechtern. Kurzzeitige Behandlungen (2-24 h) verursachen grössere Reduktionen der Aufnahme und Eindringung als länger dauernde Vorbehandlungen (7 Tage).

Bereits Sandermann u. Jonas (1952) konstatierten bei Permeabilitätsmessungen mit CO₂ an Fichtenholzproben einen stark negativen Einfluss durch Laugenbehandlung. Zu einem anderen Ergebnis kamen Yoshimito et al. (1972). Sie behandelten Mikroschnitte von *Cryptomeria japonica* D. Don und *Pinus thunbergii* PARL. 15 Minuten mit NaOH unterschiedlicher Konzentrationen und beobachteten im Lichtmikroskop in vielen Fällen Auflöserscheinungen der Hoftüpfel. Sie folgerten daraus, dass sich durch eine Laugenbehandlung die Imprägniereigenschaften der beiden Holzarten verbessern lassen, wiesen dies jedoch experimentell nicht nach.

Auch Imamura et al. (1974) zeigten mit Versuchen an verschiedenen Nadelhölzern, dass sich die Hoftüpfel aus jungen Geweben mit einer 5 % KOH-Lösung entfernen lassen. Zum Herauslösen der Tüpfel aus älteren Holzgeweben benötigten sie hingegen eine 24 % KOH-Lösung. Die Autoren vermuteten aufgrund dieses Ergebnisses, dass beim Alterungsprozess der Hoftüpfel chemische Veränderungen stattfinden.

Eine Erklärung für die Ergebnisse der eigenen Versuche, die teilweise von denen von Sandermann u. Jonas (1952) und anderen Autoren abweichen, kann anhand der elektronenmikroskopischen Aufnahmen des mit KOH behandelten Fichtenholzes gegeben werden. Im REM wird deutlich (siehe *Kapitel 5, Abb. 83*), dass die Tori der Hoftüpfel durch die Laugenbehandlung strukturell verändert und sogar zum Teil aufgelöst werden. Die Löcher im Torus beweisen, dass Laugen in der Lage sind, Zellwandpolymere wie Hemicellulosen und Pectine anzugreifen. Mikroskopische und makroskopische Untersuchungen des Holzes verdeutlichen jedoch auch, dass die Laugenbehandlungen zu einer starken Quellung der Zellwand und der

Hoftüpfelmembran führt. Aus diesem Grunde wird die Eindringung von Holzschutzmitteln in die Holzproben sehr behindert. Bereits bei kurzer Laugenbehandlung quellen die Zellwände stark; Tüpfel dagegen werden nur wenig abgebaut. Holzschutzmittel können deshalb kaum ins Holz eindringen. Mit fortschreitender Behandlungsdauer werden stets mehr Hoftüpfel abgebaut, so dass trotz der starken Zellwandquellung Schutzmittel ins Holz eindringen. Obwohl Tüpfel abgebaut werden, verbessert sich -insgesamt betrachtet- die Eindringung von Schutzmitteln nach NaOH- bzw. KOH-Behandlung nicht.

Zudem greifen Laugen, wie bereits erwähnt, die Zellwand an und verursachen dadurch eine Deformation der Proben und Zellwandschwächungen. Laugenbehandlungen mit dem Ziel der Verbesserung der Imprägnierbarkeit von Holz sind aus diesem Grunde nicht zu empfehlen.

6.1.2 Vorbehandlung mit Säuren

Bei den eignen kurzzeitigen Vorbehandlungen des Holzes mit unterschiedlichen Säuren (4 h Essigsäure, Ascorbinsäure, Phosphonsäure) verbesserte sich die Aufnahme und Eindringung von Holzschutzmitteln nicht. In einigen Fällen verschlechterte sich diese sogar (siehe *Abschnitt 4.2.2*). Lediglich eine 15-tägige Vorbehandlung kleiner Proben mit Ameisensäure erhöhte die Aufnahmemenge an Schutzmitteln, die Eindringtiefe hingegen war schlechter als bei unbehandeltem Holz.

Eine signifikante Verbesserung, sowohl bei der Aufnahmemenge als auch bei der Eindringtiefe von Schutzmitteln in Schnittholz ergab sich durch eine 20-tägige Vorbehandlung mit 2 % Essigsäure.

Auch Sandermann u. Jonas (1952) verbesserten die CO₂-Permeabilität von frischen und getrockneten Fichtenholzproben durch eine Salzsäurebehandlung. Da sie mit sehr kleinen Proben experimentierten (3 x 2 x 2 mm), wurde diese Verbesserung bereits nach einer 4-tägigen Behandlung erzielt. Tschernitz (1973) erreichte mit einer Citronensäurebehandlung (pH 3.5) bei Douglasienholz (*Pseudotsuga menziesii* var. *glauca*) bessere Eindringtiefen von Creosotölen als in unbehandeltem Holz.

Die in den eignen Versuchen konstatierte Verbesserung der Imprägnierbarkeit des Fichtenschnittholzes kann mehrere Gründe haben. Zum einen unterliegen einige Zellwandpolymere auch unter schwach sauren Umständen hydrolytischem Abbau. Seifert (1967) wies an Kiefernholz nach, dass vor allem Pentosanketten und in geringerem Masse auch Hexosanketten durch schwache Säuren hydrolysiert werden. Dieser Abbau kann unter den gegebenen Behandlungsbedingungen jedoch nicht alleine für die Verbesserung verantwortlich sein. Durch die Einwirkung von Säuren werden auch verschiedene Extraktstoffe aus dem Holz gelöst. Charuk et al. (1974) sowie Vologdin et al. (1979) wiesen mit Versuchen an Kiefern- und Fichtenholz nach, dass sich die Permeabilität des Holzes in Bezug auf Gase und Flüssigkeiten durch Herauslösen diverser Extraktstoffe (Terpene, Harze, Fette) erhöhen lässt. Als Erklärung für diesen Effekt geben die Autoren an, dass die Tüpfelmembranen mit solchen Extraktstoffen verklebt sind und nach Extraktion leichter durchgängig werden. Bailey u. Preston (1969) erkannten ebenfalls eine Permeabilitätserhöhung von Douglasienholz nach Extraktion von Harzen und Terpenen, jedoch folgerten sie anhand mikroskopischer Studien, dass durch die Entfernung dieser Extraktstoffe das Interkapillarsystem der Zellwand zwischen den Tracheiden für Flüssigkeiten durchlässiger wird.

Die eignen Versuche haben gezeigt, dass nach der Säurebehandlung und anschließender Tränkung viele Harzkanäle mit Schutzmittel gefüllt waren. Diese Beobachtung lässt die Feststellung zu, dass durch die Behandlung mit Säuren Stoffe aus den Harzkanälen gelöst werden und diese somit besser für Flüssigkeiten durchgängig werden.

Farbliche Veränderungen der Holzoberfläche wiesen auf eine chemische Veränderung der Holzkomponenten hin. Im Biegeversuch konnte jedoch nachgewiesen werden, dass die Essigsäurebehandlung nicht zur Schwächung des Holzes führt. Die Begründung hierfür dürfte darin liegen, dass bei der angewandten Konzentration und Temperatur sich vor allem die Hemicellulosen chemisch verändern, die nur in geringem Masse zur Festigkeit der Holz Zellwand beitragen.

6.1.3 Vorbehandlung mit Komplexbildnern

In einigen Versuchsreihen wurden Chemikalien angewandt, von denen erwartet wurde, dass sie aufgrund ihrer starken Affinität zu metallischen Kationen die Calciumbrücken der Pectine brechen und somit die Löslichkeit der Pectine erhöhen würden.

Bei kurzandauernden Vorbehandlungen mit erhöhten Temperaturen (2-4 h, 70-100 °C) konnte keine verbesserte Schutzmitteleindringung erreicht werden. Vielmehr verschlechterte sich die Eindringung und Aufnahme von Holzschutzmitteln sogar. Bei der Verlängerung der Versuchsdauer auf 18-24 h verbesserten sich zwar die Aufnahmemengen im Vergleich zur kurzzeitigen Behandlung in geringem Umfang, trotzdem waren die Proben insgesamt weniger aufnahmefähig als die unbehandelten. Eine signifikante Verbesserung wurde erst mit einer 10-tägigen Ammoniumoxalatbehandlung erzielt. Dieser Effekt konnte jedoch bei einer Verlängerung der Vorbehandlung auf 20 Tage nicht mehr verstärkt werden.

Die Wirksamkeit von Ammoniumoxalat bei der Verbesserung der Eindringung von Holzschutzmitteln wurde auch von anderen Autoren beschrieben. Sandermann u. Jonas (1952) beobachteten, dass sich die Permeabilität von getrockneten Fichtenproben gegenüber CO₂ nach 45 min Kochen in 10 % Ammoniumoxalat erhöht. Dass die Autoren eine Verbesserung bereits nach 45 min Vorbehandlung erzielten, ist wahrscheinlich auf deren sehr kleine Probenabmessungen (10 x 5 x 5 mm) zurückzuführen.

Tschernitz (1973) behandelte Douglasienholz 7 Tage bei 80 °C mit Ammoniumoxalat und verbesserte durch diese Vorbehandlung die Eindringung von Creosotöl. Versuche mit EDTA und Na-HMP waren wenig erfolgreich. Das wurde auch in den eignen Versuche bestätigt.

Johannsson u. Nordman-Edberg (1987) verbesserten die Holzschutzmittelaufnahme von Fichtensplintholz durch eine Ammoniumoxalatbehandlung. Entgegen den eignen Versuchsergebnissen erreichten die Autoren jedoch auch eine Verbesserung durch Behandlungen mit EDTA und NTA. Durch eine ungenügende Beschreibung der Versuche kann dieses Ergebnis allerdings nicht weiter bewertet werden.

Eine Erklärung für die in den eignen Versuchen beobachtete Verbesserung der Schutzmittelaufnahme und -eindringung nach Ammoniumoxalatbehandlung lässt sich anhand der rasterelektronenmikroskopischen Betrachtung der Holzstruktur geben

(siehe Abb. 86-89) . Zu erkennen ist, dass die Margo und in geringerem Masse auch der Torus der Hoftüpfelmembranen durch das Ammoniumoxalat abgebaut werden, so dass Flüssigkeiten folglich besser ins Holz eindringen könnten. Die Zellwand hingegen wird nicht angegriffen. Das beweisen auch zusätzlich die Resultate der Biegeversuche. Wegen dieses Abbaus könnte eine grössere Verbesserung der Permeabilität des Fichtenholzes erwartet werden. Aufgrund der Molekülgrösse der Oxalatkristalle verstopfen jedoch viele Hoftüpfelpori mit Kristallen, so dass der Flüssigkeitsaustausch zwischen den Tracheiden beeinträchtigt wird. Damit ist auch zu erklären, warum eine Verlängerung der Vorbehandlungsdauer von 10 auf 20 Tage zu keiner weiteren Verbesserung führte.

Tschernitz (1973) erzielte in seinen Versuchen mit Ammoniumoxalat weitaus bessere Resultate. Er behandelte jedoch ausschliesslich Douglasiensholz. Bei dieser Holzart sind die Tori der Hoftüpfel aber anders geformt als beim Fichtenholz. Deshalb treten Verstopfungen der Pori weniger auf und somit wird auch die Eindringung von Flüssigkeiten weniger behindert. Eine direkte Vergleichbarkeit der Versuche ist aus diesem Grunde nicht möglich.

6.1.4 Vorbehandlung mit Ca-acetat

Die eignen Versuche zeigten, dass auch nach 4 h Kochen von Holzproben in 10 % Ca-acetatlösung keinerlei Verbesserung erreicht wird, sondern sogar eine Verschlechterung der Eindringung und Aufnahme von Holzschutzmitteln in die Proben entsteht. Dieses Ergebnis war anhand der guten Versuchsergebnisse von Sandermann u. Jonas (1952) mit diesem Stoff nicht zu erwarten.

Sandermann u. Jonas (1952) behandelten sehr kleine Fichtenproben (10 x 5 x 5 mm) und verbesserten bereits durch 45 min Kochen der Proben in Ca-acetat die Permeabilität des Holzes gegenüber CO₂. Sie folgerten daraufhin, dass das Ca-acetat das Quellverhalten des Hoftüpfels beeinflusst, so dass kein Tüpfelverschluss stattfinden kann. Der Behandlungserfolg der Autoren und ihre Schlussfolgerung muss anhand der eignen Versuchsergebnisse angezweifelt werden. Sandermann u. Jonas führten die Vorbehandlung an getrocknetem Fichtenholz durch, bei dem nach neueren Erkenntnissen (Bonsen 1987) der weitaus grösste Teil der Hoftüpfel bereits in geschlossenem Zustand vorliegt. Es ist deshalb nicht wahrscheinlich, dass sich durch die Ca-acetatbehandlung ein Hoftüpfelverschluss verhindern lässt. Hinzu kommt ausserdem, dass das Pectin im Torus in enger Verbindung mit anderen Zellwandpolymeren steht, so dass es auch ohne Ca-acetatbehandlung nicht stark quellbar ist.

6.1.5 Anwendung von Chemikalien für die Vorbehandlung von Fichtenholz in der Praxis

Von allen in den vorliegenden Versuchen getesteten Chemikalien liess sich die Aufnahme und Eindringung von Holzschutzmitteln ins Fichtenholz lediglich durch eine 20-tägige Essigsäure- und eine 10-tägige Ammoniumoxalatbehandlung signifikant verbessern. In beiden Fällen drang jedoch das Schutzmittel nur wenige mm tiefer als bei unbehandelten Proben in das Schnittholz ein. Weitere Versuche mit diesen beiden Chemikalien unter Variation der Konzentration, der Vorbehandlungsdauer und Versuchstemperatur müssten folglich die Frage klären, ob eventuell die Schutzmitteleindringung noch weitergehend verbessert werden kann. Weiterhin

müsste untersucht werden, ob sich durch eine solche Vorbehandlung das Auslaugverhalten von Holzschutzmittelkomponenten nachteilig verändert. Insgesamt betrachtet, ist es jedoch angesichts der nur geringen Verbesserung der Imprägnierbarkeit des Fichtenholzes trotz relativ langer Vorbehandlungszeiten fraglich, ob sich aufgrund der mit einer Essigsäure- bzw. Ammoniumoxalatbehandlung verbundenen Kosten diese Vorbehandlungsmethode in der Praxis durchsetzen könnte.

6.2 Enzymatische Vorbehandlung von Fichtenholz

6.2.1 Abbau von Polysacchariden des Holzes zu Uronsäuren und neutralen Zuckern

Das Ziel der Versuche war die Verbesserung der Permeabilität von Fichtenholz gegenüber Holzschutzmitteln durch Vorbehandlung mit Enzymen zu erreichen. Dabei wurden Enzyme angewandt, die auf dem Markt leicht zu beschaffen sind. Solche Enzympräparate, vor allem Pectinasen, Hemicellulasen und Cellulasen, sind bei verschiedenen Herstellern erhältlich. Die Enzyme werden aus verschiedenen Schimmelkulturen gewonnen. Sie werden im allgemeinen im Nahrungsmittelsektor eingesetzt. Erfahrungen über den Abbau von Zellwandkomponenten im Holz lagen dagegen nicht vor. Aussagen hierüber waren bei der Fragestellung der vorliegenden Arbeit jedoch von grosser Wichtigkeit.

Die Enzyme wurden zunächst analytisch auf ihre Wirksamkeit beim Abbau von Zellwandsubstanz untersucht (Kapitel 2). Als Substrat wurde fein gemahlene Holzmehl verwendet. Zum Screening des enzymatischen Abbaus hat ein solches Substrat im Vergleich zu intakten Holzproben den Vorteil, dass die Enzyme zum Abbau nicht erst in die intakte Holzstruktur eindringen müssen.

Die Versuche zeigten, dass beim Abbau von Polyuroniden und anderer Polysaccharide des Holzes ein grosser Unterschied zwischen den 18 getesteten Handelspräparaten besteht. Einige der Enzyme lösten nur sehr geringe Mengen an Polysacchariden aus dem Zellwandverband heraus, andere hingegen 15 - 20 % der im Holz vorkommenden Polyuronide und 5 - 10 % der Cellulose und Hemicellulosen. Am effektivsten zeigten sich hierbei Rohament CT und Maxazym CL 2000 alleine oder in Kombination mit Rohament 7069, Rohapect D5L, Rohapect DSP5 oder Pectinex 3xL und die Kombinationen Rohament CA/ Rohapect DSP5 bzw. D5L.

Die Abbauraten von Zellwandpolymeren ist relativ hoch. Sie ist auf die Schädigung des Zellverbandes beim Mahlen des Holzes zurückzuführen. Die Enzyme können dadurch direkter auf das Substrat einwirken.

Bei intakten Holzproben lassen sich die Zellwandpolysaccharide weitaus weniger wirksam aus der Zellwand herauslösen. Das zeigen die Analysenresultate der Versuche mit kleinen Holzblöcken (*Abschnitt 2.3*). Trotz Verwendung der an Holzmehl effektivsten Enzyme und einer Inkubationszeit von 10 Tagen liessen sich aus intaktem Holz nur maximal 1.6 % der in den Proben vorkommenden Polyuronide und nur 0.1 % der neutralen Zucker herauslösen. Die Werte beziehen sich allerdings nur auf die in der Enzymflüssigkeit nach der Behandlung der Proben analysierten Mengen an Polyuroniden und neutralen Zuckern. Dagegen gehen in diese Bewertung die in den

Proben abgebauten, jedoch nicht in die Flüssigkeit diffundierten, sondern in den Proben verbleibenden Mengen an Zuckern nicht mit ein. Es ist deshalb nicht auszuschliessen, dass der Abbau an Polyuronsäuren und anderen neutralen Polysacchariden in intakten Proben höher ausfällt als es die sehr niedrigen Zahlenwerte vermuten lassen. Abbaumengen in der Grössenordnung der an Holzmehl gefundenen Werte sind hingegen nicht zu erwarten.

Interessant hierbei ist jedoch das Abbauverhältnis von Polyuroniden (1.6 %) und neutralen Zuckern (0.1 %), welches bei intakten Holzproben $1.6 \% / 0.1 \% = 16$ ist. Bei Versuchen mit Holzmehl war dieses Verhältnis abgebauter Polyuronide (15 - 20 % der im Holz vorkommenden Gesamtmenge an Polyuroniden) zu Abbau an neutralen Zuckern (5 - 10 % der im Holz vorkommenden neutralen Zuckern) stets 2-3. Dieser Unterschied deutet darauf hin, dass sich mit den angewandten Enzymen Polyuronide (Teile der Pectin und Hemicellulosen) leichter aus der intakten Zellwand lösen lassen als Cellulose und Hemicellulosen (= neutrale Zucker).

Bestimmung der in der Fichtenzellwand vorkommenden Zuckerbausteine

Die Menge der in der Zellwand von Fichtenholz vorkommenden Zuckerbausteine wurde anhand gaschromatographischer Analysen mit vollkommen hydrolysierten Präparaten ermittelt (Abschnitt 2.2.2). Die in den Versuchen gefundenen Zuckerbausteine und -mengen sind in Tab. 37 aufgelistet. Sie stimmen überein mit der von Fengel et al. (1978) ebenfalls an Fichtenholz bestimmten Zusammensetzung.

Fengel u. Wegener (1984) weisen darauf hin, dass das Mengenverhältnis verschiedener Zucker in der Zellwand bei Nadelhölzern anders ist als bei Laubhölzern. Das Verhältnis von Xyl : Ara der im Fichtenholz vorkommenden Arabino-4-O-Methylglucuronoxylane variiert nach deren Untersuchungen zwischen 2.5 : 1 und 10 : 1. Zinbo u. Timell (1967) geben das Verhältnis Xyl : Ara : Me-GluU mit 7 : 1 : 1.2 an. In den eigenen Analysen wurde ein Verhältnis von 4.9 : 1 : 1.2 gefunden. Das Verhältnis der mit Alkali aus den O-Acetyl-Galactoglucomannanen gelösten Man : Gal geben sie mit 3 : 0.2 an. Das gleiche Mengenverhältnis wurde auch in den eigenen Versuchen festgestellt.

Zuckertyp	Vorkommen [Gew. %]	
	Fengel et al.	eigene Analysen
Mannose	13.6	14.3
Xylose	5.6	5.9
Galactose	2.8	0.9
Arabinose	1.2	1.2
Rhamnose	0.3	0
Uronsäure	1.8	1.6

Tab. 37: Zuckerbausteine in *Picea abies* (ausser Glucose) nach Fengel et al. (1978) und eigenen Analysen, bestimmt mit GLC an hydrolysierten Präparaten.

	M+P*	S1	S2	S2 innen+T
Galactan	16.4	8.0	0.0	0.0
Cellulose	33.4	55.2	64.3	63.3
Glucomanan	7.9	18.1	24.4	23.7
Arabinan	29.3	1.1	0.8	0.0
Arabino-4-O-methyl-glucoronyl-xylan	13.0	17.6	10.7	12.7
* P enthielt ebenfalls grosse Mengen an Galacturonan				

Tab. 38: Mengenverhältnis an Polysacchariden in den verschiedenen Zellwandschichten von Fichtentracheiden (Fengel u. Wegener 1984). M = Mittellamelle, P = Primärwand, S1 = Sekundärwand 1, S2 = Sekundärwand 2, T = Tertiärwand.

Bestimmung der aus der Zellwand des Holzes durch Enzymbehandlung herausgelösten Zuckerbausteine

Die durch Enzymbehandlung aus dem Holz herausgelösten Zucker wurden mittels HPGPC, HPLC und GLC analysiert (siehe Abschnitt 2.2.2). Die Ergebnisse der HPGPC-Analysen weisen darauf hin, dass die Enzyme die Zellwandbestandteile fast ausschliesslich zu niedermolekularen Zuckern (Mono-, Di-, Tri-, Tetra-, Heptamere) abbauen. Höhermolekulare Zucker kommen in den Enzymflüssigkeiten kaum vor.

Die HPLC-Analysen zeigen, dass die Aktivität von Rohament CT vor allem auf Cellulose gerichtet ist. Dies ist anhand der grossen Menge Glucose und nur geringen Menge Arabinose in der Enzymflüssigkeit zu erkennen. Bei Behandlung mit Maxazym CL 2000, besonders in der Kombination mit Pectinex 3xL, kommen dagegen zusätzlich die Hemicellulosen- und Pectinbausteine Galactose und Arabinose in der Flüssigkeit vor. Die GLC-Bestimmungen zeigten zudem, dass CL 2000, CT und CL/3xL insbesondere Glucose aus der Holzzellwand herauslösen, darüberhinaus auch Mannose, Galactose, Arabinose und Xylose.

Schols et al. (1986, unveröffentlicht) untersuchten die Abbauaktivität der gleichen Handelspräparate, jedoch mit anderen Substraten als Holz (Tab. 39). Aufgrund dieser andersartigen Substrate sind diese Ergebnisse nicht direkt mit den an Holzmehl gefundenen Werten vergleichbar. Trotzdem sind einige Übereinstimmungen mit den eigenen Resultaten feststellbar.

Maxazym CL 2000 baut vor allem Cellulose und Xylan ab. Dabei werden die Polymere hauptsächlich zu Mono- und Dimeren abgebaut. Arabane und Galactane werden während der 24 h Inkubation aus den Substraten von Schols et al. (1986) nicht abgebaut, jedoch aus der Holzzellwand herausgelöst. Rohament CT erreicht bezüglich seiner Aktivität vergleichbare Werte wie CL 2000. Die Kombination CL/3xL löste aus dem Holzmehl neben Glucose vor allem Arabinose, Mannose, Xylose und Galactose. Bei den Versuchen von Schols et al. (1986) zeigte 3xL ebenfalls hohe Aktivitäten beim Abbau dieser Zucker.

Enzym	CMC		H ₃ PO ₄ -C		Arabinan/ Pectin		Galactan		Xylan	
	3 h	24 h	3 h	24 h	3 h	24 h	3 h	24 h	3 h	24 h
CL 2000	++ 12	++ 12	+123	++123	-	-	-	-	++123	++ 123
CT	++ 12	++123	+ 12	++ 12	-	-	-	-	+ 123	+ 123
CA	+ 123	++ 12	± 12	+ 12	-	-	-	-	± 3	++1234
7069	++ 12	++ 12	+ 12	++ 12	-	± 1	-	-	-	++1234
D	-	+ 123	-	-	-	-	-	+ 4	-	+ 234
3xL	+ 234	+ 12	± 2	+ 12	-	±123	+124	++1234	+1234	++ 123

Tab. 39: Aktivität einiger Enzyme beim Abbau verschiedener Substrate nach 3 h und 24 h Inkubation (Schols et al. 1986, unveröffentlicht). Die Bewertung der Aktivität nach 3 h bzw. 24 h wird in der Tabelle folgendermassen wiedergegeben:

Zeichen Bedeutung

- keine Aktivität
- ± geringe Aktivität
- + Aktivität
- ++ hohe Aktivität
- 1 Monomer
- 2 Dimer
- 3 Trimer
- 4 Tetramer

Ein Streifen unter der Ziffer zeigt das mengenmässige Verhältnis der Zucker an, z.B. 1 2 3 mehr Monomere als Di- und Trimere oder 1 2 3 viel mehr Dimere als Mono- und Trimere

verwendete Substrate:

- Carboxymethylcellulose
- mit H₃PO₄ gequollene Cellulose
- Ultra Filtrate Retentate (UFR); eine hochmolekulare Fraktion flüssigen Apfelpulps. Enthält ca. 20 % Pectin und 50 % Arabinan.
- Galactan (aus Kartoffeln gewonnen)
- Xylan

Zur Vorbehandlung des intakten Holzes wurden auch andere Enzyme benutzt, deren Wirkung auf Zellwandpolysaccharide in den eignen Versuchen chromatographisch nicht untersucht wurden. Darunter waren auch Enzyme, die von Schols et al. (1986) analysiert waren.

Nach den Ergebnissen von Schols et al. (1986) bauen Rohament 7069 und Rohament CA ebenfalls Cellulose und Xylan ab. Auch Arabanaktivitäten sind nachweisbar. Pectinol D (die frühere Bezeichnung für Rohaspect D5L) besitzt geringe Aktivitäten beim Abbau von CMC und keine beim Abbau von gequollener Cellulose. Galactan und Xylan hingegen werden nach 24 h abgebaut. Pectinex 3xL besitzt Aktivitäten bezüglich vieler Substrate. Cellulose wird weniger abgebaut als durch CT, CL 2000, 7069 und CA. Es baut jedoch im Gegensatz zu den anderen Produkten Araban, Galactan sowie auch Xylan ab (siehe Tab. 39).

Abbau von Polyuroniden und Neutralzuckern

In Abschnitt 2.2 wurde nachgewiesen, dass die Enzyme Maxazym CL 2000 und Rohament CT sehr wirksam sowohl Neutralzucker als auch Polyuronide aus dem Holzmehl herauslösen. Hierbei war vor allem der Abbau der Polyuronide beachtenswert, da weder CT noch CL 2000 Polygalacturonsäure-Aktivität und nur geringe Araban- und Galactan-Aktivität besitzen (siehe Abschnitt 2.4). Dagegen bauten Enzyme mit hohen PG-Aktivitäten, wie Pectinex 3xL, Rohament DSP 5, D5L u.a. weitaus weniger Polyuronide ab. Dies, obwohl diese Präparate neben den pectolytischen Aktivitäten auch in geringem Masse cellulolytische und hemicellulolytische Aktivitäten besitzen.

Dieses Resultat weist darauf hin, dass sich die Polyuronide -entgegen der Erwartung- nicht am wirksamsten mit Pectinasen/ Hemicellulasenkombinationen aus dem Holzverband herauslösen lassen, sondern weitaus effektiver mit Enzymen, die Cellulose und Hemicellulosen abbauen. Ein Grund dafür liegt sicher in der engen Verflechtung der verschiedenen Zellwandpolymere, die Fry (1986) in einem hypothetischen Modell wiedergibt (Abb. 90). Danach sorgen neben glykosidischen Bindungen vor allem Esterbindungen, H-Brücken, Ca-Brücken und Phenol-Brücken für eine Verflechtung der Zellwandpolymere. Extensin kommt hierbei, aufgrund seiner Kapazität bei zwischenmolekularen Bindungen von Polypeptiden, eine Sonderrolle zu. Dem Modell zufolge, sind die Xyloglucane durch H-Brücken an die Mikrofibrillen der Cellulose gebunden, wogegen die Rhamnoglacturonane und ein Teil der Arabinane und Arabinogalactane kovalent gebunden sind. Rhamnogalacturonane sind nach Fry (1986) ausserdem durch Ca-Brücken miteinander und mit anderen Zellwandbestandteilen verbunden. Saure Phenole könnten daneben für die Verbindung zwischen Polysacchariden sorgen. Die sauren Pectine und die basischen Extensine wären durch Ionen verbunden. Inwieweit sich dieses für Primärwandstrukturen gültige Modell auch auf ausdifferenzierte Zellwände des Holzes übertragen lässt, ist ungeklärt.

Angesichts der vielfältigen Verknüpfungen der Pectine mit anderen Zellwandbestandteilen lässt sich erklären, dass für ein Herauslösen von Pectinen aus dem Zellwandverband (und folglich auch aus den Hoftüpfeln) Pectinasen alleine ungenügend sind. Cellulolytische und hemicellulolytische Enzyme (hierbei vor allem Xylanase), wie in Rohament CT und Maxazym CL 2000 enthalten, zerstören Teile der Matrix, in die die Pectine eingebaut sind und lösen auf diese Weise ebenfalls Uronsäuren aus dem Zellwandverband heraus.

Im Bereich der Lebensmittelchemie ist diese hohe Wirksamkeit von Cellulasen und Hemicellulasen beim Abbau von Pectinen nicht zu beobachten. Voragen et al. (1986) wiesen experimentell nach, dass reine Cellulase beim Abbau von Apfelpulp wenig wirksam ist, wogegen sich durch Beifügen von Pectinesterase und Polygalacturonase (PE, PG) grosse Mengen Uronsäure und auch neutrale Zucker aus dem Pulp herauslösen lassen. Dieses Ergebnis wird durch Versuche von Renard (1989) an Apfelpulp bestätigt, aus dem sich mit Hemicellulasen allein ebenfalls keine Uronsäuren herauslösen liessen. In Früchten scheint die Cellulose durch umringende Polyuronsäuren geschützt zu sein; im Holz hingegen sind die Polyuronsäuren durch die umringenden neutralen Polysaccharide schlechter abbaubar.

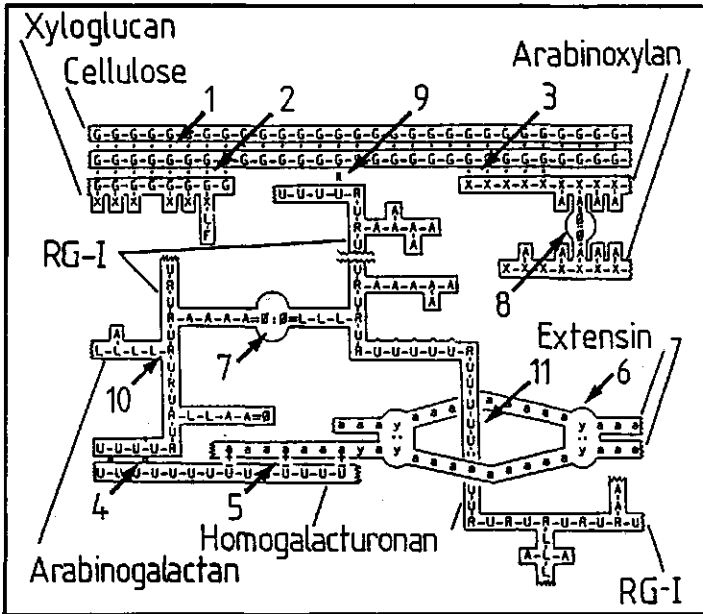


Abb. 90: Primärstruktur und Bindungsmöglichkeiten in der Primärwand (Renard 1989 nach: Fry 1986)

1 = Cellulose-Cellulose; 2 = Xyloglucan-Cellulose; 3 = Xylan-Cellulose; 4 = Homogalacturonan-Homogalacturonan; 5 = Extensin-Extensin; 6 = Extensin-Extensin; 7 = Pectin-Pectin; 8 = Arabinoxylan-Arabinoxylan; 9 = Pectin-Cellulose; 10 = Arabinogalactan-Arabinogalacturonan; 11 = Pectin in Extensin.

(.) = H-Bindung; (o) = Calciumbrückenbindung; (+) = andere Ionenbindung; (:) = Diphenolbrückenbindung; (=) = Esterbindung; (-) = Glykosidische Bindung.

A = Arabinose; F = Fucose; G = Glucose; L = Galactose; R = Rhamnose; U = Galacturonsäure; a = Aminosäure ohne Tyrosin; y = Tyrosin; y:y = Isodityrosin; O = Ferulasäure.

Abhängigkeit des Versuchsergebnisses von der Behandlungstemperatur

Bei der praktischen Anwendung der Enzyme für die Vorbehandlung von Holz ist die Frage der optimalen Behandlungstemperatur von grosser Wichtigkeit. Der überwiegende Teil der Enzymversuche an Holzmehl wurde bei 40 °C und einer Inkubationszeit von 24 h durchgeführt. Die Versuche zeigten, dass bei dieser Temperatur die unter den gegebenen Bedingungen maximal aus dem Substrat herauszulösenden Mengen an Polyuroniden und neutralen Zuckern erreicht werden (siehe *Abschnitt 2.2.1*). Dieses gilt jedoch nur für die Holzmehlversuche; an intakten Holzproben nahm auch noch nach 10 Tagen Inkubation die aus dem Holzverband freikommende Menge Uronsäuren und neutraler Zucker stetig zu (siehe *Abschnitt 2.3*).

Die Versuche an Holzmehl zeigten zudem, dass die Enzyme während des Versuchszeitraumes bei 40 °C im Vergleich zur Behandlungstemperatur von 20 °C 20-30 % mehr Polyuronsäuren und 5-10 % mehr neutrale Zucker aus dem Holz herauslösen. Bei den Versuchen mit intakten Holzproben müssen die Enzyme über einen Versuchszeitraum von 7-14 Tagen aktiv bleiben. Aus diesem Grunde wurde nicht nur das kurzzeitige Aktivitätsoptimum, vielmehr auch der Verlauf der Aktivität über einen längeren Versuchszeitraum hinweg untersucht.

Der Aktivität rückgang der drei an Holzmehl effektivsten Enzyme wurde in Bezug auf die Standardsubstrate Polygalacturonsäure, Carboxymethylcellulose und Xylose innerhalb eines Versuchszeitraumes von 14 Tagen untersucht (siehe *Abschnitt 2.4*). Von den getesteten Präparaten besitzt nur Pectinex 3xL Aktivität beim Abbau von Polygalacturonsäure. Diese nimmt jedoch bei einer Behandlungstemperatur von 40 °C innerhalb der ersten Stunden stark ab und ist nach 24 h kaum noch nachweisbar. Bei 20 °C Behandlungstemperatur behält das Enzym hingegen seine PG-Aktivität während des gesamten Versuchszeitraumes. CL 2000 und Rohament CT bauen keine Polygalacturonsäure ab. Auch die CMC- und Xylan-Aktivität der Enzyme reduziert sich bei 40 °C mehr als bei 20 °C. Bei 40 °C verlieren die Enzyme innerhalb der 14 Tage ca. 20 % der Aktivität, bei 20 °C weniger als 10 %.

Mit diesem Analysenergebnis lassen sich einige Versuchsergebnisse mit Schnitt- und Rundholz (siehe *Abschnitt 3.2*) erklären. In den Versuchen zeigte sich, dass die Enzymbehandlungen bei 20 °C die Imprägnierbarkeit des Holzes ebenso effektiv verbesserten wie die bei 40 °C. Das war aufgrund der in den kurzdauernden Enzymversuchen mit Holzmehl erzielten weitaus höheren Abbauraten zu Uronsäuren und neutralen Zuckern bei 40 °C im Vergleich zu 20 °C nicht zu erwarten. Eine Grund dafür, dass trotz der höheren Abbauaktivität die 10-14 tägige Behandlung von intakten Holzproben bei 40 °C keine besseren Resultate erzielt, könnte darin liegen, dass die Enzyme bei 40 °C schneller an Aktivität verlieren als bei 20 °C. Die anfänglich höhere Wirksamkeit wird dadurch schnell egalisiert. Es ist jedoch auch denkbar, dass das für den enzymatischen Abbau zugängliche Substrat bei 40 °C bereits nach einigen Tagen abgebaut ist, wogegen dies bei der Behandlung bei 20 °C erst nach 10-14 Tagen vollständig erreicht wird.

Die Versuche zeigen, dass die PG-Aktivität der Enzyme bei 40 °C innerhalb kürzester Zeit fällt (24 h; siehe *Abschnitt 2.4*). Dennoch verbesserten auch die länger dauernden Enzymbehandlungen bei 40 °C die Imprägnierbarkeit des Holzes erfolgreich. Das weist erneut darauf hin, dass die PG-Aktivität der Enzympräparate für den Abbau der

Hoftüpfel von untergeordneter Bedeutung ist und der Erfolg der Behandlung vielmehr in den Aktivitäten der Enzyme bezüglich Cellulose, Xylan und Arabinan begründet ist. Dieses Ergebnis erklärt den Erfolg von Adolf (1976), der Fichtenproben mit Pectinasen und einem Enzym mit Cellulase- und Hemicellulaseaktivität behandelte und somit die Tränkbarkeit der Proben vor allem mit diesem Präparat verbessern konnte.

6.2.2 Verbesserung der Imprägnierbarkeit von Fichtenholz durch enzymatische Vorbehandlung

Die Ergebnisse der Versuche mit Holzmehl zeigten Enzyme, die sehr effektiv beim Abbau von Holzpectinen und anderen Holzpolymeren sind. Die Erkenntnisse über den Verlauf und Erfolg von Enzymbehandlungen mit dem Ziel der Veränderung des anatomischen Zellwandaufbaus wurden an intakten Holzproben untersucht. Dazu wurden zahlreiche Versuche mit Fichtenholz-Kleinproben (20 x 20 x 50 mm) durchgeführt. Die Ergebnisse dieser Versuchsserien führten zur Auswahl optimaler Enzyme und Versuchsparameter für Versuche an Holz mit Praxisabmessungen.

Anschliessend wurden Enzymvorbehandlungen an zwei für die Praxis wichtigen Holzsortimenten (Rundholz, Schnittholz) vorgenommen.

Enzymatischer Abbau von Tüpfelmembranen

Sowohl bei den Versuchen mit Kleinproben als auch mit Rund- und Schnittholz liess sich die Aufnahme und Eindringung von Holzschutzmitteln ins Fichtenholz durch die Enzymvorbehandlung verbessern.

Versuche von Nicholas u. Thomas (1968), Bauch et al. (1973), Tschernitz (1973), Adolf (1974) und Meyer (1974) weisen darauf hin, dass ein Abbau von Hoftüpfelmembranen unterschiedlicher Holzarten zu einer erhöhten Permeabilität bzw. Verbesserung der Eindringung von Holzschutzmitteln führen kann. Dass die in den eigenen Versuchen gefundene Verbesserung der Imprägnierbarkeit ebenfalls teilweise auf dem Abbau von Hoftüpfelstrukturen beruht, beweisen REM-Aufnahmen von unbehandelten und enzymbehandelten Holzproben (siehe Abb. 70-89). Deutlich ist zu erkennen, dass die Hoftüpfel unterschiedlich stark durch die Enzyme verändert sind. Im REM-Mikroskop war festzustellen, dass bei einigen Tüpfeln der Torus und die Margo von den Enzymen angegriffen werden. Sie werden brüchig oder verlieren sogar ihre Struktur (Abb. 82-85). Einen anderen Zustand als Folge des enzymatischen Abbaus zeigen die Abb. 86-88. Bei diesen Proben ist der Torus teilweise abgebaut.

Ein weiterer Effekt der Enzymbehandlung ist in Abb. 89 zu erkennen. Die Enzyme bauen nicht nur die Margo und Tori der Hoftüpfelmembranen ab, sondern greifen auch die einseitig behöfteten Zellverbindungen zwischen Längstracheiden und Holzstrahlparenchym an. Als Folge davon entstehen Durchbrechungen in den Membranen, so dass die Flüssigkeiten von den Tracheiden durch die Parenchymzellen und weiter in andere Tracheiden gelangen können. Die Flüssigkeiten könnten dann weiterhin durch die Harzkanäle in longitudinaler Richtung fließen. Es ist deshalb anzunehmen, dass die Verbesserung der Imprägnierfähigkeit des geprüften Fichtenholzes zu entscheidenden Teilen auch durch diesen letztgenannten Effekt entsteht. Diese Vermutung wird bekräftigt durch Untersuchungen von Booker (1990), der anhand mikroskopischer Studien und Tränkversuchen an Rimu (*Dacrydium cupressinum* Lamb.) und Radiata Pine (*Pinus radiata* D. Don)

ebenfalls die wichtige Rolle der Harzkanäle und der Holzstrahlen für die Tränkbarkeit von Holz feststellt.

Wirksame Enzympräparate

Die beste Wirksamkeit aller getesteten Handelspräparate bei der Verbesserung der Imprägnierbarkeit (Aufnahme und Eindringung von Holzschutzmittel) von Fichtenholz besitzen die folgenden Enzyme:

<ul style="list-style-type: none">- Rohament CT- Rohament CA- Rohament 7069	allein oder in Kombination mit	<ul style="list-style-type: none">- Rohaspect D5L- Rohaspect DSP5- Pectinex 3xL- Rohament P- Ultrazym AFP
---	--------------------------------	---

Bei den Versuchen mit Holzmehl stellte sich heraus, dass einige Enzyme (Rohament CT, Maxazym CL 2000) beim Abbau von Polyuroniden und neutralen Zuckern anderen Präparaten gegenüber (Rohament CA, 7069) überlegen waren. Bei den Versuchen mit intakten Holzproben, bei denen es um die Verbesserung der Eindringung und Aufnahme von Holzschutzmitteln ging, war dieser Unterschied weniger deutlich wahrnehmbar. Dennoch war die Tendenz zu erkennen, dass die Enzyme, die bei den Holzmehlversuchen effektiv waren, auch bei den Rundholz- und Schnittholzversuchen zu den besten gehörten. Enzyme, welche aus Holzmehl wenig Zuckerbausteine herauslösten, waren auch bei der Vorbehandlung des intakten Holzes nicht wirksam. Ein Grund für den geringen Unterschied der Wirksamkeit der Enzyme bei den Schnittholz- und Rundholzversuchen liegt vermutlich darin, dass neben der in den Holzmehlversuchen untersuchten kurzfristigen Enzymwirksamkeit eine Reihe von anderen Faktoren hinzukommen, die das Ergebnis der Enzymvorbehandlung beeinflussen. Hierzu gehört sicherlich die bereits genannte unterschiedliche Temperaturstabilität der Enzyme bei länger andauernden Versuchen. Ausserdem besteht die Möglichkeit, dass die Enzyme aufgrund verschiedener Molekülgrößen unterschiedlich gut in das Holz eindringen können. Bei den Versuchen an Holzmehl spielte dieser Faktor eine untergeordnete Rolle.

Eine Verbesserung der Aufnahme und Eindringung von Holzschutzmitteln wurde durch die Enzyme vor allem im Splint von Fichtenholz erreicht. Das Kernholz wurde durch die Enzymbehandlung auch, jedoch in weit geringerem Masse aufnahmefähiger. Diese Tendenz, die sich auch in den Permeabilitätsversuchen mit Wasser nachweisen liess, scheint den Analysenergebnissen der Holzmehlversuche zu widersprechen. Dort hatte sich in allen Versuchen gezeigt, dass die Enzyme die Polyuronide und neutralen Zucker aus dem Kernholz ebenso effektiv herauslösen wie aus dem Splintholz.

Diese Diskrepanz kann unterschiedlich begründet werden. Sandermann u. Jonas (1952) weisen darauf hin, dass die Hoftüpfel des Kernholzes der Fichte mit aromatischen Stoffen verklebt sind. Diese aromatischen Stoffe behindern unter Umständen den Angriff der Enzyme auf die Margo und den Torus. Auf die gesamte Holzmasse bezogen sind die Mengen aromatischer Stoffe jedoch sehr gering, so dass die Enzymwirksamkeit beim Abbau von Holzmehl nicht eingeschränkt wird.

Ein anderer Grund für die geringere Effektivität der Enzyme im intakten Kernholz könnte darin liegen, dass die Kernholzhofthüpfel aufgrund von weiteren Auflagerungen an Zellwandmaterial für die Enzyme schwerer zugänglich sind, so dass der Abbau der

Tüpfel langsamer vonstatten geht als bei den dünneren, leichter zugänglichen Tüpfeln im Splintholz. Hierfür spricht, dass die Enzymbehandlung zwar weniger erfolgreich als beim Splint ist, jedoch auch im Kernholz die Imprägnierbarkeit sichtbar verbesserte.

Die wichtigste Ursache für diesen geringeren Effekt der Enzymbehandlung im Kernholz könnte jedoch darin zu suchen sein, dass die Verbesserung der Imprägnierbarkeit des Holzes durch enzymatische Vorbehandlung nicht nur auf dem Abbau der Hoftüpfel, sondern vor allem auch auf dem Abbau der Kreuzungsfeldtüpfel zwischen Längstracheiden und Holzstrahlparenchym beruht (siehe *Abb. 89*). Diese Tüpfel werden zwar auch im Kernholz abgebaut, jedoch verhindern die in den Parenchymzellen des Kernholzes vorliegenden Inhaltstoffe einen Flüssigkeitstransport auf diesem Wege.

Bei allen Tränkversuchen und Permeabilitätsmessungen war ausserdem festzustellen, dass die Enzymbehandlung auch innerhalb des Splintholzes zu sehr unterschiedlichen Wegsamkeiten führte. Bei einigen Proben erhöhte sich die Permeabilität durch die Enzymbehandlung um ein Vielfaches, andere hingegen waren nur wenig permeabler als unbehandeltes Holz. Bei den Tränkversuchen äusserte sich diese ungleiche Wirkung in sehr unregelmässiger Schutzmitteleindringung.

Auch dieser ungleiche Erfolg der enzymatischen Behandlung kann darauf beruhen, dass in einigen Bereichen des Splintholzes Inhaltstoffe innerhalb der Parenchymzellen die Eindringung von Flüssigkeiten behindern. Die ungleiche Wirkung bei gleichartigen Hoftüpfeln könnte auch, wie bereits beim Kernholz angesprochen, auf einer chemischen Variabilität der Tüpfel beruhen. Bauch und Berndt (1973) wiesen in den Hoftüpfeln von Douglasie und Tanne wechselnde Anteile aromatischer Verbindungen nach. Adolf (1974) vermutet daraufhin, dass auch im Fichtensplint die Tüpfel in unterschiedlichem Masse Aromaten enthalten können, welche die Enzymwirksamkeit einschränken. Eine Variabilität in der chemischen Zusammensetzung der Tüpfel innerhalb des Splintholzes stellten auch Imamura et al. (1974) an verschiedenen japanischen Hölzern fest. Bei ihren Versuchen liessen sich die Tüpfel junger Tracheiden mit 5 % KOH aus dem Zellverband herauslösen, die Tüpfel älterer hingegen erst mit 24 % KOH.

Eine weiterer Grund für die unregelmässige Verbesserung der Imprägnierbarkeit könnte auch darin liegen, dass einige Bereiche des Splintholzes für die Enzyme weniger gut erreichbar sind. Verschiedene Autoren (Bonsen 1987, Bauch 1971) zeigten, dass der Verschluss der Hoftüpfel nicht in allen Bereichen des Splintholzes in gleicher Weise geschieht. Anhand dieser Untersuchungen ist davon auszugehen, dass die Enzyme in die Bereiche, in denen ein Teil der Tüpfel unverschlossen ist, weitaus einfacher eindringen können als in Bereiche, in denen der grösste Teil verschlossen ist.

6.2.3 Anwendung enzymatischer Vorbehandlungen von Fichtenholz in der Praxis

Durch enzymatische Vorbehandlung von Fichtenrundholz und Fichtenschnittholz lässt sich die Aufnahme und Eindringung von Holzschutzmitteln wirksam verbessern. Das Ausmass des Behandlungserfolges hängt jedoch nicht nur vom verwendeten Enzym ab, sondern ebenfalls von einer Reihe anderer Faktoren, die im folgenden besprochen werden.

Enzymbehandlung

Durch eine 5-10 tägige Vorbehandlung konnte mit den wirksamsten Enzymen eine Steigerung der Tränkmittelaufnahme und -eindringung von über 100 % im Vergleich zum unbehandelten Holz erzielt werden. Dabei spielte die Behandlungstemperatur eine untergeordnete Rolle. Bei einer Temperatur der Enzymflüssigkeit von 20 °C wurden ebenso gute Ergebnisse erreicht wie bei 40 °C. Ebenfalls wurde dargestellt, dass die Einbringung der Enzyme in Wasser bzw. in Pufferlösung zu vergleichbaren Resultaten führt.

Die besten Schutzmitteleindringungen wurden erzielt, als das Enzym im Vacuum-Druckverfahren bei Behandlungsbeginn möglichst tief ins Holz eingebracht und dieses dann während der Behandlung untergetaucht in der Flüssigkeit lagerte. Ebenso erfolgreich verlief die Enzymbehandlung bei Beregnung des Holzes mit Enzymen. Ein grosser Vorteil dieser Methode ist, dass für die Enzymbehandlung keine grossen Bäder nötig sind, sondern das Holz aufgestapelt regelmässig beregnet werden kann.

Die Versuche zeigen, dass als eigentliche Dauer der Enzymbehandlung nicht nur der Zeitraum, in dem sich das Holz in der Enzymlösung befindet, angesehen werden kann. Einmal ins Holz eingebracht, sind die Enzyme auch noch nach Beendigung der Enzymbehandlung aktiv und werden erst inaktiv bei fortschreitender Trocknung. Die Imprägnierbarkeit des Holzes wird allerdings hauptsächlich in den ersten Tagen der Enzymbehandlung verbessert. Das verdeutlicht der Tränkversuch mit OPM-Verfahren (*Abschnitt 3.2.2*), bei dem das Holz nach der 12-tägigen Enzymbehandlung nicht zurückgetrocknet, sondern unmittelbar nach Versuchsende mit Holzschutzmittel imprägniert wurde. Auch bei diesem Versuch war das enzymatisch vorbehandelte Holz weitaus aufnahmefähiger als die unbehandelten Proben.

Eine weitere verfahrenstechnische Vereinfachung würde sich ergeben, wenn sich die Enzyme mit dem Holzschutzmittel kombinieren liessen. Das Holz könnte dann mit der Holzschutzmittel-Enzymkombination im Kesseldruckverfahren imprägniert werden und einige Tage in der Flüssigkeit bleiben.

Erste Versuche von Röhm GmbH (pers. Mitteilung), bei denen die Abnahme der Enzymaktivität in verschiedenen Holzschutzmitteln untersucht wurde (siehe *Tab. 40*), deuten darauf hin, dass die Enzympräparate in einigen Holzschutzmitteln suspendiert, bereits nach einem Tag alle Cellulase- und Pectinaseaktivität verloren haben. Dieses ist vor allem bei den Holzschutzmitteln auf CKB-Salz-Basis und dem Creosotöl zu beobachten. Es ist davon auszugehen, dass die Schwermetalle des CKB bzw. die phenolischen Verbindungen des Creosot inhibierend auf die Enzyme wirken. Dagegen nimmt die Aktivität vor allem in dem Mittel auf Basis von Azaconazole weniger schnell ab. Weitere Versuche mit Holzproben sind jedoch notwendig, um den Nutzen solcher Enzym-Holzschutzmittelkombinationen zu beweisen.

Herkunft des Holzes

Die Resultate der Rundholz- und Schnittholzversuche zeigten, dass für das Ausmass der Verbesserung der Imprägnierbarkeit, neben den von der Enzymbehandlung abhängigen Faktoren (Enzym, Konzentration, Dauer, Temperatur usw.), auch die Herkunft des Holzes von Bedeutung ist. So nahm bei der Tränkung im Vacuum/Druckverfahren das schnell gewachsene, leichte Schnittholz aus der Gegend

von Zwolle auch ohne eine Enzymbehandlung viel Schutzmittel auf, während es ins Holz aus Norddeutschland und aus dem Rheinischen Mittelgebirge ohne Enzymbehandlung nur sehr schlecht eindringt. Dieser herkunftbedingte Unterschied im Tränkverhalten ist seit langem bekannt und wurde vielfach diskutiert (Bellmann 1968, Bergman 1973, Hackbarth 1974, Boutelje 1983).

Eine Enzymbehandlung ist hierbei vor allem für das schwer imprägnierbare Holz zu empfehlen. Durch eine Enzymbehandlung von auch ohne solche Behandlung aufnahmefähigen Holzes liess sich zwar die Aufnahme und Eindringung noch verbessern. Es ist jedoch wahrscheinlich, dass die Aufnahme und Eindringung bei diesem Holz auch durch Anpassung des Kesseldruckverfahrens ebenso effektiv wie durch eine Enzymbehandlung verbessert werden kann.

Holzschutzmittel *	Enzym 5 %	Restaktivität		
		nach	Cellulase 1 - 14	Pectinase 1 - 14 Tagen
Impra CCO (5 %)	CA/ DSP5		0	0
	CT		0	
	7069		0	
Bardac 22 (2 %)	CA/ DSP5		0	0
	CT		0	
	7069		40 - 50	
Busan 30 (2 %)	CA/ DSP5		15 - 20	30 - 40
	CT		100	
	7069		30	
Def 50 SL (2 %)	CA/ DSP5		100	100
	CT		85	
	7069	100		
Creosot	CA/ DSP 5		50	0
	CT		5	
	7069		50	
* Impra CCO : wasserlösliches CKB-Salz				
Bardac 22 : auf Basis von Didecyldimethylammoniumchlorid				
Busan 30 : auf Basis von TCMTB				
Def.50 SL : auf Basis von Azaconasole				
Creosot : hochsiedende Fraktion von Steinkohlenteeröl				

Tab. 40: Restaktivität von Enzymen in Holzschutzmitteln nach 1 bzw. 14 Tagen, bestimmt von Röhm GmbH durch Messung der Viskositätsabnahme einer CMC-Lösung (für Cellulaseaktivität) bzw. einer Standard-Pectinlösung (für Pectinaseaktivität).

Trocknungszustand des Holzes

Wie die Versuche zeigen, ist die Imprägnierbarkeit des Schnitt- und Rundholzes am effektivsten an frischem, ungetrocknetem Holz vorzunehmen. Dieses ist darauf zurückzuführen, dass sich die Tori der Hoftüpfel im Splintholz bei der Trocknung erst bei einer Holzfeuchtigkeit zwischen 30 - 50 % schliessen (Bonsen 1987), so dass die Enzyme einfacher und schneller in frisches Holz eindringen können. Die enzymatische Vorbehandlung getrockneten Holzes verbessert allerdings ebenfalls die Imprägnierbarkeit, sie verläuft jedoch langsamer.

Dieses Ergebnis ist für die Behandlung von Rund- und Schnittholz von praktischer Bedeutung. Am effektivsten wäre eine Enzymbehandlung deshalb, wenn sie direkt nach dem Entrinden (Rundholz) bzw. Auftrennen der Stämme zu Schnittholz erfolgte.

Kosten der Enzymbehandlung

Die Kosten einer Enzymvorbehandlung können durch folgendes Rechenbeispiel abgeschätzt werden:

Holzkosten:

- * Einkaufspreis pro m³ Rundholz entrindet, ungeschützt: ca. 250 hfl/ m³
- * Holzschutzprozess incl. Holzschutzmittel (CCA-Salz): ca. 80 - 120 hfl/ m³
- * Verkaufspreis pro m³ geschützte Rundholzpfähle: ca. 400 hfl/m³
- * Gewinnspanne: ca. 30 - 70 hfl/m³

Kosten Enzymbehandlung:

- * Enzymkombination Rohament 7069/ Rohaspect D5L bei
Grossabnahme ca. 50 hfl/kg
- * 0.5 % Enzymkonzentration, gelöst in Wasser
- * Einbringung der Enzyme im Kesseldruckverfahren; Aufnahme
gemittelt 150 l/ m³ Holz
- * für Tränkung notwendiger Überschuss an Enzymlösung:
ca. 50 l/ m³

Totalkosten Enzym für Behandlung:

- * 1 kg/ m³ = 50 hfl/m³ Holz.

Wie anhand dieses Rechenbeispiels erkennbar ist, sind die Kosten für eine Enzymvorbehandlung von Fichtenholz hoch. Zudem wurden bei dieser Kostenrechnung weder Lohnkosten, noch Kosten für die zusätzliche Kesseldrucktränkung und Lagerung einbezogen, da sie weitestgehend von der Betriebsstruktur abhängen. Diesen Kosten gegenüber stehen Kosteneinsparungen bei der Kesseldrucktränkung, da aufgrund der leichteren Schutzmitteleindringung kürzere Tränkzeiten und geringere Tränkdrücke erforderlich sind. Zudem wurde bei dem Kostenbeispiel von Enzympräparaten ausgegangen, die im Bereich der Lebensmitteltechnologie Anwendung finden. Für den Einsatz von Enzymen im Bereich des Holzschutzes sind solche "food grade enzymes" jedoch nicht erforderlich, so dass sich der Preis der Enzyme und damit die Kosten für die enzymatische Vorbehandlung

stark (auf ca. 10 - 20 hfl/m³ Holz) reduzieren liessen. Bei einer Kostenanalyse sollte ausserdem beachtet werden, dass mit dem enzymbehandelten Holz aufgrund der tieferen Schutzmitteleindringung ein verbessertes Produkt geschaffen werden kann, mit dem sich möglicherweise höhere Verkaufspreise als mit dem bisherigen Holz erzielen lassen. Unter Berücksichtigung dieser Faktoren würde eine Enzymbehandlung von Fichtenholz -auch unter Kostengesichtspunkten- rentabel sein.

7 Zusammenfassung

Fichtenholz (*Picea abies* (L.) Karst.) ist eine der wichtigsten Holzarten innerhalb Europas. Ein grosser Nachteil des Fichtenholzes ist, dass flüssige Holzschutzmittel nur unzureichend ins Holz eindringen können. Verursacht wird diese schlechte Imprägnierbarkeit durch die anatomische Struktur des Holzes, wobei vor allem die sich bei der Holz Trocknung schliessenden Hoftüpfel eine Flüssigkeitsbarriere bilden. Das Ziel der vorliegenden Arbeit war deshalb, diese Hoftüpfel mittels enzymatischer oder chemischer Vorbehandlungsmethoden zu entfernen, um dadurch die Imprägnierbarkeit des Fichtenholzes zu verbessern.

Kapitel 1 beinhaltet eine Literaturbesprechung, in der auf den anatomischen und chemischen Aufbau der Zellwandkomponenten unter besonderer Berücksichtigung der Zellverbindungen (Hoftüpfel) eingegangen wird. Im weiteren wird in diesem einleitenden Kapitel auf enzymatische und chemische Abbaumechanismen eingegangen. In der Literatur beschriebene Versuche, die mit dem Ziel der Verbesserung der Imprägnierbarkeit von Holz durchgeführt wurden, werden genannt und die Zielsetzung der eignen Versuche formuliert.

Im 2. *Kapitel* sind die eigenen Versuche beschrieben, in denen Holzmehl und intakte Kleinproben mit verschiedenen Enzympräparaten behandelt wurden. Die aus der Holzzellwand herausgelösten Zuckerbausteine wurden analytisch erfasst. Zunächst wurde die Wirksamkeit verschiedenster Handelsenzyme beim Abbau von Zellwandpolysacchariden aus gemahlenem Fichtensplintholz und Fichtenkernholz untersucht (*Abschnitt 2.2*). Die Menge der enzymatisch aus dem Holzmehl herausgelösten Uronsäure und neutralen Zucker wies darauf hin, dass die getesteten Enzympräparate sehr unterschiedlich effektiv sind. Mit einigen Enzympräparaten liessen sich 10 - 20 % der ursprünglich im Holz vorkommenden Menge an Polyuroniden und 5 - 10 % der neutralen Polysaccharide herauslösen, wogegen mit anderen Enzympräparaten weniger als 1 % herausgelöst wurden. Bemerkenswert ist, dass die wirksamsten Enzyme stets cellulolytische Enzyme mit hemicellulolytischen Nebenaktivitäten sind. Das gilt sowohl für den Abbau der neutralen Polysaccharide als auch für den Abbau der Polyuronide. Pectinasen hingegen sind beim Abbau der neutralen und sauren Polysaccharide wenig wirksam. Unterschiede in der Wirksamkeit der Enzympräparate beim Abbau von Kernholz und Splintholz konnten nicht festgestellt werden.

Die durch enzymatische Behandlung aus der Holzzellwand herausgelösten Zucker wurden mittels HPLC, HPGPC und GLC quantitativ und qualitativ erfasst. Diese Analysen sind in *Abschnitt 2.2.2* beschrieben. Die abgebauten Zellwandbestandteile werden durch die Enzyme fast ausschliesslich zu niedermolekularen Zuckern (Monomere bis Tetramere) abgebaut. Die in der Suspension gefundenen Zuckerbausteine Glucose, Arabinose, Galactose, Mannose und Xylose weisen auf die cellulolytische und hemicellulolytische Aktivität der eingesetzten Enzympräparate hin.

Versuche, bei denen die Aktivität einiger Enzyme während einer Langzeitinkubation untersucht wurde (*Abschnitt 2.4*), zeigten, dass die Aktivität beim Abbau von Polygalacturonsäure bei 40 °C Versuchstemperatur innerhalb kurzer Zeit stark zurückgeht. Bei 20 °C Versuchstemperatur betrug die Aktivität nach 14 Tagen noch ca. 90 % der anfänglichen Aktivität. Die Cellulaseaktivität und die Xylanaseaktivität wurden durch die Versuchstemperatur nur wenig beeinflusst.

Im darauffolgenden *Kapitel 3* werden die Versuche beschrieben, bei denen intakte Holzproben mit verschiedenen Enzympräparaten behandelt wurden. Diese Versuche wurden durchgeführt, um die Imprägnierbarkeit des Holzes zu verbessern. Zunächst wurden Fichtenholz-Kleinproben (20 x 20 x 50 mm) mit verschiedenen Enzympräparaten behandelt (*Abschnitt 3.1*). Die von den auf diese Weise vorbehandelten Proben in einer anschließend durchgeführten Druckimprägnierung aufgenommene Menge an Holzschutzmitteln sowie die Eindringtiefe dieses Mittels in den Proben wurden zur Beurteilung des Behandlungserfolges herangezogen. Gleichartige Versuche wurden dann an zwei in der Praxis viel verwendeten Holzsortimenten durchgeführt (*Abschnitt 3.2*; Schnittholz, Rundholz). Die Aufnahmemenge und Eindringtiefe von Holzschutzmittel in Fichtenholz lässt sich durch eine vorübergehende Enzymbehandlung steigern. Das Ausmass dieser verbesserten Imprägnierbarkeit hängt dabei vor allem vom Enzympräparat, der Enzymkonzentration, der Behandlungsdauer, der Behandlungstemperatur, dem Tränkprozess und der Herkunft des Holzes ab. Ins Splintholz drangen die Holzschutzmittel nach enzymatischer Vorbehandlung besser ein als ins ebenso behandelte Kernholz. Die Druckfestigkeit und das Elastizitätsmodul des Holzes verändert sich durch die Enzymbehandlung nicht (*3.4*).

Rasterelektronenmikroskopische Untersuchungen an enzymatisch behandelten Holzproben (*Kapitel 5*) zeigten, dass die Enzympräparate vor allem die Margo und den Torus der Hoftüpfel angreifen und teilweise abbauen, wohingegen an der Zellwand keine Abbauscheinungen zu erkennen waren. Wie mit Elektronenmikroskopie festzustellen, wurde die Imprägnierbarkeit vor allem durch den Abbau der einseitig behöften Tüpfel zwischen den Tracheiden und dem Holzstrahlparenchym verursacht. Auf diesem Wege können Imprägnierflüssigkeiten radial und über die Harzkanäle auch longitudinal leichter ins Holz eindringen.

In den in *Kapitel 4* beschriebenen Versuchen wurden zunächst Fichtenkleinproben (20 x 20 x 50 mm) und im weiteren Schnittholz mit Laugen, Säuren und Komplexbildnern unter Variation der Konzentration, Temperatur und Dauer behandelt. Eine Beurteilung der Vorbehandlung wurde anhand der von den Proben aufgenommenen Menge an Holzschutzmitteln und deren Eindringung ins Holz vorgenommen. Die Laugenbehandlung führte bei allen Versuchen zu einer Verschlechterung der Holzschutzmittelaufnahme und -eindringung. Elektronenmikroskopische Untersuchungen zeigten, dass dieses auf die starke Quellung der Zellwände zurückzuführen ist, wodurch der Flüssigkeitstransport im Holz behindert wird. Auch die Behandlungen mit Komplexbildnern und Säuren erbrachten keine oder nur geringe Verbesserungen in der Imprägnierbarkeit. Im Elektronenmikroskop war zu erkennen, dass bei den Versuchen mit Ammoniumoxalat die Tüpfelöffnungen durch grosse Oxalatkristalle verstopft werden.

In *Kapitel 6* werden die Versuchsergebnisse dieser Arbeit diskutiert und im Hinblick auf eine praktische Anwendung in der Holzschutzindustrie kritisch bewertet.

Samenvatting

Vurehout (*Picea abies* (L.) Karst.) is een van de belangrijkste houtsoorten binnen Europa. Een groot nadeel van vurehout is, dat vloeibare houtverduurzamingsmiddelen niet diep genoeg in het hout dringen. Dit wordt veroorzaakt door de anatomische structuren van het hout, waarbij vooral de tijdens het drogen sluitende hofstippel een vloeistofbarriere vormt. Het doel van dit onderzoek was derhalve deze hofstippel door middel van enzymatische of chemische voorbehandelingsmethoden te verwijderen om daardoor de impregneerbaarheid van vurehout te verbeteren.

Hoofdstuk 1 bevat een literatuurbespreking, waar ingegaan wordt op de anatomische en chemische opbouw van celwandcomponenten. In het bijzonder wordt ingegaan op de celverbindingen (hofstippel). Verder wordt in dit inleidende hoofdstuk ingegaan op enzymatische en chemische afbraakmechanismen. In de literatuur beschreven onderzoek, die tot doel heeft de verbetering van de impregneerbaarheid van hout, wordt genoemd en de doelstelling van het eigen onderzoek geformuleerd.

In hoofdstuk 2 is het eigen onderzoek beschreven, waarin houtmeel en intakte kleine monsters met verscheidene enzympreparaten worden behandeld. Tevens is beschreven hoe uit de houtcelwand vrijgemaakte suikerbouwstenen werden geanalyseerd. Verder werd de werking van verscheidene handelspreparaten bij de afbraak van celwandpolysacchariden uit gemalen vurespinthout en vurekernhout onderzocht. Het mengsel van uronzuren en neutrale suikers die enzymatisch uit het houtmeel zijn opgelost, wijst erop dat de geteste enzympreparaten zeer verschillend effectief zijn. Met enige enzympreparaten laat zich 10 - 20 % van het oorspronkelijk in hout voorkomende mengsel van polyuroniden en 5 - 10 % van de neutrale polysacchariden in oplossing brengen, terwijl met andere enzympreparaten minder dan 1 % wordt opgelost. Bemerkenwaardig is dat de meest werkzame enzymen steeds cellulolytische enzymen met hemicellulolytische nevenactiviteiten zijn. Dat geldt zowel voor de afbraak van de neutrale polysacchariden als voor de afbraak van polyuroniden. Pectinases daarentegen zijn bij de afbraak van neutrale en zure polysacchariden weinig werkzaam. Onderscheid in de werking van enzympreparaten bij de afbraak van kern- of spinthout kon niet worden vastgesteld.

De door enzymatische behandeling uit de houtcelwand opgeloste suikers, werden door middel van HPLC, HPGPC en GLC kwalitatief en kwantitatief geanalyseerd. Deze analyses zijn in paragraaf 2.2.2 beschreven. De afgebroken polysacchariden van de celwand werden door deze enzymen uitsluitend tot kleine suikermoleculen (monomeer tot tetrameer) afgebroken. De in de suspensie gevonden suikerbouwstenen glucose, arabinose, galactose, mannose en xylose wijzen op cellulolytische en hemicellulolytische activiteiten van de gebruikte enzympreparaten.

Onderzoek naar de activiteit van enige enzymen gedurende een lange incubatie tijd, laat zien dat de activiteit bij het afbreken van polygalacturonzuur bij 40 °C binnen een korte tijd sterk achteruit gaat. Bij een onderzoekstemperatuur van 20 °C bedraagt de activiteit na 14 dagen nog ca. 90% van de oorspronkelijke activiteit. De cellulase- en xylanaseactiviteit worden door verschillende onderzoekstemperaturen weinig beïnvloed.

In hoofdstuk 3 wordt het onderzoek beschreven met de door verscheidene enzympreparaten behandelde intacte houtmonsters. Dit onderzoek werd uitgevoerd om de impregneerbaarheid te verbeteren. In eerste instantie werden kleine vurehout monsters (20 x 20 x 50 mm) met verscheidene enzympreparaten behandeld (paragraaf 3.1). De op die manier voorbehandelde monsters werden aansluitend onder druk geïmpregneerd, waardoor de hoeveelheid houtverduurzamingsmiddel en de indringdiepte van het houtverduurzamingsmiddel in de monsters, konden worden beoordeeld. Gelijke onderzoeken werden daarna met twee verschillende houtafmetingen uit de praktijk uitgevoerd (paragraaf 3.2; rondhout, plankhout). De opname en de indringing van houtverduurzamingsmiddelen in vurehout laat zich door voorbehandeling met enzymen verhogen. De omvang van de verbeterde impregneerbaarheid hangt daarbij af van het enzympreparaat, de enzymconcentratie, de incubatietijd, de temperatuur, het impregneerproces en de herkomst van het hout. In voorbehandeld spinhout dringen houtverduurzamingsmiddelen beter in dan in op de zelfde manier behandeld kernhout. De druksterkte en de E-modulus van het hout veranderen door enzymbehandeling niet.

Rasterelectronenmicroscopisch onderzoek (hoofdstuk 5) van enzymatisch behandelde houtmonsters laat zien dat de enzympreparaten vooral de margo en de torus van de hofstippel aangrijpen en gedeeltelijk afbreken, terwijl aan de celwand geen afbraak verschijnselen waargenomen worden. Met electronenmicroscopie is vast te stellen dat de impregneerbaarheid ook door de afbraak van de stippels tussen tracheïden en houtparenchym wordt veroorzaakt. Op deze manier kunnen impregneermiddelen radiaal en door de harskanalen ook longitudinaal gemakkelijk in het hout dringen.

In het in hoofdstuk 4 beschreven onderzoek worden kleine vurehouten monsters (20 x 20 x 50 mm) alsmede plankhout met logen, zuren en chelaten onder variatie van concentratie, temperatuur en tijd behandeld. De resultaten van deze voorbehandeling op de monsters wordt aan de hand van de opgenomen hoeveelheid houtverduurzamingsmiddel en de indringing in het hout beoordeeld. De behandeling met logen leidde bij alle proeven tot een verslechtering van opname en indringing van het houtverduurzamingsmiddel. Electronenmicroscopisch onderzoek liet zien dat dit wordt veroorzaakt door een sterke zwelling van de celwand, waardoor het vloeistof transport in het hout wordt geremd. Ook de behandeling met chelaten en zuren gaf geen of nauwelijks een verbetering van de impregneerbaarheid. Met electronenmicroscopie was te herkennen dat bij de proeven met ammoniumoxalaat de stippelopeningen door grote oxalaat kristallen verstopt raakten.

In hoofdstuk 6 worden de onderzoeksresultaten besproken en gekeken naar de praktische haalbaarheid van enzymatische of chemische voorbehandeling voor de houtindustrie.

Summary

Spruce (*Picea abies* (L.) Karst.) is one of the most important European wood species. A great disadvantage of spruce is that liquid wood preservatives cannot sufficiently penetrate the timber. The poor permeability is caused by the anatomical structure of the timber, particularly by the fact that the bordered pits close down during drying and thus prevent the flow of liquids. The aim of the present study, therefore, was to break down the bordered pits by means of enzymatic or chemical preliminary treatment and thus to improve the permeability of spruce.

Chapter 1 includes a study of the literature and deals with the anatomical and chemical structure of the components of the cell wall, with particular attention for the connections between cells (pits). This introductory chapter also deals with enzymatic and chemical decomposition mechanisms. Reference is made to earlier experiments concerning the improvement of the permeability of timber. Finally, the objectives of the present study are formulated.

Chapter 2 describes the various experiments carried out in the context of the present study, in which wood powder and sound test specimens were treated with various enzyme preparations. The sugar components released from the cell walls were analyzed. The effectiveness of various commercial enzymes in breaking down the polysaccharides of the cell walls was first tested in powdered sapwood and heartwood (paragraph 2.2). The quantity of uronic acids and neutral sugars released from the wood powder by the enzymatic action of the various preparations formed an indication that these preparations varied greatly in effectiveness. Some enzyme preparations caused 10 - 20 % of the original amount of polyuronides to be dissolved and 5 - 10 % of the neutral polysaccharides, whereas others led to results of less than 1 %. What is remarkable is that the most effective enzymes are cellulolytic enzymes with hemicellulolytic side effects. This was found for the decomposition of neutral polysaccharides as well as for that of polyuronides. Pectinases, on the other hand, are not particularly effective in the decomposition of neutral and acidic polysaccharides. Differences in the effectiveness of enzyme preparations in the decomposition of heartwood and sapwood could not be observed.

The nature and quantity of sugars released from the cell walls after enzymatic pretreatment were analyzed by means of HPLC, HPGPC and GLC. The results of these analyses are described in paragraph 2.2.2. The decomposed elements of the cell walls are almost exclusively broken down to low molecular sugars (monomers to tetramers). The presence of the sugar components glucose, arabinose, galactose, mannose and xylose in the suspension is an indication of the cellulolytic and hemicellulolytic activity of the enzyme preparations under consideration.

Experiments investigating the various enzymes during long-term incubation (see paragraph 2.4) have demonstrated that at a test temperature of 40 °C their activity in decomposing polygalacturonic acids is greatly reduced in a short period of time. At a test temperature of 20 °C, their activity after 14 days still amounted to approximately 90 % of their original activity. The activity of cellulase and xylanase were hardly influenced by the test temperature.

Chapter 3 gives a description of the experiments in which sound test specimens were treated with different enzyme preparations. The aim of these experiments was to improve the permeability of the timber. Small specimens of spruce (20 x 20 x 50 mm) were first treated with various enzyme preparations (see paragraph 3.1). These pre-treated specimens were then impregnated under pressure with a wood preservative. The effectiveness of the treatment was determined on the basis of the amount of wood preservative absorbed and the depth of penetration of the preservative in the timber. The same experiments were then carried out with two types of timber commonly used (see paragraph 3.2; sawn timber and piles). The degree of absorption and the depth of penetration of the wood preservative in spruce can be increased by means of preliminary enzymatic treatment. The extent to which the permeability is improved is largely dependent on the enzyme preparation used, the enzyme concentration, the duration of the treatment, the temperature under which the treatment takes place, the impregnation process and the origin of the timber. Wood preservatives are absorbed better by pre-treated sapwood than by pre-treated heartwood. The enzymatic treatment does not cause any change in the compression strength and the modulus of elasticity (see paragraph 3.4).

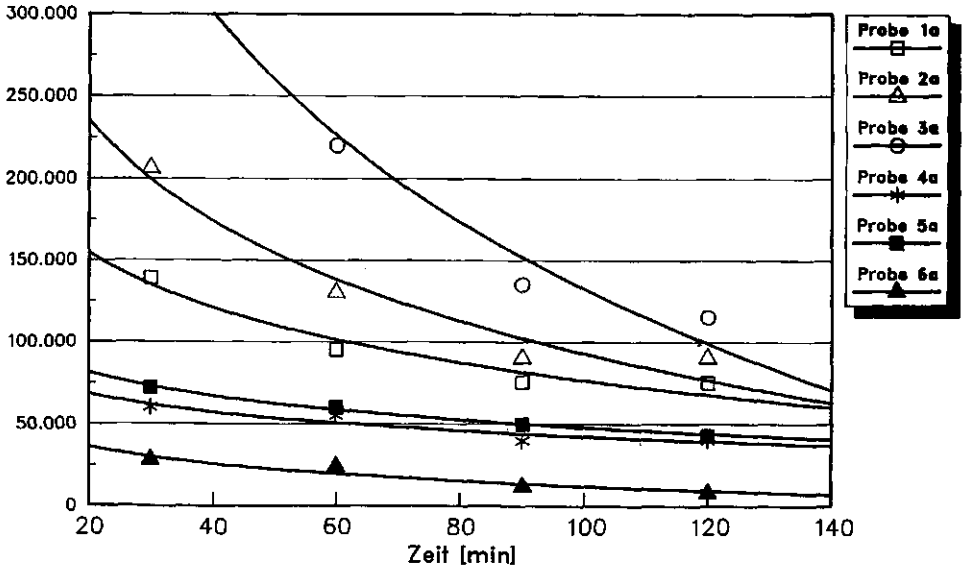
The test specimens which had been treated enzymatically were examined by means of a scanning electron microscope. This microscopic examination demonstrated that it was particularly the margo and the torus of the bordered pits which were affected and partly decomposed by the enzyme preparations. There were no indications of decomposition of the cell wall. The improved permeability of the timber was shown to be largely due to the decomposition of the simple pits between the tracheids and the ray parenchyma. Preservatives can thus penetrate the wood more easily in radial direction and through the resin canals, also in longitudinal direction.

In the experiments described in chapter 4, small test specimens of spruce (20 x 20 x 50 mm) and sawn timber were pre-treated with alkali, acids and chelating agents. Concentration, temperature and duration were varied. The resulting amount of wood preservative absorbed and the depth of penetration in the timber were a measure for the effectiveness of the preliminary treatment. Treatment with alkali resulted in a decrease of preservative absorption and penetration under all test conditions. Examination of the treated timber by means of electron microscopy showed that this was caused by a considerable swelling of the cell walls, as a result of which the transport of liquid was blocked. Neither did treatment with acids or chelating agents lead to a significant improvement of permeability. Electron-microscopic examination of timber treated with ammonium oxalate showed that the bordered pits were blocked by large oxalate crystals.

In chapter 6, the results of the experiments on which this dissertation is based are discussed and evaluated critically in view of a possible application in the industrial practice of wood preservation.

8 Anhang

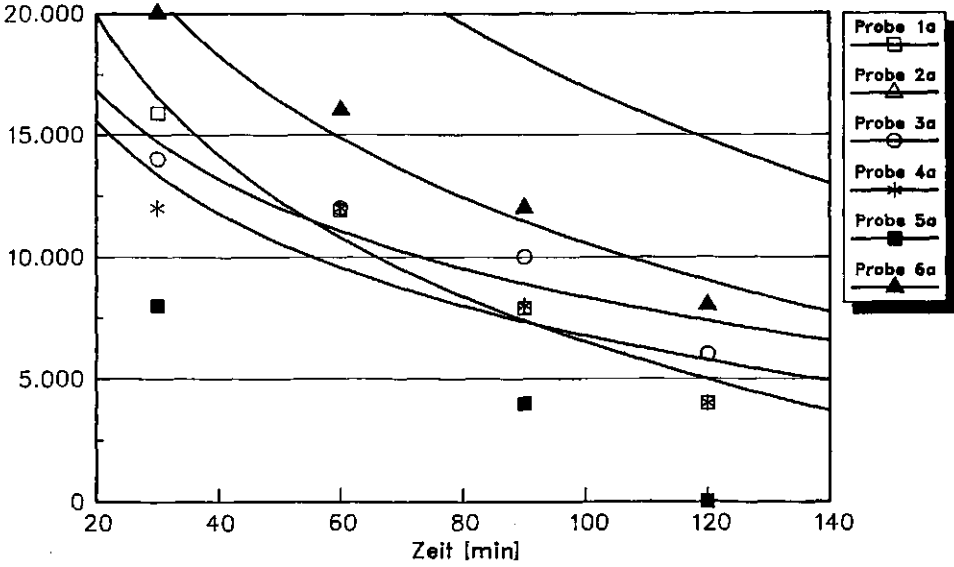
Permeabilität [1/Pa*s]



ohne Enzymbehandlung
Splintholz

a

Permeabilität [1/Pa*s]

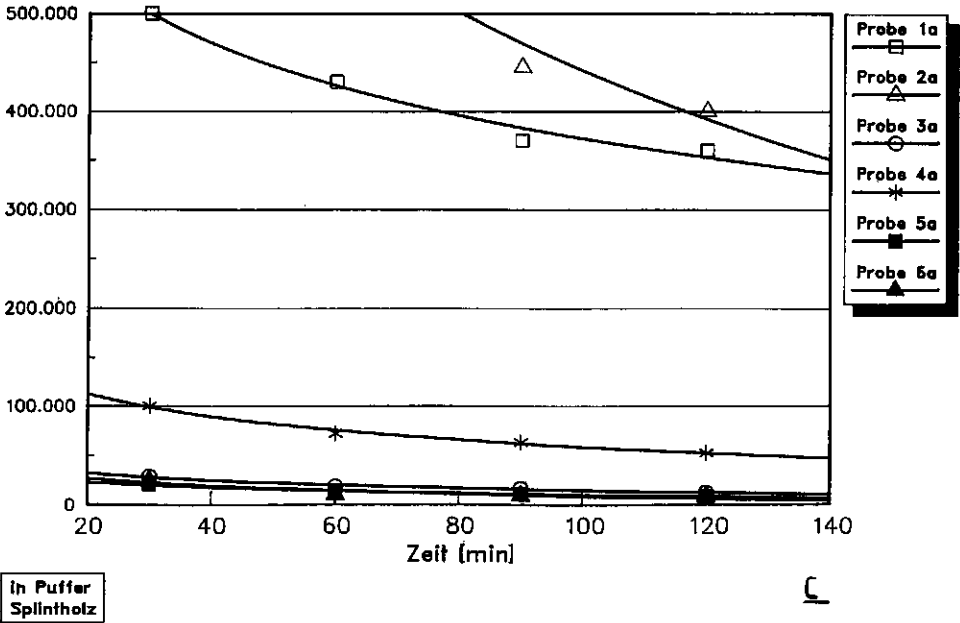


ohne Enzymbehandlung
Kernholz

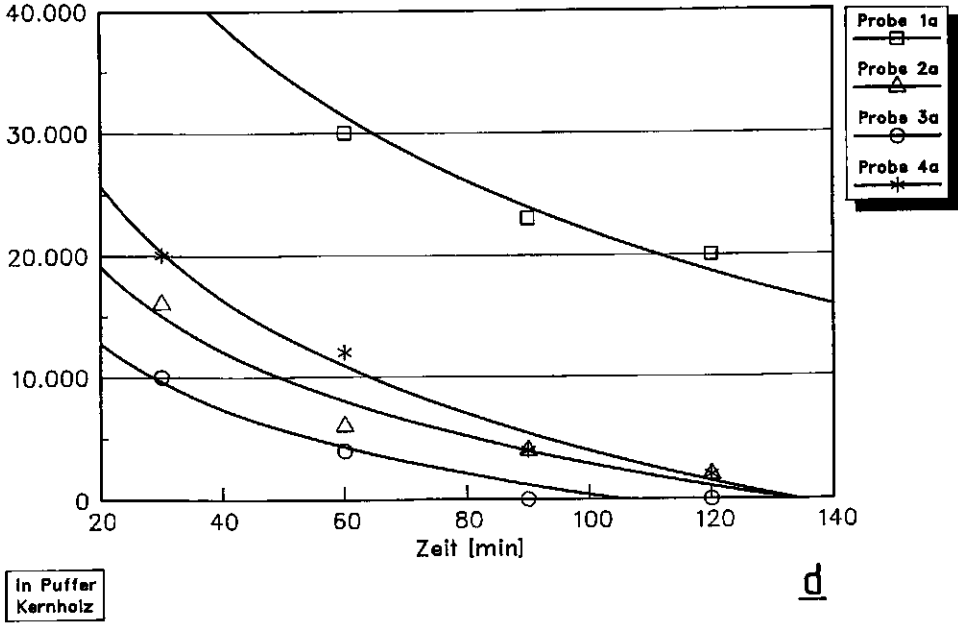
b

Anhang 1: Wasserpermeabilität von unbehandelten (Anhang 1 a-d) und enzymatisch behandelten (Anhang 1 e-l) Fichtenproben. Die Beschreibung des Materials und der Prüfmethode ist Abschnitt 3.3.2 zu entnehmen.

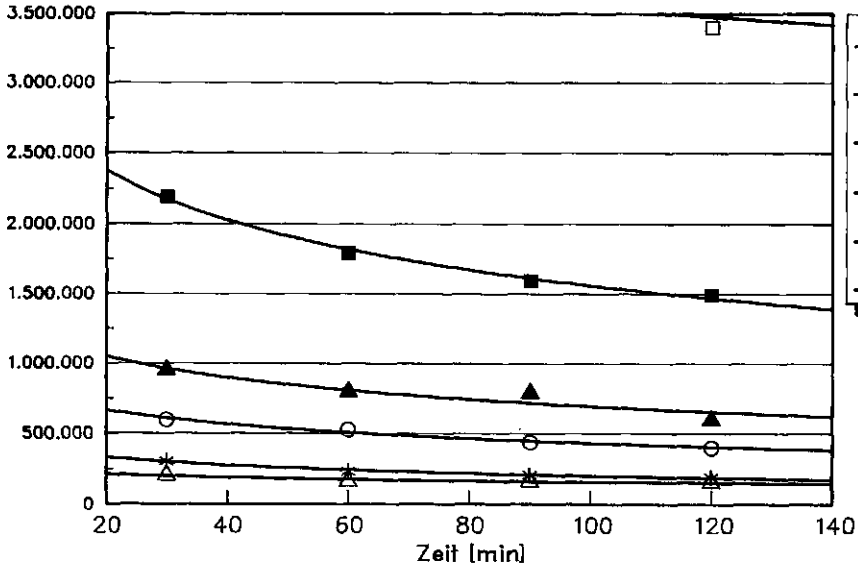
Permeabilität [1/Pa*s]



Permeabilität [1/Pa*s]



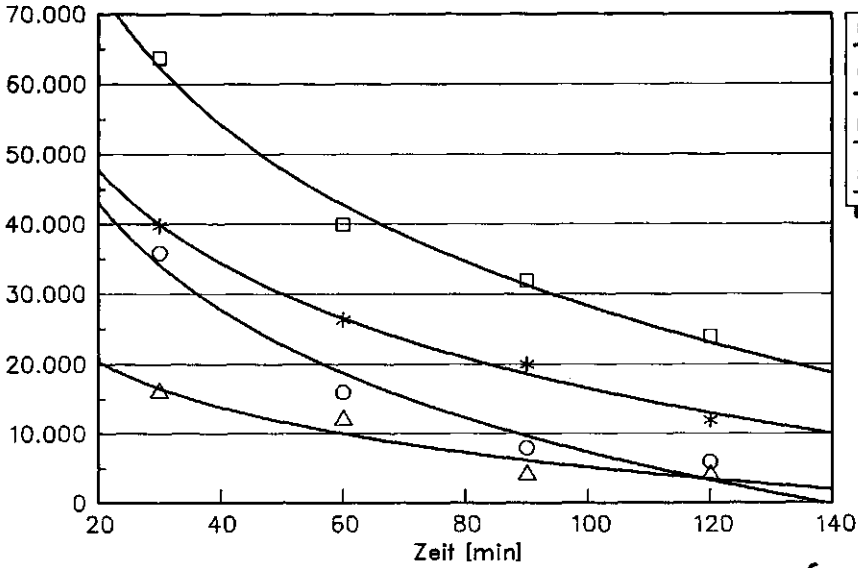
Permeabilität [1/Pa*s]



Enzymbehandlung 7069/CT/CA
Splintholz

e

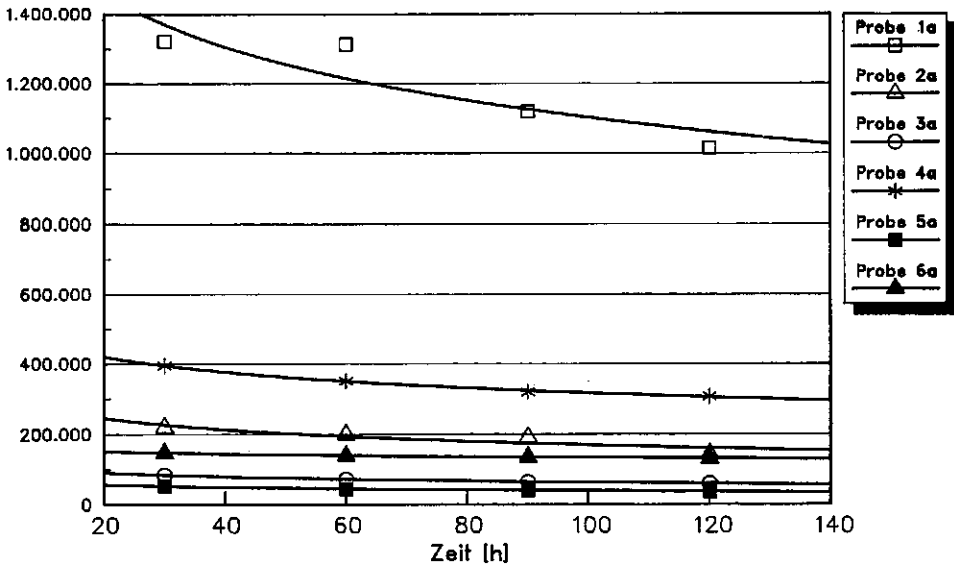
Permeabilität [1/Pa*s]



Enzymbehandlung 7069/CT/CA
Kernholz

f

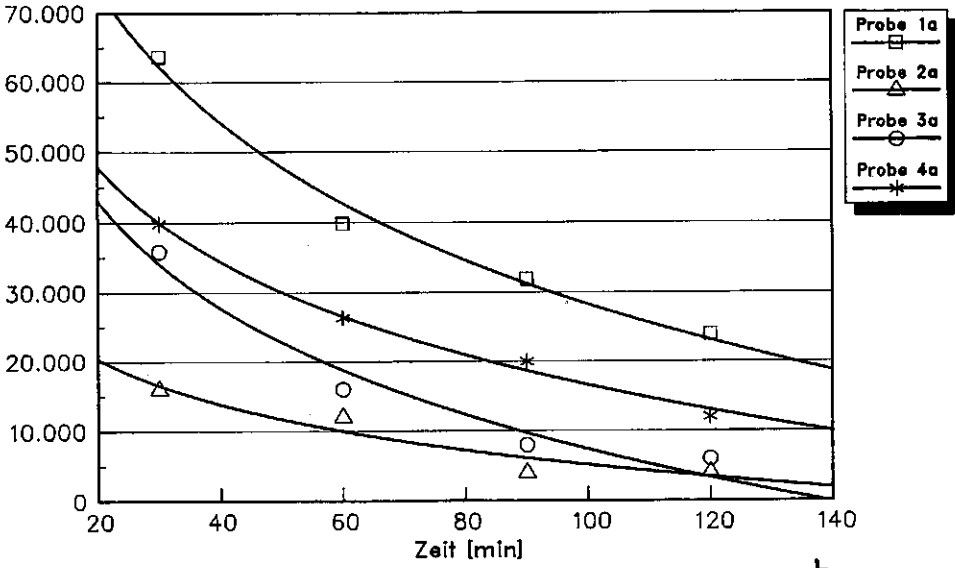
Permeabilität [1/Pa*s]



Enzymbehandlung C80
Splintholz

g

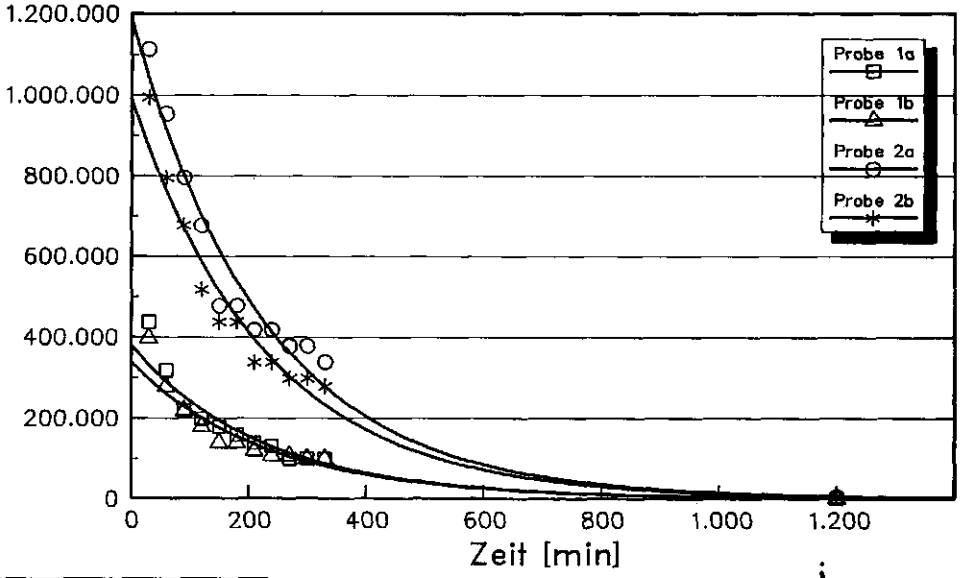
Permeabilität [1/Pa*s]



Enzymbehandlung C80
Kernholz

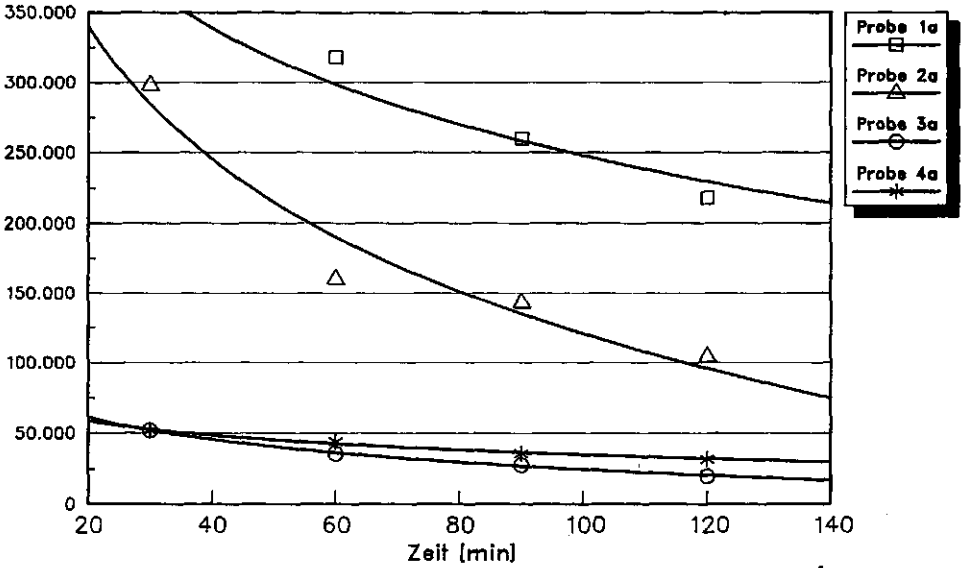
h

Permeabilität [1/Pa*s]



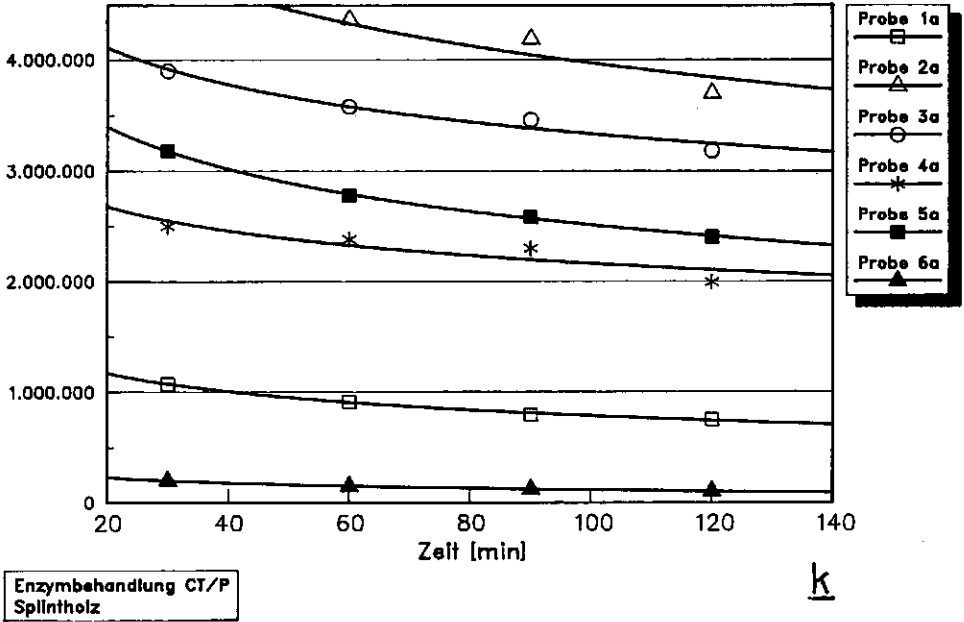
Enzymbehandlung CA/DSP 5
Splintholz

Permeabilität [1/Pa*s]

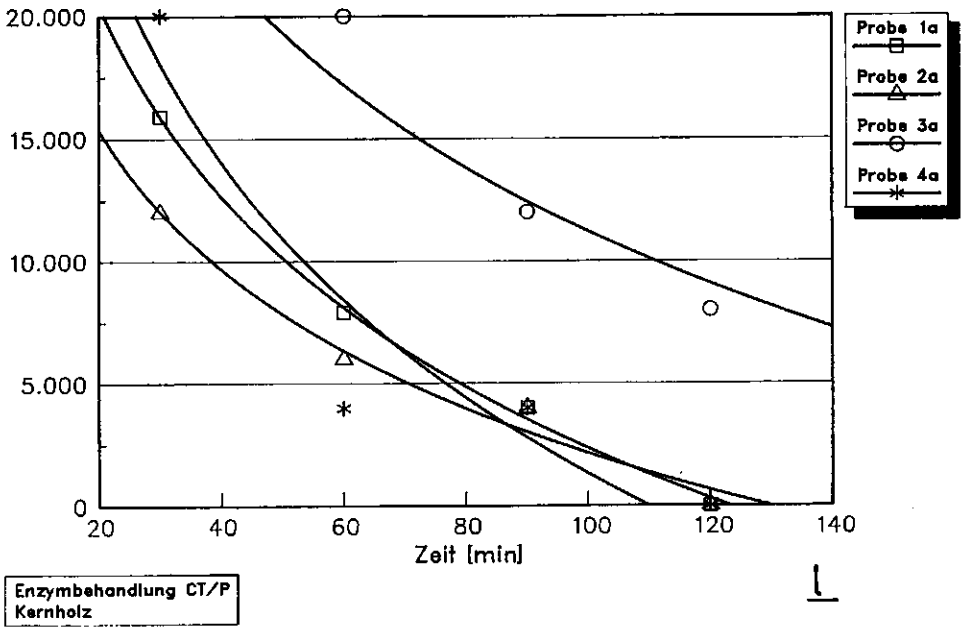


Enzymbehandlung CA/DSP 5
Kernholz

Permeabilität [1/Pa*s]



Permeabilität [1/Pa*s]



Behandl. Dauer	Wasser		Ammoniumox		Essigsäure		Na-HMP		Summe	Quadrat
	kurz	lang	kurz	lang	kurz	lang	kurz	lang		
1	1.2	1.2	1.0	1.5	2.3	3.5	.7	.9	12.3	151.3
3	1.5	1.7	2.1	1.8	2.1	2.6	1.0	1.4	14.2	201.6
6	2.0	2.3	3.6	3.2	2.9	2.1	.9	1.2	18.2	331.2
7	2.4	1.0	4.8	3.8	4.8	6.8	.7	.6	24.9	620.0
8	1.4	1.4	3.5	4.4	3.5	3.8	1.1	1.5	20.6	424.4
Summe	8.5	7.6	15.0	14.7	15.6	18.8	4.4	5.6	90.2	
Quadrat	72.3	57.8	225.0	216.1	243.4	353.4	19.4	31.4		
gem.	1.7	1.5	3.0	2.9	3.1	3.8	.9	1.1		

ANOVA-Tabelle:					
	proj 2	dim	proj 2 /dim	f	p
Niveau	203.4	1			
Baum	12.6	4	3.2	3.84	.015
Behandl.	40.3	7	5.7	6.98	< .005
Residue	23.1	28	.8		
	279.5	40			
LSD					
	($\alpha = 0.05$)	($\alpha = 0.10$)			
Bäume	.8	.6			
Behandl.	1.0	.8			

Anhang 2: Gemittelte Eindringtiefe [mm] des Holzschutzmittels in Schnittholz nach chemischer Vorbehandlung (vgl. Abschnitt 4.2.3) und beigehörnde Anova-Tabelle.

Behandl. Dauer	Wasser		Ammoniumox		Essigsäure		Na-HMP		Summe	Quadrat
	kurz	lang	kurz	lang	kurz	lang	kurz	lang		
1	26	22	21	27	27	35	21	18	197.2	38868.0
3	25	23	24	21	24	27	22	56	222.4	49469.0
6	32	30	29	28	31	32	33	15	228.2	52092.5
7	44	30	52	52	22	69	11	20	299.7	89828.7
8	25	25	44	43	44	53	20	29	283.0	80061.1
Summe	152	130	169	171	148	216	106	139	1230.5	
Quadrat [X 10 ²]	230	168	287	292	219	468	113	192		
gem.	30	26	34	34	30	43	21	28		

ANOVA-Tabelle:					
	proj 2	dim	proj 2 / dim	f	p
Niveau	37851.3	1			
Baum	938.6	4	234.6	1.84	> 0.100
Behandl.	1515.5	7	216.5	1.70	> 0.100
Residue	3574.0	28	127.6		
	43879.4	40			
LSD (α = 0.05)					
Bäume	9.61				
Behandl.	12.15				

Anhang 3: Gewichtszunahme der Schnittholzproben [%] während Holzschutzmittelbehandlung (vgl. Abschnitt 4.2.3) und beigehörnde Anova-Tabelle.

Behandl. Dauer	Wasser	Ammoniumox		Essigsäure		Na-HMP		Summe	Quadrat [x 10 ²]
		kurz	lang	kurz	lang	kurz	lang		
1	42.7	43.0	31.2	40.1	45.7	41.0		200.7	402.8
3	51.3		51.4	45.2	46.1	45.4	53.7	293.1	859.1
6	68.7		67.7	61.4	63.5	46.0	72.5	379.8	1442.3
7	48.6	41.7		49.3	45.0	53.3	49.5	245.6	603.0
8	58.0		55.7	49.4	47.1	53.3	53.6	317.1	1005.7
Summe	269.3		205.9	245.4	247.3	239.0	229.2	1436.3	
Quadrat [x 10 ²]	725.2		424.0	602.4	611.7	571.4	525.5		759.7
gem.	53.9		51.5	49.1	49.5	47.8	57.3		

ANOVA-Tabelle:					
	proj 2	dim	proj 2 / dim	f	p
Niveau	73674.6	1			
Baum	1561.0	4	390.2	15.31	< 0.005
Behandl.	279.6	5	55.9	2.19	0.100
Residue	458.6	18	25.5		
	75973.5	28			
LSD ($\alpha = 0.05$)					
Bäume	5.05				
Behandl.	5.54				

Anhang 4: Resultate Biegeversuch / Biegefestigkeit [N/mm²], Kernholz, nach chemischer Vorbehandlung (vgl. Abschnitt 4.2.3) und beigehörnde Anova-Tabelle.

Behandl. Dauer	Wasser	Ammoniumox		Essigsäure		Na-HMP		Summe	Quadrat [x 10 ³]
		kurz	lang	kurz	lang	kurz	lang		
1	2839	3499	3001	3203	3907	2935	2756	22139	490125
3	3398	3284	3666	3951	3697	3552	3353	24902	620120
6	3597	3655	3601	3539	3414	3848	3020	24672	608727
7	2805	2771	3123	3146	3215		2507	17567	308588
8	2983	2510	3174	3172	2794	3332	3604	21568	465169
Summe Quadrat [x 10 ⁴]	15622 24404	15719 24707	16565 27439	17010 28933	17026 28990	13667 18680	15240 23224	110849	366352
gem.	3124	3144	3313	3402	3405	3417	3048		

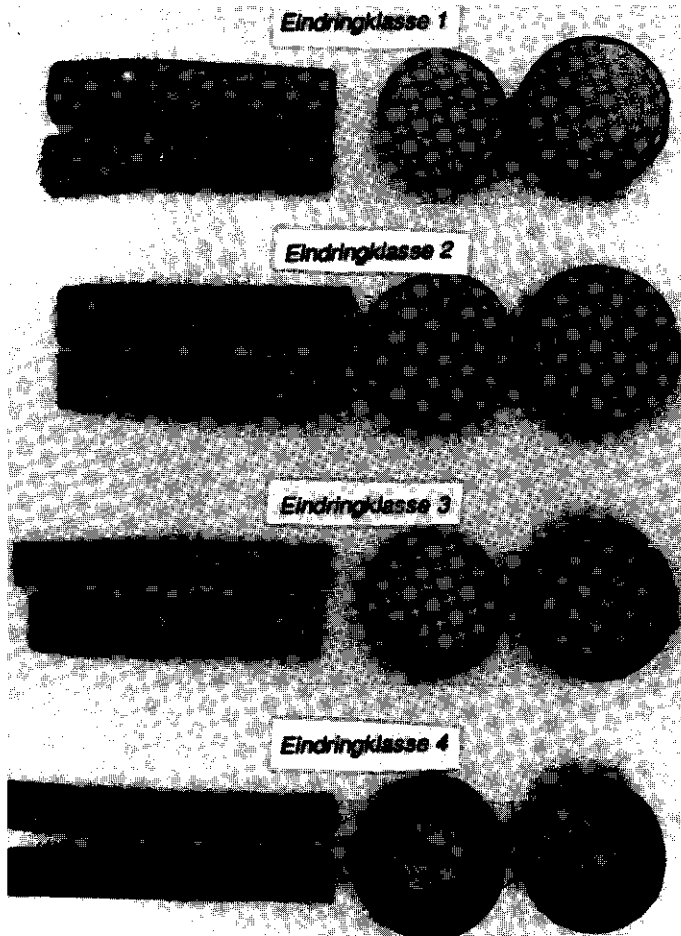
ANOVA-Tabelle:					
	proj 2	dim	proj 2 / dim	f	p
Niveau	361389376	1			
Baum	2062112	4	515528	5.40	< 0.005
Behandl.	703181	6	117197	1.23	> 0.100
Residue	2197127	23	95527		
	366351796	34			
LSD (α = 0.05)					
Bäume	283.2				
Behandl.	335.0				

Anhang 5: Resultate Biegeversuch / E -modul [N/mm²], Splintholz, nach chemischer Vorbehandlung (vgl. Abschnitt 4.2.3) und beigehörnde Anova-Tabelle.

Behandl. Dauer	Wasser	Ammoniumox		Essigsäure		Na-HMP		Summe	Quadrat [x 10 ³]
		kurz	lang	kurz	lang	kurz	lang		
1	2436	3179	1905	1982	2392	2036		10751	115573
3	3058		2138	2569	2671	2597	2379	15413	237572
6	3423		2359	3218	3105	2075	2958	17139	293743
7	2732	2315		2672	2824	2902	2960	14091	198548
8	2693		3130	3015	2788	2891	2525	17042	290442
Summe	14343		9532	13458	13781	12501	10822	74436	
Quadrat [x 10 ⁴]	20571		9086	18111	18991	15628	11712		202176
gem.	2869		2383	2692	2756	2500	2706		

ANOVA-Tabelle:					
	proj 2	dIm	proj 2 / dIm	f	p
Niveau	197882142	1			
Baum	1901650	4	475413	5.09	0.009
Behandl.	711449	5	142289	1.52	> 0.100
Residue	1680931	18	93385		
	202176171	28			
LSD (α = 0.05)					
Bäume	305.9				
Behandl.	335.1				

Anhang 6: Resultate Biegeversuch / E -modul [N/mm²], Kernholz, nach chemischer Vorbehandlung (vgl. Abschnitt 4.2.3) und beigehörnde Anova-Tabelle.



Anhang 7: *Bewertung der Eindringung von Holzschutzmitteln (CKB-Salz, 3%) in unbehandeltes und enzymatisch behandeltes Fichtenrundholz und Schnittholz in "Eindringklassen".*

- | | |
|-------------------------|---|
| <i>Eindringklasse 1</i> | <i>Eindringtiefe sehr gering;
Randeindringung weniger als 1 mm</i> |
| <i>Eindringklasse 2</i> | <i>Eindringtiefe nur wenige mm,
geringfügig besser als Klasse 1</i> |
| <i>Eindringklasse 3</i> | <i>Eindringung deutlich besser als
Klasse 1 und 2, jedoch unregelmässig</i> |
| <i>Eindringklasse 4</i> | <i>sehr tiefe Eindringung</i> |

9 Literatur

- Adler, E. (1977): Lignin Chemistry -Past, Present and Future. Wood Science and Technology, 11: 169-218.
- Adolf, F.P.; Gerstetter, E.; Liese, W. (1972): Untersuchungen über einige Eigenschaften von Fichtenholz nach dreijähriger Wasserlagerung. Holzforschung, 26, 1: 18-25.
- Adolf, F.P.; Gerstetter, E.; Liese, W. (1974): Untersuchungen an Fichtenholz nach fünfjähriger Wasserlagerung. Holzzentralblatt, 100, 129: 1957-1958.
- Adolf, F.P. (1975): Über eine enzymatische Vorbehandlung von Nadelholz zur Verbesserung der Wegsamkeit. Holz als Roh- und Werkstoff, 29, 5: 181-186.
- Adolf, F.P. (1976): Untersuchungen zum Tränkverhalten von enzymatisch vorbehandeltem Nadelholz. Holz als Roh- und Werkstoff, 34: 163 -166.
- Ahmed, A.R.; Labavitch, J.M. (1977): A simplified method for accurate determination of cell wall uronide content. J. Food Biochem., 1: 361-365.
- Allsop, E.; Misra, G. (1940): Pectin content in cellwalls of pine. Biochem. Journ., 34: 1078-1081.
- Aspinall, G.O.; Cottrell, I.W.; Egan, S.V.; Morrison, I.M.; Whyte, J.N.C. (1967): Polysaccharides of soy-beans. Part IV. J.Chem. Soc. (C): 1071-1080.
- Aspinall, G.O. (1973): Carbohydrate Polymers of Plant Cell Walls. In: Biogenesis of Plant Cell Wall Polysaccharides, (Loewus, F., Ed.), Academic Press, New York, London: 95-115.
- Back, E.L. (1969): Intercellular spaces along the ray parenchyma-the gas canal system of living wood? Wood Science, 2, 1: 31-34.
- Bailey, J.W. (1913): The preservative treatment of wood .II. The structure of the pit membranes in the tracheids of conifers and their relation to the penetration of gases and liquids. For. Quart. II: 12-20.
- Bailey, P.J.; Preston, R.D. (1969): Some aspects of softwood permeability. Holzforschung, 23, 4: 113-120.
- Baines, E.F.; Saur, J.M. (1985): Preservative treatment of spruce and other refractory wood. Am. Wood Pres. Assoc.: 136-147.
- Banks, W.B. (1973): Preservative penetration of spruce-close spaced incising an improvement. Timber Trades Journal, 285: 51-53.
- Bamber, R.K. (1961): Staining reaction of the pit membrane of wood cells. Nature, 191: 409-410.
- Bamber, R.K.; Johnstone, R.S. (1968): The effect of pressure pre-steaming on the ray parenchyma cell walls of Pinus radiata wood. Journal of the Institute of Wood Science, 4, 3: 21-24.
- Bauch, J. (1964): Die axiale Durchlässigkeit von Kiefern-Splintholz für wässrige Lösungen. Planta, 61: 196-208 u. 309-331.
- Bauch, J.; Liese, W. (1966): Über die axiale Wegsamkeit von saftfrischem Tannen- und Fichten- Splintholz für organische Lösungsmittel. Holzforschung, 20, 6: 169-174.
- Bauch, J.; Liese, W.; Scholz, F. (1968): Über die Entwicklung und stoffliche Zusammensetzung der Hoftüpfelmembranen von Längstracheiden in Coniferen. Holzforschung, 22, 5: 144-153.
- Bauch, J.; Liese, W.; Berndt, H. (1970): Biological investigations for the improvement of the permeability of softwoods. Holzforschung, 24, 6: 199-205.
- Bauch, J. (1971): Die Struktur der Hoftüpfelmembranen in Gymnospermen und ihr Einfluss auf die Wegsamkeit des Holzgewebes. Habilitationsschrift Universität Hamburg.

- Bauch, J.; Liese, W.; Schultze, R. (1972): The morphological variability of the bordered pit membranes in Gymnosperms. *Wood Science and Technology*, 6: 165-184.
- Bauch, J.; Berndt, H. (1973): Variability of the chemical composition of pit membranes in bordered pits of Gymnosperms. *Wood Science and Technology*, 7: 6-19.
- Bauch, J.; Adolf, P.; Liese, W. (1973): Untersuchungen über die Tränkbarkeit von Fichtenholz. *Holz als Roh- und Werkstoff*, 31, 3: 115-120.
- Bauch, J.; Schweers, W.; Berndt, H. (1974): Lignification during heartwood formation: Comparative study of rays and bordered pit membranes in coniferous woods. *Holzforschung*, 28, 3: 86-91.
- Beldman, G.; Voragen, A.G.J.; Rombouts, F.M.; Pilnik, W. (1988): Synergism in cellulose hydrolysis by endoglucanases and exoglucanases purified from *Trichoderma viride*. *Biotechnol. and Bioeng.*, 31: 160-167.
- Bellmann, H. (1955): Über den Einfluss der Tüpfelkapillaren und Micellarinterstizien auf die Mechanik von Imprägniervorgängen mit Lösungsmitteln. *Mitt. der BFH*, 37, Reinbek.
- Bellmann, H. (1968): Pretreatment of wood for pressure impregnation. *Journal of the Institute of Wood Science*, 4, 3: 54-62.
- Bellmann, H. (1987): Zur Bedeutung der Holzfeuchte bei der Kesseldrucktränkung von Nadelhölzern. *Holzzentralblatt*, 126: 1857-1862.
- Bergman, O. (1973): Faktorerna som påverkar barrvedens impregnerbarhet-en litteraturstudie. *Research notes of the Department of Forest Products, Royal College of Forestry*, Nr. 89.
- Bergman, O. (1984): Biologiska metoder för att förbättra impregnerbarheten hos barrved. Report of the Swedish University of Agricultural Sciences, Dep. of Forest Products, Nr. 157.
- Berk, Z. (1976): *Braverman's introduction to the biochemistry of foods*. Elsevier Scientific Publishing Company, Amsterdam: 315 S.
- Biely, P. (1985): Microbial xylanolytic systems. *Trends in Biotechnol.*, 3: 286-290.
- Böhner, G. (1975): Untersuchungen über die Wasserdampf- und Luftdurchlässigkeit verschiedener Hölzer im natürlichen Zustand und nach thermischen Behandlungen bei Temperaturen bis 180 °C. *Diss. Universität München*.
- Bolton, A.J. (1976): Biological implications of a model describing liquid flow through conifer wood. *Leiden Botanical series*, 3: 222-237.
- Bolton, A.J.; Petty, J.A. (1977): Influence of critical point and solvent exchange drying on the gas permeability of conifer sapwood. *Wood Science*, 9, 4: 187-193.
- Bonsen, K. (1987): Summarized comparison of the effect of drying methods on pit aspiration and retention of preservatives in the wood of *Picea abies* (L.) Karst. and *Picea sitchensis* (Bong.) carr. CEC-report, HI 86.2041.
- Booker, R.E. (1990): Changes in transverse wood permeability during the drying of rimu and radiata pine. *Int. Res. Group on Wood Preservation*, WP 3636.
- Borgin, K.; Corbett, K. (1970): Improvement of capillary penetration of liquids into wood by use of supersonic waves. *Wood Science and Technology*, 14: 189-194.
- Borgin, K.; Corbett, K. (1971): The hydrophobic properties of bark extractives. *Wood Science and Technology*, 5: 190-199.
- Bosshard, H.H. (1974): *Holzkunde*, Bd.1, Mikroskopie und Makroskopie des Holzes. Verlag Birkhäuser, Basel: 230 S.
- Boutelje, J. (1983): Granimpregnering-Möjligheter och krav. *Wood Technology Report 22*, Svenska Träforskningsinstitutet, STFI-meddelande serie A nr 807: 53 S.
- Browning, B.L. (1967): *The chemistry of wood*. Interscience Publishers, N.Y., London: Vol.1: 384 S.; Vol.2: 387 S.
- Brunt, K. (1988): Chromatographie van koolhydraten. *LAB / ABC*, 9: 12 - 26.

- Bucher, H. (1957):** Die Struktur der Tertiärwand von Holzfasern. *Holzforschung*, 11: 97-102.
- Buckman, S.J.; Schmitz, H.; Gortner, R.A. (1935):** A study of certain factors influencing the movement of liquids in wood. *J. Phys. Chem.*, 39: 103-119.
- Butterfield, B.G.; Meylan, B.A. (1980):** Three dimensional structure of wood. 2. Edition. Chapman and Hall, London, New York.
- Carlsson, B.; Johnson, S.; Samuelson, O. (1969):** Uronic acids from scandinavian spruce. *Svensk Papperstidn.*, 72: 168-174.
- Carr, J.D.; Swartzfager, D.G. (1970):** A complexometric titration for the determination of sodium ion. *Analyt. Chem.*, 42, 11: 1238-1241.
- Chambat, G.; Barnoud, F.; Joseleau, F.-P. (1984):** Structure of the primary cell walls of suspension-cultured *Rosa glauca* cells. *Plant Physiology*, 74: 687-693.
- Charuk, E.V.; Vologdin, A.I.; Kovrigin, G.S. (1973):** Die Permeabilität des Kern- und Reifholzes von Nadelhölzern gegenüber Flüssigkeiten und Gasen. *Holztechnologie*, 14, 3: 135-138.
- Charuk, E.V.; Razumova, A.F. (1974):** Der Einfluss von Holzextraktstoffen auf die Permeabilität von Holz. *Holztechnologie*, 15, 1: 3-6.
- Chen, P.Y.S.; Sucoff, E.J.; Hossfeld, R. (1970):** The effect of cations on the permeability of wood to aqueous solutions. *Holzforschung*, 24, 2: 65-67.
- Coggins, C.R. (1981):** An investigation of the effects of pre-steaming of sawn spruce timber with Celcure A. *Int. Res. Group on Wood Preservation*, WP 3180.
- Comstock, G.L. (1967):** Longitudinal permeability of wood to gases and nonswelling liquids. *Forest Products Journal*, 17, 10: 41-46.
- Comstock, G.L.; Cote, W.A. (1968):** Factors affecting permeability and pit aspiration in coniferous sapwood. *Wood Science and Technology*, 2, 4: 279-291.
- Comstock, G.L. (1970):** Directional permeability of softwoods. *Wood and Fiber*, 1: 283-289.
- Cote, W.A.; Kraemer, R.L. (1962):** The permeability of coniferous pits demonstrated by electron microscopy. *Tappi*, 45: 119-122.
- Courtois, H. (1966):** Über den Zellwandabbau durch Bakterien im Nadelholz. *Holzforschung*, 20, 5: 148-154.
- Cymorek, S. (1980):** Färbeverfahren zur Unterscheidung von Holz zonen mit unterschiedlichem Absorptionsvermögen, insbesondere bei Fichtenholz. *Holz als Roh- und Werkstoff*, 38: 257-263.
- Czirnich, W.; Patt, R. (1976):** Untersuchungen über die Stabilisierung von Hemicellulosen beim Sulfitverfahren auf Magnesiumbasis. *Holzforschung*, 30: 19-27.
- Dekker, F.H.; Richards, G.N. (1976):** Hemicellulase: their occurrence, purification, properties and mode of action. *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.*, 32: 277-352.
- DeMan, J.M. (1976):** Principles of food chemistry. The AVI Publish. Company, Westport, Connecticut U.S.A.: 426 S.
- Deuel, H.; Stutz, E. (1958):** Pectic substances and pectic enzymes. *Adv. Enzymol.*, 20 : 341-382.
- DeVries, J.A.; Rombouts, F.M.; Voragen, A.G.J.; Pilnik, W. (1980):** Distribution of methoxyl groups in apple pectic substances. *Carbohydr. Polym.*, 3: 245 - 258.
- DeVries, J.A.; den Uijl, C.H.; Voragen, A.G.J.; Rombouts, F.M.; Pilnik, W. (1983):** Structural features of the neutral sugar side chains of apple pectin substances. *Carbohydr. Polym.*, 3: 193 - 205.
- DeVries, J.A.; Rombouts, F.M.; Voragen, A.G.J.; Pilnik, W. (1984):** Changes in the structure of apple pectic substances during ripening and storage. *Carbohydr. Polymers*, 4: 3-13.

- Dey, P.M.; Brinson, K. (1984):** Plant cell walls. *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.*, 42: 265-382.
- Dietrichs, H.H.; Hennecke, E.E. (1974):** Enzymatischer Abbau von Holzpolysacchariden nach Vorbehandlung mit Alkali. *Holz als Roh- und Werkstoff*, 32, 1: 13-18.
- Doesburg, J.J. (1965):** Pectic substances in fresh and preserved fruits and vegetables. I.B.V.T. Communication Nr. 25 Sprenger Institute, Wageningen, The Netherlands.
- Dunleavy, J.A.; McQuire, A.J. (1970):** The effect of water storage on the cell-structure of Sitka Spruce with reference to its permeability and preservation. *Journal of the Institute of Wood Science*, 5,2 : 20-28.
- Dunleavy, J.A.; Fogarty, W.M. (1971):** The preservation of spruce poles using a biological pretreatment. *BWPA*, 21: 5-28.
- Elcke, R. (1975):** Elektronenmikroskopische Untersuchungen an Gymnospermenhölzern als Beitrag zur Phylogenie der Gnetales. *Botan. Jahrb.*, 77: 193-217.
- Ellwood, E.L.; Ecklund, B.A. (1959):** Bacterial attack of pine logs in pond storage. *Forest Products Journal*, 9, 9: 283-292.
- Ellwood, E.L.; Erickson, R.W. (1962):** Effect of presteaming on seasoning and drying rate of redwood. *Forest Products Journal*, 12: 328-332.
- Englyst, H.N.; Cummings, J.H. (1984):** Simplified method for the measurement of total non-starch polysaccharides by gas-liquid chromatography of constituent sugars as alditol acetates. *Analyst*, 109: 937-942.
- Erickson, H.D.; Schmitz, H.; Gortner, R.A. (1937):** The permeability of woods to liquids and factors affecting the rate of flow. University of Minnesota, *Techn. Bulletin*, 122.
- Erickson, H.D.; Crawford, R.J. (1959):** The effects of several seasoning methods on the permeability of wood to liquids. *Am. Wood Pres. Assoc.*: 210-220.
- Erickson, O.; Goring, D.A.I. (1980):** Structural studies on the chemical bonds between lignins and carbohydrates in spruce wood. *Wood Science and Technology*, 14: 267-279.
- Fengel, D. (1966):** Heiss- und Kaltwasserextrakte von thermisch behandeltem Fichtenholz. *Holz als Roh- und Werkstoff*, 24: 9-14.
- Fengel, D. (1966):** Die Hemicellulosen in umbehandeltem und in thermisch behandeltem Fichtenholz. *Holz als Roh- und Werkstoff*, 24: 98-109.
- Fengel, D. (1967):** Das Verhalten der Cellulose im Fichtenholz bei thermischer Behandlung. *Holz als Roh- und Werkstoff*, 25: 102-111.
- Fengel, D.; Stoll, M. (1973):** Über die Veränderungen des Zellquerschnitts, der Dicke der Zellwand und der Wandschichten von Fichtenholz-Tracheiden innerhalb eines Jahresringes. *Holzforschung*, 27, 1: 1-7.
- Fengel, D.; Wegener, G. (1984):** *Wood. Chemistry, Ultrastructure, Reactions.* Walter de Gruyter, Berlin, N.Y.: 610 S.
- Fry, S.C. (1985):** Primary cell wall metabolism. *Oxford Surv.Plant mol. Cell. Biol.*, 2: 1 - 42.
- Fry, S.C. (1986):** Cross-linking of matrix polymers in the growing cell walls of Angiosperms. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 37: 165-186.
- Fry, S.C. (1988):** *The growing cell wall: Chemical and metabolic analysis.* ed. Longman Scientific & Technical, Harlow: 333 S.
- Frey-Wyssling, A.; Bosshard, H.H. (1953):** Über den Feinbau der Schliesshäute in Hoftüpfeln. *Holz als Roh- und Werkstoff*, 11: 417-420.
- Frey-Wyssling, A. (1959):** *Die pflanzliche Zellwand.* Springer, Berlin: 230 S.

- Gee, M.; Reeve, R.M.; McCready, R.M. (1959):** Reaction of hydroxylamine with pectinic acids. Chemical studies and histochemical estimation of the degree of esterification of pectic substances in fruit. *J. Agric. Fd. Chem*, 7: 34-38.
- Goetsch, S. (1988):** Examination of process variables associated with an improvement of the treatment of spruce. CEC-Per. Report.
- Goldberg, R. (1980):** Cell wall polysaccharidase activities and growth processes: a possible relationship. *Physiol. Plant.*, 50: 261-264.
- Greaves, H. (1970):** The effect of some wood inhabiting bacteria on the permeability characteristics and microscopic features of *Eucalyptus regnans* sapwood and *Pinus radiata* sapwood and heartwood. *Holzforschung*, 24, 1: 6-17.
- Grierson, D.; Tucker, G.A. (1983):** Timing of ethylene and polygalacturonase synthesis in relation to the control of tomato fruit ripening. *Planta*, 157: 174-179.
- Grosser, D. (1977):** Die Hölzer Mitteleuropas. Springer Verlag, Berlin-Heidelberg-New York: 430 S.
- Hackbarth, W. (1974):** Untersuchungen zur Kesseldruckimprägnierung von Fichtenholz mit wasserlöslichen Schutzmitteln. Dissertation Univ. Hamburg: 115 S.
- Harada, H. (1964):** Further observation of the pit structure of wood. *J. Jap. Wood Soc.*, 10: 221-225.
- Harada, H. (1965):** Ultrastructure and organization of gymnosperm cell walls. In: Cellular ultrastructure of woody plants. Syracuse Univ. Press, Syracuse: 507 S.
- Harada, H.; Cote, J.R. (1967):** Cell wall organization in the pit border region of softwood tracheids. *Holzforschung*, 21, 3: 81-85.
- Heim, P. (1962):** Über die Einwirkung von Alkali auf Pektinstoffe. Promotion ETH Zürich, Juris Verlag, Zürich: 66 S.
- Heutink, R. (1986):** Tomato juices and tomato juice concentrates: a study of factors contributing to their gross viscosity. Proefschrift Landbouwniversiteit Wageningen: 200 S.
- Heyn, A.N.J. (1981):** Molecular basis of auxin-regulated extension growth and role of dextranase. *Proc. nat. Acad. Sci.*, 78: 6608-6612.
- Hirst, E.L.; Jones, J.K.N. (1946):** The chemistry of pectic materials. In: *Advances in carbohydrate chemistry*. Academic Press Inc. Publishers, N.Y., Vol.2: 235-251.
- Hoffmann, P. (1969):** Über die radiale Wegsamkeit von Koniferenholz. Diplomarbeit Universität Hamburg.
- Hoffmann, P.; Patt, R. (1976):** Zum Abbauverhalten der Kohlenhydrate von Fichtenholz und Buchenholz gegenüber Säure-, Alkali- und Bisulfitlösung. *Holzforschung*, 30: 124-132.
- Illner, H.M. (1988):** Untersuchungen zur Verminderung einer möglichen Umweltbelastung im Tränkwerk bei Beregnung salzimprägnierter Hölzer. Diss. Univers. Hamburg: 226 S.
- Imamura, Y.; Harada, H.; Saiki, H. (1974):** Embedding substances of pit membranes in softwood tracheids and their degradation by enzymes. *Wood Science and Technology*, 8: 243-254.
- Jane, F.W.; Wilson, K.; White, D.J. (1970):** The structure of wood. Second Edition. A.& C. Black Ltd., London.
- Jarvis, M.C.; Hall, M.A.; Threlfall, D.R.; Friend, J. (1981):** The polysaccharide structure of potato cell walls. *Planta* 152: 93-100.
- Jarvis, M.C. (1982):** The proportion of calcium-bound pectin in plant cell walls. *Planta*, 154: 344-346.
- Jarvis, M.C. (1984):** Structure and properties of pectin gels in plant cell walls. *Plant Cell Env.*, 7: 153 - 164.

- Jayme, G.; Fengel, D. (1959): Untersuchungen über den Feinbau der Hofüpfelschliesshäute in Fichtenholz unter Anwendung einer Feucht-Präparationsmethode. Holz als Roh- und Werkstoff, 17, 6: 226-230.
- Jayme, G.; Hahn, G. (1960): Über den Polyuronid-Gehalt einiger deutscher Hölzer und daraus hergestellter Holo- und Hemi-Cellulosen. Holzforschung, 14 : 52-56.
- Jayme, G.; Fengel, D. (1961): Beobachtungen an Ultradünnschnitten von Fichtenholz. Holz als Roh- und Werkstoff, 19, 2: 50-55.
- Jayme, G.; Fengel, D. (1961): Beitrag zur Kenntnis des Feinbaus der Fichtenholz-Tracheiden. Holzforschung, 15 : 97-102.
- Jayme, G.; Azzola, F.K. (1966): Zur chemischen Resistenz der Warzenschicht von Holzfasern. Holzforschung, 20,3 :101-103.
- Johansson, I.; Samuelson, H. (1977): Reducing end groups in birch xylan and their alkaline degradation. Wood Science and Technology, 11: 251-263.
- Johansson, I.; Nordman-Edberg, K. (1987): Studies on the permeability of norway spruce. Int. Res. Group on Wood Preservation, WP 2295.
- Johnson, B.R.; Gjovik, L.R. (1970): Effect of *Trichoderma viride* and a contaminating bacterium on microstructure and permeability of loblolly pine and douglas fir. Am. Wood Pres. Assoc., 66: 234-242.
- Joseleau, J.-P.; Chambat, G.; Chumplitz-Hermoza, B. (1981): Solubilization of cellulose and other plant structural polysaccharides in 4-methyl morpholine N-oxide: an improved method for the study of cell wall constituents. Carbohydrate Research, 90: 339-340.
- Joslyn, M.A. (1962): The chemistry of protopectin : A critical review of historical data and recent developments. Adv. Fd. Pes., II : 1-107.
- Jutte, S.M.; Spit, B.J. (1963): The submicroscopic structure of bordered pits on the radial walls of tracheids in parana pine, kauri and european spruce. Holzforschung 17: 168-175.
- Kaji, A. (1984): L'Arabinosidases. Adv. Carbohydr. Chem. Biochem., 42: 383-394.
- Keljbets, M.J.H. (1974): Pectic substances in the cell wall and intercellular cohesion of potato tuber tissue during cooking. Promotieproefschrift, Centre for Agricultural Publishing and Documentation, Wageningen, Netherlands: 161 S.
- Kertesz, Z.I. (1951): The pectic substances. Interscience Publishers, N.Y., London: 628 S.
- Kliosov, A.A.; Rabinovitch, M.L. (1980): Enzymatic conversion of cellulose to glucose: present state of the art and potential. In: Enzyme, engineering, future directions. ed. Wingard, Berezin, Kliosov, Plenum Press, New York: 82-165.
- Knuth, D.I.; McCoy, E. (1962): Bacterial deterioration of pine logs in pond storage. Forest Products Journal, 14,4 : 159-166.
- Kobayashi, Y.; Matsuo, R. (1978): Enzymatic pulping of Mitsumata bast fiber. Cell. Chem. Techn., 12, 2: 177-197.
- Kobayashi, Y.; Matsuo, R. (1981): Enzymatic pulping of Mitsumata bast by alkaline pectolytic enzymes from *Erwinia aroideae*, *E. carotovora* and *Streptomyces fradiae*; effect of conditions on sheet properties. Cell. Chem. Techn., 15, 6: 649-659.
- Koljo, B. (1953): Die Abhängigkeit der Tränkmittelaufnahme des Holzes unter besonderer Berücksichtigung von Kiefer und Fichte. Holz als Roh- und Werkstoff, 11, 8: 303-311.
- Kottfors, G. ; Theden, G. (1965): Verfahren zum Sichtbarmachen von Holzschutzmitteln im Holz. Mitt. d. DGFH, 52: 88.S
- Kollmann, F.; Cote, W.A. (1968): Principles of wood science and technology. Solid wood I. Springer, Berlin.

- Krahmer, R.L.; Cote, W.A. (1963):** Changes in coniferous wood cells associated with heartwood formation. *Tappi*, 46 : 42-49.
- Kuroda, N.; Slau, J.F. (1988):** Evidence of nonlinear flow in softwoods from wood permeability measurements. *Wood and Fiber Science*, 20, 1: 162-169.
- Laming, P.; Ter Welle, B. (1970):** Anatomisch onderzoek naar de positie van het sluitvlies in de hofstippelparen in de celwanden der tracheiden in vuren bij verschillende vochtgehalten. TNO-rapport intern H-70-XXII: 20 S.
- Laming, P.B. (1974):** Some notes on longitudinal epithelium in the xylem of spruce with special reference to the pitting. *IAWA-Bulletin*, 4: 8 -14.
- Lantican, D.M.; Coté, W.A.; Skaar, C. (1965):** Effect of ozone treatment on the hygroscopicity, permeability and ultrastructure of the heartwood of western red cedar. I and EC Prod. Pes. Develop., 2: 66-70.
- Liese, W.; Fahnenbrock, M. (1952):** Elektronenmikroskopische Untersuchungen über den Bau der Hofstüpfel. *Holz als Roh- u. Werkstoff*, 10 : 197-201.
- Liese, W. (1956):** Zur systematischen Bedeutung des submikroskopischen Warzenstruktur bei der Gattung Pinus. *Holz als Roh- u. Werkstoff*, 14,11 : 417 -424.
- Liese, W. (1963):** Tertiary wall and warty layer in wood cells. *J. of Polymer Sci.*, 2: 213-229.
- Liese, W. (1965):** The fine structure of bordered pits in softwoods. In: *Cellular ultrastructure of woody plants*. University Press, Syracuse: 270-289.
- Liese, W.; Bauch, J. (1967):** On the closure of bordered pits in conifers. *Wood Science and Technologie*, 1: 1-13.
- Liese, W.; Karnop, G. (1968):** Über den Befall von Nadelholz durch Bakterien. *Holz als Roh- u. Werkstoff*, 26: 374-378.
- Liese, W.; Bauch, J. (1977):** Untersuchungen über die Wegsamkeit saftfrischen Splintholzes von Fichte und Sitkafichte. *Holz als Roh- und Werkstoff*, 35: 267-271.
- Lindgren, R.M.; Harvey, G.M. (1952):** Decay control and increased permeability in southern pine sprayed with fluoride solutions. *Forest Products Journal*, 2, 5: 250-256.
- Lüdtke, M. (1965):** Über Isolierung und Bestimmung schwach methylierter Pektine. *Holzforschung*, 19, 1: 13-30.
- McCleary, B.V.; Matheson, N.K. (1986):** Enzymic analysis of polysaccharide structure. In: *Adv. Carbohydrate Chem. Biochem.*, 44: 147-277.
- McComb, E.A.; McCready, R.M. (1957):** Determination of acetyl in pectin and acetylated carbohydrate polymers. *Anal. Chem.*, 29: 818-821.
- McCready, R.M.; Reeve, R.M. (1955):** Test for pectin based on reaction of hydroxamic acids with ferric ion. *J. Agric. Fd. Chem.*, 3: 260-262.
- McNeil, M.; Darvill, A.G.; Albersheim, P. (1980):** Structure of plant cell walls. Rhamnogalacturonan I, a structurally complex pectic polysaccharide in the walls of suspension-cultured sycamore cells. *Plant Physiol.*, 66: 1128 - 1134.
- McNeil, M.; Darvill, A.G.; Fry, S.C.; Albersheim, P. (1984):** Structure and function of the primary cell walls of plants. *Ann. Rev. Biochem.*, 53: 625-663.
- Meier, H. (1955):** Über den Zellwandabbau durch Holzvermorschungspilze und die submikroskopische Struktur von Fichtentracheiden und Birkenholzfasern. *Holz als Roh- und Werkstoff*, 13, 9: 41-46.
- Meshitsuka, G.; Lee, Z.Z.; Nakano, J.; Eda, S. (1983):** Contribution of pectic substances to lignin-carbohydrate bonding. *Int. Symp. Wood & Pulping Chem.*, 1: 149 - 152.

- Meyer, R.W. (1974):** Effect of enzyme treatment on bordered-pit ultrastructure, permeability, and toughness of the sapwood of three western conifers. *Wood Science*, 6, 3: 220-230.
- Meylan, B.A.; Butterfield, B.G. (1978):** The structure of New Zealand woods. NZ Department of Science and Industrial Research, DSIR Bulletin 222, Wellington: 250 S.
- Millitz, H. (1990):** UV-Fixierung chromhaltiger Holzschutzmittel. (Publ. in Vorbereitung).
- Morgan, J.W.W. (1976):** Incising as a means of improving preservative penetration in spruce. IUFRO XVI Worldcongress, Oslo.
- Morishita, S.; Ohkoshi, M.; Nakato, K.; Sadoh, T. (1986):** Destroying obstacles in the fluid flow through softwood with pectolytic enzymes. *Mokuzai Gakkaishi*, 32, 6: 401-408.
- Moskaleva, V.E.; Goncarova, E.V. (1968):** Einige Angaben zum Bau der Mittellamelle von Holzgewächsen. *Doklady Akad. Nauk SSSR*, Moskva 182, 4.
- Moskaleva, V.E.; Brjanceva, Z.E. (1973):** Einige Angaben der Feinstruktur der Zellwand von Lärchenholz. *Holztechnologie*, 14, 4: 211-216.
- Necesany, V. (1964):** Über den submikroskopischen Charakter der Mittellamelle des Sekundärxylems. Third European Regional Conference on Electron Microscopy, Prag.
- Nicholas, D.D.; Thomas, R.J. (1968):** The influence of enzymes on the structure and permeability of loblolly pine. *Am. Wood Pres. Assoc.*: 70-76.
- Nicholas, D.D.; Thomas, R.J. (1968):** Influence of steaming on ultrastructure of bordered pit membrane in loblolly pine. *Forest Products Journal*, 18, 1: 57-59.
- Nikitin, N.I. (1966):** The chemistry of cellulose and wood. Israel Program for Scientific Translations, Jerusalem: 691 S.
- Ohkoshi, M.; Tokuda, M.; Sadoh, T. (1987):** Increase of permeability of Sugi by degrading bordered pit membranes with enzymes. *Mokuzai Gakkaishi*, 33, 5: 347-353.
- O'Neill, M.A.; Selvendran, R.R. (1983):** Methylation analysis of cell wall material from parenchymatous tissues of *Phaseolus vulgaris* and *Phaseolus coccineus*. *Carbohydr. Res.*, 111: 239-255.
- Panshin, A.J.; Zeeuw, C. De (1980):** Textbook of wood technology. 4.ed., New York, Mc Graw Hill.
- Perng, W.R. (1980):** Studies on flow in wood. I. Permeability and axial structural variation. *Mokuzai Gakkaishi*, 26, 3:132-138. II. Permeability and axial structural variation of short sample. *Mokuzai Gakkaishi*, 26, 4: 219-226. III. Comparison of theoretical flow rate and experimental flow rate in various sample lengths. *Mokuzai Gakkaishi*, 26, 6: 388-393.
- Petty, J.A. (1970):** Permeability and structure of the wood of Sitka spruce. *Proc. Roy. Soc. Lond. B.*, 175: 149-166.
- Pew, J.C.; Connors, W.J.; Kunishi, A. (1964):** Enzymatic dehydrogenation of lignin model phenols. In: *Chemie et Biochemie de la lignin, de la cellulose et des hemicelluloses*, Grenoble : 229-245.
- Phillips, E.W.J. (1933):** Movement of pit membrane in coniferous woods, with a special reference to preservative treatment. *Forestry*, 7: 109-120.
- Pilnik, W.; Voragen, A.G.J. (1970):** Pectic substances and other uronides. In: *The Biochemistry of Fruits and Their Products*, ed. by A.C.Hulme, I, Academic Press, London: 53-87.
- Pilnik, W.; Voragen, A.G.J. (1974):** Pektinestoffen: voorkomen, structuur, afbraak en hun rol in voedingsmiddelen. *Voedingsmiddelentechnologie* 7, 26/27 und 30/31: 80-83 und 97-105.

- Pilnik, W.; Rombouts, F.M. (1981):** Pectic Enzymes. In: *Enzymes and Food Processing*, ed. by Birch, Blakebrough and Parker, Applied Science Publishers, London: 105-128.
- Pilnik, W.; Voragen, A.G.J.; Rombouts, F.M. (1986):** Chemistry of pectic substances. In: *Proceedings of the Opening of the New Central Laboratory Facilities of CSM*: 21-59.
- Polaczek, P. (1980):** Untersuchungen über die Luftdurchlässigkeit von Holz. Diplomarbeit Universität Hamburg: 85 S.
- Renard, C. (1989):** Etude des polysaccharides parietaux de la pomme. Extraction et caractérisation par des méthodes chimiques et enzymatiques. These présentée à l'Université de Nantes de Sciences: 159 S.
- Rogers, J.K.; Thompson, N.S. (1969):** An investigation of some Galactoglucomannan polysaccharides of engelmann spruce. *Svensk Pappertid*, 77: 61-67.
- Rombouts, F.M. (1972):** Occurrence and properties of bacterial pectate lyases. Proefschrift Landbouwhogeschool Wageningen. Agricultural Research Reports 779.
- Rombouts, F.M.; Pilnik, W. (1980):** Pectic enzymes. In: *Economic Microbiology*, A.H. Rose, ed., Vol. 5: 227 - 282.
- Rombouts, F.M.; Pilnik, W. (1986):** Pectinases and other cell-wall degrading enzymes of industrial importance. *Symbiosis*, 2, Balaban Publishers, Philadelphia: 79 - 90.
- Rombouts, F.M.; Voragen, A.G.J.; Searle-van Leeuwen, M.J.F.; Geraeds, C.C.J.M.; Schols, H.A.; Pilnik, W. (1988):** The arabinases of *Aspergillus niger*: purification and characterization of two L-arabinofuranosidases and an endo-1,5-L-arabinase. *Carbohydr. Polymers*, 9, 25-47.
- Sachs, J.B. (1963):** The torus of the bordered pit membrane in conifers. *Nature*, 198: 906-907.
- Sandermann, W.; Jonas, G.-Z. (1952):** Über die Imprägnierung von Hölzern mit öligen Schutzmitteln, unter der besonderen Berücksichtigung der Fichte. *Holz als Roh- und Werkstoff*, 10, 8: 305-311.
- Sandermann, W. (1956):** Grundlagen der Chemie und Technologie des Holzes. Akademische Verlagsgesellschaft Geest u. Portig, Leipzig: 498 S.
- Sandermann, W.; Hausen, B.; Simatupang, M. (1967):** Orientierende Versuche zur Differenzierung von Splint- und Kern sowie zum Sichtbarmachen der Übergangszone von Fichte und anderen Nadelhölzern. *Das Papier*, 21, 7: 349-354.
- Sanio, C. (1873):** Anatomie der gemeinen Kiefer. *J. wiss. Bot.*, 9: 50-126.
- Schneider, A. (1983):** Untersuchungen über die Eignung der Quecksilber-Porosimetrie zur Beurteilung der Imprägnierbarkeit von Holz. *Holz als Roh- und Werkstoff*, 41: 101-107.
- Schols, H.A.; Geraeds, C.C.J.M.; Searle-van Leeuwen, M.J.F.; Kormelink, F.J.M.; Voragen, A.G.J. (1990):** Rhamnogalacturonase: a novel enzyme degrading pectin hairy regions (n.n.veröffentlicht).
- Seifert, K. (1967):** Der chemische Einfluss schwach sauren Milieus auf die Holzsubstanz. *Holz als Roh- und Werkstoff*, 25, 7: 265-268.
- Selvendran, R.R. (1985):** Developments in the chemistry and biochemistry of pectic and hemicellulosic polymers. *J. Cell. Sci. Suppl.*, 2: 51-88.
- Selvendran, R.R.; Stevens, B.J.H.; O'Neill, M.A. (1985):** Developments in the isolation and analysis of cell walls from edible plants. In: *Biochemistry of plant cell walls*, Soc. for Experimental Biology, Sem. Ser. 28, ed. Brett and Hillmann, Cambridge University Press: 39-78.
- Slau, J.F. (1971):** Flow in wood. Syracuse University Press. New York: 480 S.

- Siau, J.F. (1976):** A model for unsteady-state gas flow in the longitudinal direction of wood. *Wood Science and Technology*, 10: 149-153.
- Stamm, A.J. (1964):** *Wood and Cellulose Science*. The Ronald Press Company, New York: 549 S.
- Stemsrud, F. (1956):** Über die Feinstruktur der Hoftüpfelschliesshaut von Nadelholz. *Holzforschung*, 10: 59-75.
- Stephens, B.G. (1974):** Neocuproine-test. *Anal. Chem.*, 46: 692-696.
- Strasburger, E. (1981):** Lehrbuch der Botanik für Hochschulen. (Bearbeitet von Denffer, Schumacher, Mägdefrau u. Ehrendorfer), 31. Auflage, G. Fischer, Stuttgart.
- Suolahti, O.; Wallen, A. (1958):** Der Einfluss der Nasslagerung auf das Wasseraufnahmevermögen des Kiefernspiltholzes. *Holz als Roh- und Werkstoff*, 16, 1: 8-17.
- Takabe, K.; Fukazawa, K.; Harada, H. (1989):** Deposition of cell wall components in conifer tracheids. *ACS Symposium Series 399: Plant Cell Wall Polymers: Biogenesis and Biodegradation*. Editors: Lewis/ Paice: 48 - 66.
- Talmadge, K.W.; Keegstra, K.; Bauer, W.D.; Albersheim, P. (1973):** The structure of plant cell walls. The macromolecular components of the walls of suspension-cultured sycamore cells with a detailed analysis of the pectic material. *Plant Physiol.*, 51: 158-173.
- Thibault, J.F. (1979):** Automatisation du dosage des substances pectiques par la methode au meta-hydroxydiphenyl. *Lebensm.-Wiss. u. Technol.*, 12, 247-251.
- Thomas, J.T.; Kringstad, K. (1971):** The role of hydrogen bonding in pit aspiration. *Holzforschung*, 25, 5: 143-149.
- Thomas, R.J. (1975):** The effect of polyphenol extraction on enzyme degradation of bordered pit tori. *Wood and Fiber*, 7, 3: 207-215.
- Thorner, J.P.; Northcote, D.H. (1962):** Changes in the chemical composition of a cambial cell during its differentiation into xylem and phloem tissues in trees. Xylan, glucomannan and α -cellulose fractions. *Biochem. J.*, 82: 340-346.
- Timell, T.E. (1967):** Recent progress in the chemistry of wood Hemicelluloses. *Wood Science and Technology*, 1: 45-70.
- Tollier, M-T.; Robin, J-P. (1979):** Adaption de la methode a l'orcino-sulfurique au dosage automatique des glucides neutres totaux: conditions d'application aux extraits d'origine vegetale. *Ann. Techn. Agric.*, 28, 1: 1 - 15.
- Trendelenburg, R.; Mayer-Wegelin, H. (1955):** *Das Holz als Rohstoff*. 2. Auflage, C. Hauser, München.
- Tschernitz, J.L. (1973):** Enzyme mixture improves creosote treatment of kiln-dried Rocky mountain Douglas-fir. *Forest Products Journal*, 23, 3: 30-38.
- Tschernitz, J.L.; Sachs, I.B. (1975):** Observations on microfibril organization of Douglas-fir bordered pit-pair membranes by scanning electron microscopy. *Wood and Fiber*, 6, 4: 332-340.
- Up de Graff, D.M. (1969):** Semi-microdetermination of cellulose in biological material. *Anal. Biochem.*, 32: 420-424.
- Venturino, J.A.; Arganbright, D.G. (1979):** Testing the predictability of preservative treatment of wood. *Holzforschung*, 33, 1: 23-27.
- Vologdin, A.I.; Razumova, A.F.; Charuk, E. (1979):** Die Bedeutung der Extraktstoffe für die Permeabilität von Kiefern- und Fichtenholz. *Holztechnologie*, 20, 2: 67-69.
- Voragen, A.G.J.; Timmers, J.P.J.; Linssen, J.P.H.; Schols, H.A.; Pilnik, W. (1983):** Methods of analysis for cell wall polysaccharides of fruits and vegetables. *Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und -forschung*, 177: 251-256.

- Voragen, A.G.J.; Schols, H.A.; Siliha, H.A.I.; Pilnik, W. (1986):** Enzymic lysis of pectic substances in cell walls: some implications for fruit juice technology. In: Chemistry and Function of Pectins. ACS Symposium 310, ed. by Fishman and Jen: 230-248.
- Voragen, A.G.J.; Schols, H.A.; Pilnik, W. (1986):** Determination of the degree of methylation and acetylation of pectins by HPLC. Food Hydrocolloids, 1: 65-70.
- Voragen, A.G.J.; Rombouts, F.M.; Searle-van Leeuwen, M.J.F.; Schols, H.A.; Pilnik, W. (1987):** The degradation of arabinans by endo-arabinase and arabinofuranosidases purified from *Aspergillus niger*. Food Hydrocolloids, 5/6: 423-427.
- Wagenführ, R. (1984):** Anatomie des Holzes. 3. Auflage, Fachbuchverlag Leipzig, 320 S.
- Wardrop, A.B. (1954):** The fine structure of the conifer tracheid. Holzforschung, Berlin 8, 1: S. 12-28.
- Wardrop, A.B.; Dadswell, H.E. (1957):** Variations in the cell wall organization of tracheids and fibres. Holzforschung, 11,5: 33-41.
- Wardrop, A.B. (1958):** The organization of the primary wall differentiating conifer tracheids. Austral. J. Bot., Melbourne 4: 244-305.
- Wardrop, A.B.; Liese, W.; Davies, G.M. (1959):** The nature of the wall structure in conifer tracheids. Holzforschung, 13, 4: S. 115-120.
- Wardrop, A.B.; Harada, H. (1965):** The formation and structure of the cell wall in fibres and tracheides. J. Exp. Bot., London 16: 47.
- Wegener, G. (1974):** Beitrag zur Charakterisierung der Natriumchlorit-Delignifizierung von Fichtenholz. Das Papier, 28: 478-486.
- Westermarck, U. (1982):** Calcium promoted phenolic coupling by superoxide radical-a possible lignification reaction in wood. Wood Science and Technology, 16: 71-78.
- Westermarck, U.; Hardell, H.-L.; Iversen, T. (1986):** The content of protein and pectin in the lignified middle lamella/primary wall from spruce fibers. Holzforschung, 40, 2: 65-68.
- Whitaker, J.R. (1972):** Principles of enzymology for the food sciences. ed: Marcel Dekker, New York.
- Wilkie, K.C.B. (1985):** New perspectives on non-cellulosic cell-wall polysaccharides (pectic substances and hemicelluloses) of land plants. In: Biochemistry of plant cell walls, Soc. for Experimental Biology, Sem. Ser. 28, ed. Brett and Hillmann, Cambridge University Press: 1-37.
- Wise, L.E.; Jahn, E.C. (1952):** Wood chemistry. Reinhold Publishing Corporation, N.Y., Vol. 2.
- Yamaki, S.; Kakiuchi, N. (1979):** Changes in hemicellulose-degrading enzymes during development and ripening of Japanese pear fruit. Plant Cell Physiol., 20: 301-309.
- Yang, K.C. (1987):** Growth ring contrast enhancement and the differentiation of sapwood and heartwood zones. Wood Science and Fiber, 19, 4: 339-342.
- Yoshimoto, T.; Hayashi, S.; Kishima, T. (1972):** Artificial modification of bordered pits in softwoods. Wood Research, 52: 90-105.
- Zinbo, M.; Timell, T.E. (1967):** Studies on a Native Xylan from Norway Spruce (*Picea abies*) 1. Isolation and Constitution. Svensk Pappertid, 70: 597-606.
2. Molecular Properties. Svensk Pappertid, 70: 645-701.

Curriculum vitae

Holger Militz

- | | |
|----------------|---|
| 25. März 1960 | geboren in Waldbröl, Deutschland |
| 1965 - 1970 | Grundschule Isengarten, Waldbröl |
| 1970 - 1978 | Hollenberg-Gymnasium, Waldbröl.
Allgemeine Hochschulreife |
| 1978 - 1980 | Wehrdienst |
| 1980 - 1987 | Studium der Holzwirtschaft an der
Universität Hamburg mit Abschluss
" Diplom-Holzwirt " |
| seit Mai 1987 | Wissenschaftlicher Mitarbeiter am
Holzforschungsinstitut TNO, Delft/
Niederlande. Bereichsleiter
Holztechnologie, Holzschutztechnik |
| seit Juni 1990 | Wahrnehmender Leiter der
Abteilung "Materiale und Produkte"
am Holzforschungsinstitut TNO.
Diese Abteilung beinhaltet die
Bereiche und Laboratorien
Holzchemie, Holzbiologie,
Holztechnologie, Holzschutz |