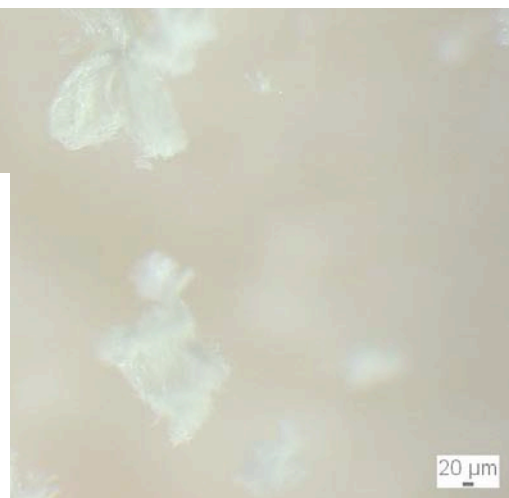
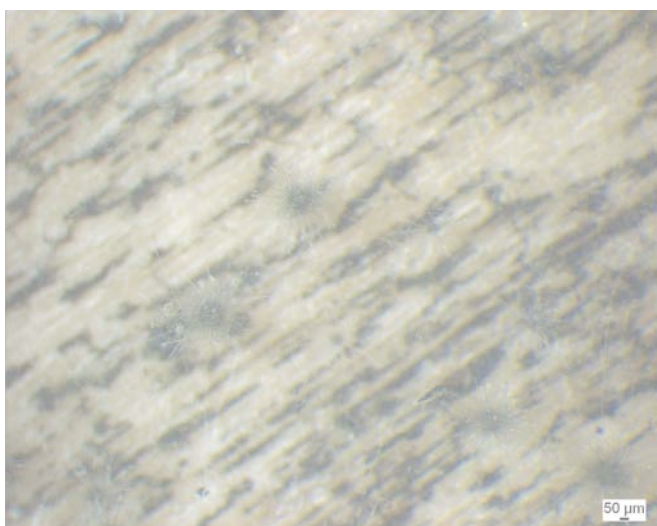
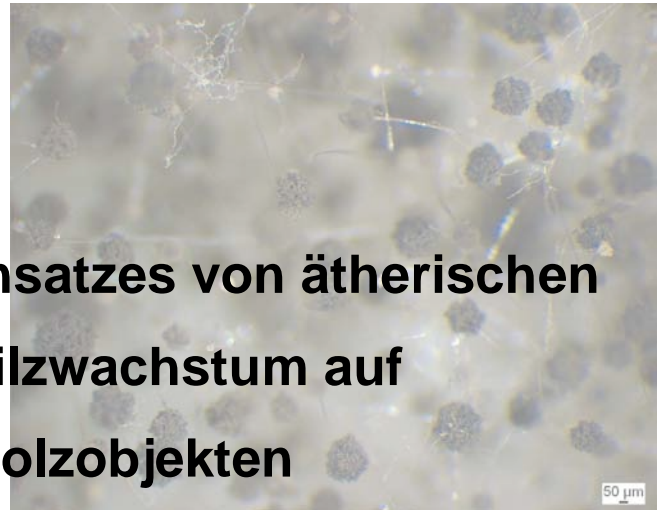


# **Möglichkeiten des Einsatzes von ätherischen Ölen gegen Pilzwachstum auf Trockenholzobjekten**



Diplomarbeit von Jana Egger  
Vorgelegt am 15. September 2006  
Leitung: Dr. P. Raschle und W. Schoch



## **Danksagung**

Viele Personen haben zum Gelingen dieser Diplomarbeit beigetragen. Ihnen allen möchte ich ganz herzlich meinen Dank aussprechen.

Ganz besonders danken möchte ich meinem Mentor Herr Werner Schoch für die konstruktive Kritik sowie die aufgewendete Mühe während dieser Zeit.

Ein ganz herzliches Dankeschön richtet sich an meinen Praktikumsleiter Dr. Paul Raschle und seiner Assistentin Frau Bettina Lanz für die ausgezeichnete Betreuung während meiner Diplomzeit und für die hilfreiche Unterstützung bei der Durchführung meiner Versuche. Das für diese Arbeit erforderliche Wissen über Mikrobiologie und Laborarbeiten verdanke ich vorwiegend ihnen. Zudem wurden alle erforderlichen Einrichtungen und Materialien von der EMPA St.Gallen und Dübendorf zur Verfügung gestellt, ohne diese eine solche Arbeit nicht möglich gewesen wäre.

Ein weiterer Dank gilt Herrn Dr. Axel Ritter EMPA St.Gallen und Herrn Markus Zennegg EMPA Dübendorf, für die Durchführung der GC-MS Analyse und die Auswertungen der Daten sowie die interessanten Diskussionen bezüglich Analytik. Für das Durchlesen und Korrigieren meiner Arbeit danke ich im speziellen Herrn Philippe Blatter sowie Frau Monique Strub und Niels Bogerd.

Für die Realisierung der Diplomarbeit möchte ich mich bei Nathalie Ducatel, Doyenne de la Haute Ecole d'Arts Appliqués ARC, filière Conservation-Restauration des objets archéologiques et ethnographiques à la Chaux-de-Fonds sowie Valentin Boissonnas und Christian Binet, Dozenten dieser Schule, bedanken.

Ein grosses Dankeschön richtet sich an meine Eltern, die mir ein solches Studium überhaupt ermöglicht haben. Im speziellen möchte ich auch meinem Freund Stephan Glur danken, der mir während des Diplomjahres immer unterstützend zur Seite stand und mich mit seinen fachmännischen Computertipps auf neue Ideen brachte.

Zum Schluss richtet sich mein Dank an die Bernische Denkmalpflege-Stiftung und die Goethe-Stiftung für Kunst und Wissenschaft für die finanzielle Unterstützung der Diplomarbeit.



## **Abstract**

The goal of this Diploma work is to examine whether essential oils can inhibit the growth of mould on wooden objects. The activity to inhibit the fungal growth of *Cinnamomum zeylanicum*, *Eugenia caryophyllata*, *Satureja montana* and *Origanum vulgare* in different ethanol concentrations ranging from 1% to 50% were examined in practical experiments at the laboratory of microbiology at EMPA St.Gallen (Swiss Federal Laboratories for Materials Testing and Research, Wood Laboratory, Microbiological Working Group). The effectiveness of these essential oils were compared with a commercial Biozid, the carbamate preparation Preventol® MP 100 (IPBC, 0.25% ethanol). In the first and theoretical part of this work, explications to the properties of aromatic plants and the use of their essential oils in conservation as well as in other ranges of application are given. An introduction to mycology, the prerequisite of fungal growth on wooden objects and an observation of the health risks of moulds are following, plus some methods for treatment on physical, chemical and biological base.

The essential oils were tested on paper discs on an agar nutrient medium in petri dishes to inhibit fungal growth of the most common fungi found in museum depots (*Aspergillus niger*, *Penicillium pinophilum*, *Paecilomyces variotii*, *Trichoderma virens*, *Chaetomium globosum*, *Aspergillus versicolor* and *Aureobasidium pullulans*). Furthermore it has been examined, whether the essences are capable to nourish fungal growth on an agar medium without a source of carbon. On wood samples (spruce and oak) the oils were used for a treatment to inhibit and/or control fungal growth, the same experiment was repeated under atmospheric conditions. In order to increase the expressiveness regarding the long-term conservation with essential oils, they were artificially aged in one part of the experiments. The evaluation of the fungal growth, respectively the activity to inhibit growth, occurred visually according to the international norm EN ISO 846. In addition the mycelium growth, that was not visible by the naked eye, was evaluated under a stereomicroscope with a magnification of 40 times. At the end of the practical part of this work, an experiment using gas chromatography and mass spectrometry had been realized, to check whether the essences have changed during the artificial aging process.

All these experiments show, that the examined essential oils, even when applied in high concentrations, are insufficient for protection against mould growth on wooden objects. Due to their bad aging properties they should not be used for conservation purpose.



## Résumé

Dans ce travail qui suit, des huiles essentielles ont été testées sur leur action antifongique contre des moisissures sur des objets en bois sec. Les tests pratiques ont été réalisées dans les laboratoires de microbiologie de l'EMPA St.Galle (Swiss Federal Laboratories for Materials Testing and Research, Wood Laboratory, Microbiological Working Group). Dans une première série de test, une observation a été réalisée par rapport à l'activité inhibitrice de croissance de *Cinnamomum zeylanicum*, *Eugenia caryophyllata*, *Satureja montana* et *Origanum vulgare* dans des concentrations de 1% à 50% dans l'éthanol. Pour comparer les résultats de l'activité antifongique sur les huiles essentielles, on a utilisé le biocide Preventol® MP 100 (IPBC, 025% dans l'éthanol) qui est en vente sur le marché. Dans la première partie du travail, des explications sont données sur les propriétés des plantes aromatiques et leurs applications dans la conservation et la restauration ainsi que l'application dans des autres domaines. Ensuite suit une introduction en mycologie ainsi que la croissance des moisissures sur les objets en bois et également leurs effets éventuels et leur impact du point de vue de la santé pour les personnes travaillant dans les dépôts des musées. De même il suit des explications sur les méthodes de traitement au niveau physique, chimique et biologique.

Dans un premier temps, l'activité inhibitrice de croissance des huiles essentielles a été étudiée selon quatre méthodes : Sur des disques de papier en milieu gélose (Agar) ; en milieu gélose (Agar exempt de carbone) pour l'évaluation de l'activité des composés comme valeur nutritive pour les moisissures ; sur des échantillons de bois conifères et feuillus (l'épicéa et le chêne) dans une chambre humide et sur les mêmes échantillons en bois pour l'évaluation de l'activité des composés volatils, ceux-ci étant en vase clos. Pour certains tests sur des disques de papier et des échantillons en bois, les huiles essentielles ont été vieilles par trois méthodes. Cela a permis une meilleure analyse de l'effet antifongique par rapport à la conservation à long terme. Les tests ont été réalisés sur les souches suivantes : *Aspergillus niger*, *Penicillium pinophilum*, *Paecilomyces variotii*, *Trichoderma virens*, *Chaetomium globosum*, *Aspergillus versicolor* et *Aureobasidium pullulans*.

Les résultats par rapport à la croissance des moisissures ainsi qu'à l'activité inhibitrice ont été jugés visuellement (à l'œil nu ainsi qu'avec un stéréomicroscope agrandissement 40fois) d'après la norme EN ISO 846. En dernière étape, une analyse a été faite en utilisant la chromatographie en phase gazeuse et la spectrométrie de masse afin de voir si les huiles essentielles sont sensibles à un processus de vieillissement artificiel.

Toutes les expériences réalisées ont montré que les huiles essentielles utilisées, même avec de très fortes doses ne peuvent pas empêcher suffisamment la croissance des moisissures et ne donnent pas les effets escomptés pour une amélioration de la conservation des objets en bois sec.



## Zusammenfassung

In dieser Diplomarbeit wird untersucht, wie weit ätherische Öle Schimmelpilzwachstum auf Holzgegenständen verhindern können. In praxisnahen Versuchen im mikrobiologischen Labor der EMPA St.Gallen (Swiss Federal Laboratories for Materials Testing and Research, Wood Laboratory, Microbiological Working Group) wurde in der ersten Testserie die pilzhemmende Wirkung von *Cinnamomum zeylanicum*, *Eugenia caryophyllata*, *Satureja montana* und *Origanum vulgare* in verschiedenen Dosierungen (1%-50 % in Ethanol) bestimmt. Zum Vergleich wurde ein technisches Antimikrobikum aus dem Biozid-Handel mitgeprüft, das Carbamat-Präparat Preventol® MP 100 (IPBC, 0.25 % in Ethanol). Zu Beginn werden im theoretischen Teil Erklärungen zu den Eigenschaften von aromatischen Pflanzen und deren Verwendung in der Konservierung sowie Restaurierung und weiteren Einsatzbereichen gegeben. Einführungen in die Pilzkunde und die Voraussetzungen für Pilzwachstum an Holzobjekten sowie eine Betrachtung des gesundheitlichen Risikos von "Schimmelpilzen" in Museumsdepots folgen im Anschluss sowie verschiedene Bekämpfungsmethoden auf physikalischer, chemischer und biologischer Basis.

Die ätherischen Öle werden zur Wachstumshemmung gegen *Aspergillus niger*, *Penicillium pinophilum*, *Paecilomyces variotii*, *Trichoderma virens*, *Chaetomium globosum*, *Aspergillus versicolor* und *Aureobasidium pullulans* im Agardiffusionstest auf Filterpapier, zur Nahrungseignung auf kohlenstofffreiem Agar und zur Pilzbekämpfung auf Fichten- und Eichenproben sowie über einen Dampfphasentest mit denselben Holzproben untersucht. Dabei wurden die Substanzen zum Teil künstlichen Alterungen ausgesetzt, um die Aussagekraft der Versuche bezüglich Langzeitkonservierung zu erhöhen. Die Beurteilung des Schimmelpilzwachstums resp. der pilzhemmenden Wirkung erfolgten visuell nach der internationalen Norm EN ISO 846. Auch von Auge nicht sichtbares aber dennoch vorhandenes Wachstum wurde bei 40-facher Vergrößerung mit dem Stereomikroskop bewertet. Zum Schluss wurde mit Gaschromatographie-Massenspektroskopie (GC-MS) analytisch verfolgt, ob sich die Öle durch diese künstlichen Alterungen veränderten.

Die durchgeführten Versuche zeigen, dass die geprüften ätherischen Öle auch bei sehr hoher Dosierung eine ungenügende Konservierung gegen Pilzwachstum bewirken und wegen ihrer schlechten Alterungsbeständigkeit auf Trockenholzobjekten keine Anwendung finden sollten.



# Inhaltsverzeichnis

<b>1. Einführung und Zielsetzung</b>	<b>1</b>
<hr/>	
<b>I. THEORETISCHER TEIL</b>	<b>3</b>
<hr/>	
<b>2. Aromatische Pflanzen/Ätherische Öle</b>	<b>3</b>
<hr/>	
<b>2.1. ALLGEMEINE EINFÜHRUNG</b>	<b>3</b>
2.1.1. ÄTHERISCHE ÖLE IN DER KONSERVIERUNG UND RESTAURIERUNG	4
2.1.2. WEITERE EINSATZBEREICHE DER ÄTHERISCHEN ÖLE	6
2.1.3. EXTRAKTIONSVERFAHREN DER ESSENZEN	7
<b>2.2. CHEMIE DER ÄTHERISCHEN ÖLE</b>	<b>8</b>
2.2.1. TERPENE UND IHRE VERWANDTEN	9
2.2.2. ALKOHOLE	10
2.2.3. PHENOLE	10
2.2.4. ALDEHYDE UND KETONE	11
2.2.5. SÄUREN UND ESTER	12
2.2.6. ETHER ODER ETHEROXIDE	12
<b>3. Einführung in die Mikrobiologie der Pilze</b>	<b>14</b>
<hr/>	
<b>3.1. ALLGEMEINE EINFÜHRUNG</b>	<b>14</b>
3.1.1. MORPHOLOGISCHE KENNZEICHEN	14
3.1.2. SYSTEMATIK DER PILZE	16
3.1.3. VORKOMMEN UND VERBREITUNG	17
3.1.4. LEBENSBEDINGUNGEN	18
<b>3.2. SCHIMMELPILZE – EIN GESUNDHEITSRISIKO?</b>	<b>20</b>



<b>4. Holz</b>	<b>22</b>
<hr/>	
<b>4.1. ALLGEMEINE EINFÜHRUNG</b>	<b>22</b>
<b>4.2. DER MIKROSKOPISCHE AUFBAU DER NADEL- UND LAUBHÖLZER</b>	<b>24</b>
<b>4.3. CHEMIE DES HOLZES</b>	<b>25</b>
4.3.1. ZELLULOSE	25
4.3.2. POLYOSEN (HEMIZELLULOSEN)	26
4.3.3. LIGNIN	26
<b>4.4. PHYSIKALISCHE EIGENSCHAFTEN DES HOLZES</b>	<b>26</b>
4.4.1. HOLZDICHTHE	26
4.4.2. HOLZFEUCHTIGKEIT	26
4.4.3. SCHWINDEN UND QUELLEN	28
<b>5. Zersetzung von Holz durch Pilze</b>	<b>29</b>
<hr/>	
<b>5.1. EINTEILUNG DER PILZE NACH IHREM SCHADENSBILD</b>	<b>29</b>
5.1.1. HOLZVERFÄRBENDE PILZE	30
5.1.2. HOLZERSTÖRENDE PILZE	30
<b>5.2. BEKÄMPFUNG DER SCHIMMELPILZE AUF HOLZOBJEKTEN</b>	<b>31</b>
5.2.1. PHYSIKALISCHE METHODEN	32
5.2.2. CHEMISCHE METHODEN	34
5.2.3. BIOLOGISCHE METHODEN	38
<b>6. Günstiges Wachstumsklima in Museumsdepots und präventive Massnahmen</b>	<b>39</b>
<hr/>	



**7. Materialien und Methoden****42****7.1. TESTMATERIALIEN****42**

7.1.1. ÄTHERISCHE ÖLE

42

7.1.2. PRÜFPILZE

43

7.1.3. HERSTELLUNG DER SPORENSUSPENSION ZUM ANIMPFEN DER VERSUCHE

43

7.1.4. FILTERPAPIER

44

7.1.5. HOLZPROBEN

45

7.1.6. NÄHRMEDIUM

45

7.1.7. REFERENZSUBSTANZ PREVENTOL® MP 100

46

7.1.8. LISTE DER BENÖTIGTEN TECHNISCHEN GERÄTE

47

**7.2. METHODEN****49**

7.2.1. KÜNSTLICHE ALTERUNGEN

49

7.2.1.1. STANDARDALTERUNG

49

7.2.1.2. HITZALTERUNG

49

7.2.1.3. FEUCHTALTERUNG

49

7.2.2. BIOLOGISCHE TESTS

49

7.2.2.1. AGARDIFFUSIONSTEST GEGEN SCHIMMELPILZE

50

7.2.2.2. BEWUCHSVERSUCH GEGEN SCHIMMELPILZE

50

7.2.2.3. BESTIMMUNG DER WACHSTUMSINTENSITÄT UND BEURTEILUNG

50

7.2.3. BESCHREIBUNG DER EINZELNEN EXPERIMENTE

52

7.2.3.1. AGARDIFFUSIONSTEST MIT ÄTHERISCHEN ÖLEN BEHANDELTEN UND GEALTERTEN FILTERPAPIERRONDELLEN  
ZUR UNTERSUCHUNG DER ANTIMYKOTISCHEN WIRKUNG (EXPERIMENT 1)

52

7.2.3.2. EINFLUSS VERSCHIEDENER HITZALTERUNGEN VON ÄTHERISCHEN ÖLEN AUF IHRE ANTIMYKOTISCHE  
WIRKUNG IM AGARDIFFUSIONSTEST (EXPERIMENT 2)

53

7.2.3.3. BEWUCHSVERSUCH AUF UNVOLLSTÄNDIGEM MINERALISCHEM AGARNÄHRBODEN ZUR UNTERSUCHUNG, OB  
ÄTHERISCHE ÖLE NAHRUNG FÜR DIE PRÜFPILZE DARSTELLEN (EXPERIMENT 3)

53

7.2.3.4. BEWUCHSVERSUCH AUF HOLZPROBEN IN DER FEUCHTKAMMER ZUR UNTERSUCHUNG ANTIMYKOTISCHER  
WIRKUNG ÄTHERISCHER ÖLE NACH DEN DREI ALTERUNGEN (EXPERIMENT 4)

54

7.2.3.5. VERSCHIMMELUNGSVERSUCH AN UNGEALTERTEN HOLZPROBEN MIT ANSCHLIESSENDER REINIGUNG UND  
BEHANDLUNG DER PRÜFSUBSTANZEN (EXPERIMENT 5)

54

7.2.3.6. BEWUCHSVERSUCH ZUR UNTERSUCHUNG DER ANTIMYKOTISCHEN WIRKUNG ÄTHERISCHER ÖLE DURCH  
EINEN DAMPFPHASENTEST (EXPERIMENT 6)

54

7.2.3.7. GC-MS DER PRÜFSUBSTANZEN ZUR UNTERSUCHUNG DER CHEMISCHEN ZUSAMMENSETZUNG  
(EXPERIMENT 7)

55



<b>8. Resultate</b>	<b>56</b>
<b>8.1. DISKUSSION UND BEMERKUNGEN</b>	<b>90</b>
<b>9. Schlussfolgerung und Ausblick</b>	<b>94</b>
<b>10. Literaturverzeichnis</b>	<b>95</b>
<b>11. Anhang</b>	<b>1</b>
<b>I. MIKROBIZIDE</b>	<b>1</b>
I.I. MIKROBIZIDE UND IHR WIRKUNGSMECHANISMUS	1
I.II. WICHTIGE ANTIMYKOTISCHE SUBSTANZEN IN DER HOLZKONSERVIERUNG UND RESTAURIERUNG	2
<b>II. ANALYSENZERTIFIKATE UND MERKBLATT</b>	<b>4</b>
II.I. ANALYSENZERTIFIKATE DER ÄTHERISCHEN ÖLE	4
II.II. MERKBLATT ZUR REFERENZSUBSTANZ PREVENTOL® MP 100	8
<b>III. PROTOKOLLE</b>	<b>9</b>
III.I. STERILISIERPROTOKOLL (EIN BEISPIEL)	9
III.II. GC-MS ANALYSENPROTOKOLL	10
<b>IV. GC-MS ANALYTIK</b>	<b>13</b>
IV.I. BESCHREIBUNG DER GC-MS ANALYSE	13
IV.II. RESULTATE DER GC-MS ANALYSE (EXPERIMENT 7)	15
<b>V. RESULTATE DER VERSCHIEDENEN EXPERIMENTE 1 BIS 6</b>	<b>31</b>
V.I. TABELLEN	31
V.II. GRAPHISCHE DARSTELLUNG DER RESULTATE	57
<b>VI. CD-ROM MIT PHOTOS UND PDF-DATEI DER ARBEIT</b>	



## **1. Einführung und Zielsetzung**

Es gibt antimikrobiell wirksame Substanzen auf der Basis verschiedenster Wirkstoffe<sup>1</sup>. Neben Produkten und Wirkstoffen aus der chemischen Industrie werden auch Naturstoffe wie ätherische Öle oder einzelne Inhaltsstoffe dieser Öle als antimikrobiell wirksam beschrieben. Dies gilt beispielsweise für Thymol und Karvakrol<sup>2</sup>. Im Rahmen dieser Arbeit wird im experimentellen Teil die antimykotische Wirkung<sup>3</sup> einiger ausgewählter ätherischer Öle untersucht. Geprüft werden der Einsatz und die Wirkung ätherischer Öle sowohl im Hinblick auf die desinfizierende Reinigung von pilzbewachsenen Holzobjekten als auch auf ihre pilzhemmende Wirkung (Konservierung, Unterdrückung von neuem Pilzwachstum).

Dazu wurde folgendes Prüfprogramm entwickelt:

- Bestimmung der antimykotisch wirksamen Konzentration im Agardiffusionstest
- Bestimmung der Alterungsbeständigkeit dieser Behandlungen mit ätherischen Ölen
- Bestimmung der antimykotischen wachstumshemmenden Wirkung auf Holz im Feuchtkammertest
- Bestimmung der antimykotischen Wirkung (desinfizierenden Wirkung) auf verschimmeltem Holz

Neben ätherischen Ölen wurde als interne Referenz auch ein technisches handelsübliches Antimikrobikum verwendet, Preventol MP 100<sup>4</sup>. Die Versuche stützen sich auf die langjährigen Erfahrungen der EMPA St. Gallen (Swiss Federal Laboratories for Materials Testing and Research, Wood Laboratory, Microbiological Working Group), die solche Tests standardmässig durchführt.

Im ersten theoretischen Teil dieser Arbeit werden die Eigenschaften der aromatischen Pflanzen und ihrer Essenzen vorgestellt und ihre Verwendung in der Konservierung und Restaurierung aufgrund bestehender Literatur erläutert. Des Weiteren erfolgt eine Einführung in die Pilzkunde und die Voraussetzungen für Pilzwachstum an Holzobjekten sowie eine Betrachtung des gesundheitlichen Risikos von Schimmelpilzen in Museumsdepots. Es folgen Angaben über physikalische und chemische Merkmale von Holz sowie dessen mögliche Zersetzung durch Pilze. Ein weiteres Kapitel erläutert die Möglichkeiten zur Bekämpfung von bestehendem Bewuchs in der Konservierung und Restaurierung sowie den präventiven Massnahmen zur Verhinderung von Bewuchs in Sammlungen.

---

<sup>1</sup> PAULUS, 1993, S.1

<sup>2</sup> WEIDENBOERNER, 2001, S.28

<sup>3</sup> Antimikrobiell umfasst sowohl den Begriff "antibakteriell" (gegen Bakterien wirksam) als auch den Begriff "antimykotisch" (gegen Pilze wirksam). Die antimikrobielle Wirkung (gilt sinngemäss gleich für antibakteriell wie auch für antimykotisch) umfasst wiederum zwei Qualitäten der Wirkung: Mikrobizid für Mikroben tötende Wirkung und mikrobistatisch für wachstumshemmende Wirkung.

<sup>4</sup> Dieses besteht nach dem technischen Merkblatt zu mind. 97% aus dem Wirkstoff IPBC (3-iodo-2-propynyl butyl carbamate).



Im zweiten, experimentellen Teil wird die antimykotische Wirkung ätherischer Öle mit jenen Pilzgattungen untersucht, welche oft in Museumsdepots vorzufinden sind. Finden die Pilzgattungen die richtige Nahrung, so können sie auskeimen und weitere Objekte kontaminieren. Schimmelpilze stellen in Museumsreserven in erster Linie ein ästhetisches Problem für Kulturgüter dar, da es sich um keine holzerstörenden Pilze handelt. Dennoch sind sehr viele Gattungen und Arten als Allergene bekannt und können die menschliche Gesundheit gefährden. Dies ist ein weiterer Aspekt dieser Arbeit. Es ist wichtig, Pilzbewuchs in Depots zu verhindern, aber auch Klimaregelungen und Massnahmen zu treffen, um die dort arbeitenden Personen und Fachkräfte zu schützen.

Ziel dieser Arbeit ist es, experimentell begründete Erkenntnisse über die antimykotische Wirkung verschiedener ätherischer Öle zu erhalten. Dabei wird visuell bestimmt, ob die Öle sichtbare Veränderungen an den behandelten Holzproben bewirken. Das Interesse liegt vor allem in den ätherischen Ölen und deren möglichem Einsatz beziehungsweise Grenzen in der Praxis.



## I. Theoretischer Teil

### 2. Aromatische Pflanzen/Ätherische Öle

#### 2.1. Allgemeine Einführung

Viele Pflanzen zeichnen sich durch einen charakteristischen Geruch aus, der für uns meist angenehm, seltener unangenehm ist. Das Auftreten des Geruchs hängt mit einer physikalischen Eigenschaft bestimmter Pflanzeninhaltsstoffe zusammen: ihrer leichten Flüchtigkeit. Auch das älteste Verfahren zur Abtrennung der Geruchsträger von den übrigen Pflanzenstoffen beruht auf dieser Flüchtigkeit. Unter dem technologischen Begriff „ätherische Öle“ fasst man demnach Naturprodukte zusammen, die sich wie folgt definieren lassen:

Flüchtige, stark riechende sekundäre Pflanzenstoffwechselprodukte von ölartiger Konsistenz, die in Wasser kaum löslich sind<sup>5</sup>. Sie unterscheiden sich von Leinöl etc. dadurch, dass sie vollständig verdampfen und auf Papier keinen typischen „Fettfleck“ hinterlassen<sup>6</sup>.

Das spezifische Gewicht ist meist kleiner als 1, daher schwimmen ätherische Öle auf Wasser. Öle mit hohen Gehalten an aromatischen und schwefelhaltigen Verbindungen bilden die Ausnahmen davon<sup>7</sup>.

Zu den auffallenden physikalischen Eigenschaften ätherischer Öle zählen ebenfalls ihre optische Aktivität und – je nach Gehalt an Bestandteilen mit Doppel- und Dreifachbindungen – das hohe Lichtbrechungsvermögen. In lipophilen Lösungsmitteln sind ätherische Öle leicht löslich<sup>8</sup>. In reinem Zustand sind sie meist farblos bis schwach gelblich, von Natur aus gelbbraun ist hingegen das Nelkenöl<sup>9</sup>.

Bei ungünstiger Lagerung können chemische Reaktionen ausgelöst werden, wie zum Beispiel Autooxydationen, Polymerisationen oder Esterhydrolysen. Feuchtigkeit, Wärme, Luftsauerstoff und Licht begünstigen chemische Reaktionen, die sich an Ölbestandteilen vollziehen können, die aber von der Reaktionsfähigkeit der Einzelbestandteile abhängen und daher von Öl zu Öl verschieden sind<sup>10</sup>.

Ein wichtiges Merkmal der ätherischen Öle ist ihr pH-Wert. Dieser liegt im sauren Bereich, zwischen pH 2 und pH 6.7<sup>11</sup>.

---

<sup>5</sup> STEINEGGER *et al.*, 1968, S.357

<sup>6</sup> Man nennt sie deshalb auch „trockene Ölen. Dies ist auch eine einfache Methode, um zu überprüfen, ob ein ätherisches Öl mit einem so genannten „fetten“ Öl verschnitten ist.

<sup>7</sup> STEINEGGER *et al.*, 1968, S.363

<sup>8</sup> STEINEGGER *et al.*, 1968, S.363

<sup>9</sup> In dieser Arbeit werden die Pflanzennamen synonym zu den Essenzen verwendet.

<sup>10</sup> STEINEGGER *et al.*, 1968, S.363

<sup>11</sup> SALLE, 1991, S.28



Die ätherischen Öle spielen eine wichtige Rolle für das Überleben der Pflanzen selbst. In ihrer evolutiven Entstehung konnten sich Pflanzen nicht unabhängig von ihrer Umgebung entwickeln (z.B. Pilze, Insekten, Tiere und weitere Pflanzen). Gezwungenermaßen mussten sie teilweise mit ihnen kooperieren oder sie bekämpfen<sup>12</sup>. Tatsächlich stehen manche Pflanzen in „chemischer Kriegsführung“ mit diesen Lebewesen mittels ganz bestimmter, bei Befall gebildeter flüchtiger Verbindungen. Aber auch zur Anlockung von bestäubenden Insekten werden flüchtige Verbindungen (Blütendüfte) produziert<sup>13</sup>. Die genaue Rolle der ätherischen Öle bei diesen Phänomenen ist jedoch nicht restlos geklärt.

### 2.1.1. Ätherische Öle in der Konservierung und Restaurierung

Bis heute werden die ätherischen Öle in der Praxis der Konservierung und Restaurierung (noch) nicht eingesetzt. Sie befinden sich noch in der Testphase. Das heißt, dass keine Publikationen existieren, in welchen ätherische Öle als Konservierungsmittel in der Praxis an einem Nicht-Testobjekt angewendet wurden<sup>14</sup>. Dennoch gibt es viele Recherchearbeiten, die belegen, dass die ätherischen Substanzen über antimikrobielle Wirkungen, spezifisch für den Bereich der Kulturgüterkonservierung, verfügen.

BILLERBECK *et al.* (2005) sehen den Einsatz „natürlicher Produkte“ zur Kulturgütererhaltung als wichtig, da dadurch chemische und physikalische Methoden ersetzt werden können, die sowohl eine Gefahr für die Umwelt wie auch für die Objekte darstellen. Somit kann der vorbeugende Kampf durch den Einsatz von Pflanzenextrakten, wie ätherischen Ölen, verbessert werden<sup>15</sup>.

Als kurative Mittel wurden sie bereits zur Einkapselung – zum Schutze vor Oxidation – oder als präventiver Schutz vor Mikroorganismenbefall, z.B. *Ceylon citronella* gegen *Aspergillus niger*, geprüft. Dabei wurden die Resultate als viel versprechend für den praktischen Einsatz angesehen<sup>16</sup>.

Auch zur desinfizierenden Behandlung der Luft in Museumsdepots gegen Pilzsporen von *Aspergillus niger*, *Chaetomium globosum*, *Myrothetium verrucaria*, *Penicillium funiculosum*, *Paecilomyces variotii*, *Stachybotrys atra* und *Trichoderma harzianum* wurden sie getestet; jedoch nicht *in situ*, also in Räumen, in denen sich Kunstwerke befinden. Laut Literatur sind die am meisten auf ihre antibakterielle oder antimykotische Wirkung getesteten Öle von Thymian, Oregano, Bohnenkraut, Lavendel, Minze, Rosmarin und Salbei, wobei die Wirkung der Essenz von Thymian aufgrund seines Hauptinhaltsstoffes Karvakrol als aktivste beschrieben wird<sup>17</sup>.

---

<sup>12</sup> SEIGLER, 1974, S.340

<sup>13</sup> Entnommen aus: [www.bah-bonn.de/arzneimittel/pflanzlich/BAH\\_Pflanz-Arnzei.pdf](http://www.bah-bonn.de/arzneimittel/pflanzlich/BAH_Pflanz-Arnzei.pdf) am 18.4.2006, Autor Bundesamt der Arzneimittel-Hersteller (BAH)

<sup>14</sup> Korrespondenz-E-Mail mit RAKOTONIRAINY, 22.03.2005

<sup>15</sup> BILLERBECK *et al.*, 2005, S.168ff

<sup>16</sup> BILLERBECK *et al.*, 2005, S.168ff; HENRY *et al.*, 1997, S.225ff; MARQUIER, 2002, S.333ff

<sup>17</sup> BILLERBECK, 2002, S.345ff



Auf Holz- und Lederobjekten wurden gegen Schimmelpilzbefall (*Aspergillus*, *Penicillium* und *Paecilomyces*) die Substanzen *Cinnamomum cassia* und *Trachyspermum ammi* geprüft und als akzeptabel für die Bekämpfung und als nicht toxisch für den Menschen betrachtet<sup>18</sup>.

Einzig RAKOTONIRAINY *et al.* (1998) schrieben nach Versuchen im Agardiffusionstest sowie im Mikroatmosphärentest gegen Schimmelpilzwachstum, dass die Substanzen nicht auf Kulturgütern zur Desinfizierung einsetzbar sind, da zu hohe Konzentrationen erforderlich seien. Dermaßen hohe Konzentrationen würden den Menschen wie auch dem Kulturgut schaden<sup>19</sup>.

Aber auch die einzelnen Inhaltsstoffe der ätherischen Öle wurden bereits gegen Pilzwachstum geprüft. Dies zeigt die Studie im Agardiffusionstest der über 200 Mono- und Sesquiterpene gegen das Wachstum von *Penicillium digitatum*, *P. italicum* und *P. ulaiense* (Erklärungen zur Chemie der ätherischen Öle vgl. Kapitel 2.2, Chemie der ätherischen Öle, S.8). Die Resultate zeigten auf, dass einzelne Substanzen wie Karvakrol, Thymol, Eugenol und Isoeugenol über starke fungizide und fungistatische Wirkungen verfügen. Dies höchstwahrscheinlich aufgrund ihrer funktionalen OH-Gruppe oder ihrer lipophilen Eigenschaften<sup>20</sup>.

Ähnliche Inhaltsstoffe wurden gegen die Pilze *Trametes versicolor* und *Coniophora puteana* eingesetzt, wobei die MHK (minimal hemmende Konzentration) untersucht wurde<sup>21</sup>. Diese liegt bei *T. versicolor* bei 125mmol und bei *C. puteana* bei 0.313mmol. Im Allgemeinen wurden bei den dokumentierten Versuchen Konzentrationen dieser Größenordnung verwendet<sup>22</sup>.

Ein weiterer Versuch galt der antimykotischen Wirkung einzelner Inhaltsstoffe über die Dampfphase, wie dies der Bericht von RAKOTONIRAINY *et al.* (1997) aufzeigt. Diese Autoren kamen allerdings zum Schluss, dass die Resultate der Laborversuche nicht auf *in situ* Versuche übertragbar sind. *In situ* war die Wirkung jeweils weniger effizient<sup>23</sup>.

Die ätherischen Öle gelten heute als antimikrobiell wirksam zur Konservierung der mit Polyethylenglykol behandelten Nassholzobjekte, wie dies die Diplomarbeit von JACQUEMETTAZ (2000) aufzeigt<sup>24</sup>.

---

<sup>18</sup> PANDEY *et al.*, 1998, S.381ff

<sup>19</sup> RAKOTONIRAINY *et al.*, 1998, S.121ff

<sup>20</sup> SCORA *et al.*, 1998, S.405ff

<sup>21</sup> VODA *et al.*, 2003, S.51ff

<sup>22</sup> MAHMOUD, 1994, S.110ff

<sup>23</sup> RAKOTONIRAINY *et al.*, 1997, S.218ff

<sup>24</sup> JACQUEMETTAZ, 2000



### 2.1.2. Weitere Einsatzbereiche der ätherischen Öle

#### Aromatherapie

Die ätherischen Öle besitzen eine starke biologische Aktivität. Dies ist auch der Grund, weshalb sie in der Phytotherapie (Pflanzenheilkunde) und Aromatherapie grossen Anklang finden<sup>25</sup>. Die ätherischen Öle werden wegen ihren antiseptischen Eigenschaften gegen infektiöse Krankheiten bakteriellen Ursprungs und auch gegen Pilze im Allgemeinen verwendet<sup>26</sup>. Für eine Behandlung werden die eigentlichen ätherischen Öle und aus Ölen isolierte Reinstoffe genutzt. Der isolierte Wirkstoff wird vorgezogen, wenn es auf eine genaue Dosierung ankommt oder wenn Begleitstoffe des Öls der Anwendung hinderlich sind<sup>27</sup>.

Ein Versuch mit den einzelnen Inhaltsstoffen Vanillin und Eugenol zeigt gegen Hefepilzwachstum im medizinischen Bereich, dass die orale letale Dosis für eine Maus bei 62.5mg/kg für Eugenol und 125mg/kg für Vanillin liegt. Diese Dosen auf die Blutmenge der Menschen umgerechnet ergeben zu geringe Konzentrationen, um antimykotisch wirksam zu sein<sup>28</sup>. Eine Erhöhung der Konzentration gefährdet wiederum die Gesundheit des Menschen (Intoxikation). Der Wirkungsgrad und die toxikologischen Werte der ätherischen Öle sind also nicht zu unterschätzen und genau zu dosieren.

#### Lebensmittelindustrie

Ätherische Öle werden auch in verschiedenen Bereichen der Lebensmittelindustrie eingesetzt. Dabei handelt es sich oft um industriell hergestellte Substanzen, da die Gewinnung der natürlichen Öle für diesen Zweck zu kostspielig ist. Sie werden in der Backwaren-, Fisch-, Fleisch-, Getränke-, Gemüse-, Milch-, Obst-, Süswarenindustrie etc. eingesetzt.

Die ätherischen Öle enthaltenden Gewürzkräuter und Gewürze werden auch zum Würzen von Speisen verwendet, um den Fertigprodukten bestimmte sensorische Eigenschaften zu verleihen. Bei den Gewürzen haben neben den ätherischen Ölen noch andere Inhaltsstoffe, wie zum Beispiel Alkaloide und Bitterstoffe, ihre Bedeutung<sup>29</sup>.

Ätherische Substanzen wurden auch schon als Pflanzenschutzmittel gegen Pflanzenkrankheiten getestet<sup>30</sup>.

---

<sup>25</sup> HOSTETTMANN *et al.*, 1990, S.43ff; VALNET, 2001; HAENSEL, 1993, S.203ff; BELAICHE, 1979, S.9ff; SALLE, 1991, S.9ff; POTEL-JEHL, 1990, S.35ff

<sup>26</sup> PELLECUER *et al.*, 1980, S.83ff; VIOLLON *et al.*, 1994, S.151ff; CHAUMONT *et al.*, 1989, S.124ff; KISHORE *et al.*, 1993, S.211ff; LIMA *et al.*, 1993, S.333ff

<sup>27</sup> STEINEGGER *et al.*, 1968, S.359

<sup>28</sup> BOONCHIRD *et al.*, 1981, S.1235ff

<sup>29</sup> Entnommen aus: [www.uni-jena.de/data/unijena\\_/faculties/bio\\_pharm/ieu/l5\\_lmc/5.1.spezielleInhaltsstoffell.doc](http://www.uni-jena.de/data/unijena_/faculties/bio_pharm/ieu/l5_lmc/5.1.spezielleInhaltsstoffell.doc), am 7.5.2006, Autor unbekannt

<sup>30</sup> BLAESER *et al.*, 2002, S.1ff



### 2.1.3. Extraktionsverfahren der Essenzen

Die ätherische Substanz befindet sich in verschiedenen morphologischen Pflanzenteilen<sup>31</sup>. Um einen maximalen Gewinn an ätherischer Substanz zu erhalten, muss die Pflanze noch vor ihrer Blütezeit geerntet werden<sup>32</sup>. Der Anteil an ätherischem Öl ist je nach dem, wo sich die Pflanze in ihrem Zyklus befindet, verschieden. So baut sie beispielsweise nach ihrer Blütezeit bis zu 70% des ätherischen Öls ab<sup>33</sup>.

Die Gewinnung der Essenzen erfolgt entsprechend der Empfindlichkeit ihrer Inhaltsstoffe durch mehrere Verfahren:

- a) Wasserdampfdestillation
- b) Auspressen
- c) Enfleurage
- d) Extraktion mit Lösungsmittel
- e) Einschnitt

Das wichtigste Verfahren zur Gewinnung von ätherischen Ölen, insbesondere von pharmazeutisch verwendeten Ölen, ist die Wasserdampfdestillation. Das Verfahren ist auch in grosstechnischem Massstab billig durchführbar. Früher wurden dazu die Pflanzenteile mit Wasser übergossen und die Destillationsblase durch direkte Feuerung erhitzt. Die modernen Betriebe destillieren mit gespanntem Wasserdampf<sup>34</sup>. Die meisten Inhaltsstoffe von ätherischen Ölen haben einen Siedepunkt zwischen 150 bis 300° C. Mit dieser Methode erfolgen ca. 80% der Gewinnung von ätherischen Ölen<sup>35</sup>. Bei der Wasserdampfdestillation können jedoch unerwünschte chemische Veränderungen auftreten (Entesterung, Dehydratisierung, Oxidation etc.), so dass solche Produkte mitunter eine schlechtere Qualität aufweisen<sup>36</sup>.

Zur Gewinnung von einigen Ölen sind mechanische Verfahren üblich. Insbesondere das Öl der Citrus- oder Agrumenöle (Orange, Limette, Grapefruit, Mandarine etc.) wird durch Auspressen von Früchten bzw. Fruchtschalen gewonnen<sup>37</sup>. Die Schalen enthalten Wasser, so dass beim Auspressen ein Wasser-Ölgemisch resultiert, das durch Pektine emulgiert ist. Die weitere Aufarbeitung besteht darin, das Öl durch

---

<sup>31</sup> SALLE, 1991, S.19

<sup>32</sup> Heutzutage werden die meisten Inhaltsstoffe der natürlichen Substanzen auch synthetisch hergestellt: BROPHY *et al.*, 1982, S.5

<sup>33</sup> SALLE, 1991, S.19

<sup>34</sup> STEINEGGER *et al.*, 1968, S.359

<sup>35</sup> SALLE, 1991, S.20

<sup>36</sup> Entnommen aus: www.uni-jena.de am 7.5.2006

<sup>37</sup> SALLE, 1991, S.21



Destillation, Filtrieren oder Zentrifugieren abzutrennen<sup>38</sup>. Diese Methode wird bei ca. 10% der ätherischen Öle verwendet<sup>39</sup>.

Die Methode der Enfleurage ist heute kaum mehr üblich, da sie sehr kostspielig ist. Maximal 3% der ätherischen Öle werden so gewonnen. Auf einen Gitterrost werden abwechselungsweise eine Schicht Fett- oder Schmalz, gefolgt von einer Schicht Blüten gelegt. Dieses Vorgehen wird mehrmals wiederholt. Der Gitterrost wird dabei auf ca. 30° C, erhitzt und das sich mit Essenzen getränkte Fett beginnt zu schmelzen. Zum Schluss wird mit Alkohol das Fett von den Essenzen getrennt<sup>40</sup>.

Da einzelne Öle eine ähnliche Dichte wie Wasser besitzen, können sie nicht durch Dampfdestillation gewonnen werden. In diesem Fall wird ein Extraktionsverfahren mit Lösungsmitteln verwendet, allerdings nur für ca. 3% der ätherischen Öle<sup>41</sup>. Für das Extraktionsverfahren werden leicht flüchtige Lösungsmittel – in der Regel Petroläther oder Benzol – verwendet. Frische Blüten werden in besondere Extraktoren gegeben, wo ihre Öle in einem kontinuierlichen Prozess kalt extrahiert werden. Durch das Lösungsmittel werden neben den Duftstoffen auch Wachse und Pflanzenfette herausgelöst. Durch Waschen mit reinem Alkohol kann das ätherische Öl daraus extrahiert und weiter konzentriert werden<sup>42</sup>.

Das Verfahren des Einschnittes wird kaum noch angewendet. Dabei wird die Rinde aufgeschnitten, um den Saft zu ernten<sup>43</sup>.

### 2.2. Chemie der ätherischen Öle

Bei ätherischen Ölen handelt es sich immer um Stoffgemische, wobei die Bestandteile von unterschiedlicher Natur sein können. So wurden bis heute über 500 Einzelkomponenten nachgewiesen, von denen 50 und mehr in einem einzigen ätherischen Öl vorhanden sein können. Trotzdem dominiert meist eine Komponente mit einem Anteil bis zu 90%.

Die Hauptmenge entfällt – insgesamt gesehen – auf Terpene und deren zahlreiche Derivate (vor allem Mono- und Sesquiterpene; vereinzelt bis kaum Di- und Triterpene) und auf Phenole und deren Derivate. Nur die chemische Analyse mittels Gas- oder Dünnschichtchromatographie und Massenspektrometrie erlaubte es, die Inhaltsstoffe eines ätherischen Öls genau ausfindig zu machen und zu bestimmen<sup>44</sup>.

---

<sup>38</sup> STEINEGGER *et al.*, 1968, S.359

<sup>39</sup> SALLE, 1991, S.21

<sup>40</sup> SALLE, 1991, S.21

<sup>41</sup> SALLE, 1991, S.21

<sup>42</sup> STEINEGGER *et al.*, 1968, S.358

<sup>43</sup> Vergleichbar mit der Kautschukgewinnung am Kautschukbaum, SALLE, 1991, S.21

<sup>44</sup> SALLE, 1991, S.24; SOULIER, 1995, S.19-25; VALNET, 2001, S.40-41; KUBECZKA, 1993, S.100-101; BELAICHE, 1979, S.20



Die physikalisch-chemischen Eigenschaften der ätherischen Öle variieren aufgrund vieler Faktoren (Herkunft, Klima, Nässe, Trockenperioden, Erntezeit, Erntemethoden, Extraktionsverfahren etc.)<sup>45</sup>.

In den folgenden Abschnitten werden die chemischen Hauptgruppen der Teilstoffe von ätherischen Ölen kurz erklärt.

### 2.2.1. Terpene und ihre Verwandten

Terpene sind in der Natur weit verbreitet, vor allem als Bestandteile der ätherischen Öle in Pflanzen (Blüten, Blätter, Früchte, Rinden und Wurzeln). Dabei handelt es sich bei vielen um reine Kohlenwasserstoffe, doch gibt es auch sauerstoffhaltige Verbindungen wie Alkohole, Aldehyde und Ketone (Terpenoide)<sup>46</sup>. Der Baustein ist der Kohlenwasserstoff Isopren,  $\text{CH}_2=\text{C}(\text{CH}_3)-\text{CH}=\text{CH}_2$ .

Somit haben die Terpenkohlenwasserstoffe die Summformel  $(\text{C}_5\text{H}_8)_n$ , sie werden nach der Anzahl der Isopreneinheiten eingeteilt (dabei gibt es acyclische und cyclische Strukturen)<sup>47</sup>:

Tab. 1. Einteilung der Isopreneinheiten von Terpenkohlenwasserstoffen

	<b>Anzahl der Isopreneinheiten</b>	<b>Beispiele</b>
Monoterpene	2	Pinen, Nerol, Citral, Kampher, Menthol, Limonen
Sesquiterpene	3	Nerolidol, Farnesol
Diterpene	4	Phytol, Vitamin A <sub>1</sub>
Triterpene	6	Squalen
Tetraterpene	8	Carotin (Provitamin A <sub>1</sub> )

Terpene und ihre Verwandten werden als lipophile Verbindungen betrachtet, die ein ähnliches Wirkungsspektrum aufweisen wie Kohlenwasserstoffe<sup>48</sup>.

Terpene finden Verwendung als Lösemittel (Terpentinöl und Einzelkomponenten, wie p-Cymol, p-Menthan); in Öl- und Alkydharzlacken und Lackharzen (z.B. Terpenphenole), als Weichmacher, als Riech- und Geschmacksstoffe (z.B. Kampher, Menthol und Limonen), in Pharmazeutika und Desinfektionsmitteln (z.B. Menthol, Terpeneol, p-Cymol), als Antioxidantien (z.B. Isobornylphenole) und als Textilhilfsmittel (z.B. Terpeneol)<sup>49</sup>.

---

<sup>45</sup> VALNET, 2001, S.46

<sup>46</sup> Entnommen aus: [www.chemie.fu-berlin.de/chemistry/oc/terpene/terpene.html](http://www.chemie.fu-berlin.de/chemistry/oc/terpene/terpene.html) am 5.7.2006; Arnaud P., 1996, S.446

<sup>47</sup> ARNAUD, 1996, S.446

<sup>48</sup> Entnommen aus: [www.umweltanalytik.com/lexikon/ing35.htm](http://www.umweltanalytik.com/lexikon/ing35.htm) am 5.7.2006

<sup>49</sup> Entnommen aus: [www.umweltanalytik.com/lexikon/ing35.htm](http://www.umweltanalytik.com/lexikon/ing35.htm) am 5.7.2006



Das als Lösemittel in zahlreichen Produkten verwendete Terpentinöl besteht zum Beispiel zu ca. 80 bis 90% aus  $\alpha$ -Pinen<sup>50</sup>.

### 2.2.2. Alkohole

Alkohole sind chemische Verbindungen, welche eine oder mehrere an gesättigte Kohlenstoffatome gebundene Hydroxylgruppen (OH) haben. Die Formel ist somit  $R - OH$ <sup>51</sup>. Die meisten Alkohole mischen sich mit Wasser. Mit zunehmender Länge der Kohlenwasserstoffketten werden sie zunehmend hydrophober. Nach dem IUPAC-System wird zur Bildung des Namens die Endung *-ol* dem Alkan angefügt (dies kennzeichnet die Hydroxylgruppe). Wenn nötig wird die genaue Position angegeben<sup>52</sup>. Hier einige Beispiele:

Tab. 2. Auflistung einiger Alkohole mit ihren Trivialnamen, chemischen Bezeichnungen und Formeln

CH <sub>3</sub> OH	CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> OH	CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> OH	CH <sub>3</sub> CH(OH)CH <sub>3</sub>
Methanol	Ethanol	1-Propanol	2-Propanol
Methylalkohol	Ethylalkohol	n-Propylalkohol	Isopropylalkohol

Weiter werden die Alkohole in drei Klassen eingeteilt: **Primäre, Sekundäre und Tertiäre**. Primäre Alkohole haben ein zweites Kohlenstoffatom am Kohlenstoffatom, an das die OH-Gruppe gebunden ist. Sekundäre besitzen jeweils zwei und die tertiären drei zusätzliche Kohlenstoffatome.

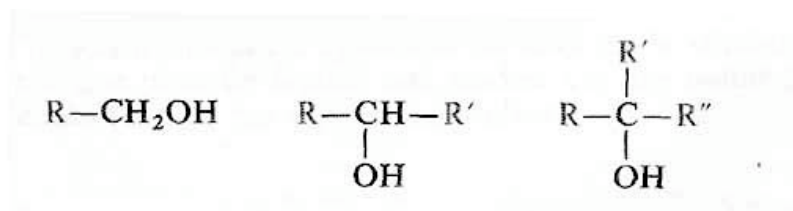


Abb. 1. Struktur von Primär-, Sekundär- und Tertiäralkoholen nach ARNAUD (1996)

### 2.2.3. Phenole

Eine spezielle Stoffklasse stellen die Alkohole dar, bei denen die OH-Gruppe an einem aromatischen Ring gebunden ist. Nach der einfachsten Verbindung Hydroxybenzol = Phenol, wird die ganze Gruppe Phenole genannt<sup>53</sup>. Aufgrund der möglichen Mesomeriestabilisierung des Phenolat-Anions ist die Acidität der

<sup>50</sup> Entnommen aus: <http://enius.de/schadstoffe/terpene.html> am 5.7.2006; Hart H., Conia J.M., 2002, S.236

<sup>51</sup> ARNAUD, 1996, S.283

<sup>52</sup> HART *et al.*, 2002, S.215

<sup>53</sup> Entnommen aus: [www.chemie.uni-erlangen.de](http://www.chemie.uni-erlangen.de) am 5.7.2006; Arnaud P., 1996, S.307; Hart H., Conia J.M., 2002, S217



Phenole deutlich grösser als die der Alkohole. Eine wässrige Lösung von Phenol reagiert schwach sauer. Daher rührt auch der alte Name „Karbolsäure“ für Phenol<sup>54</sup>.

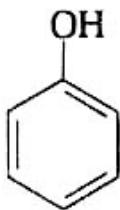
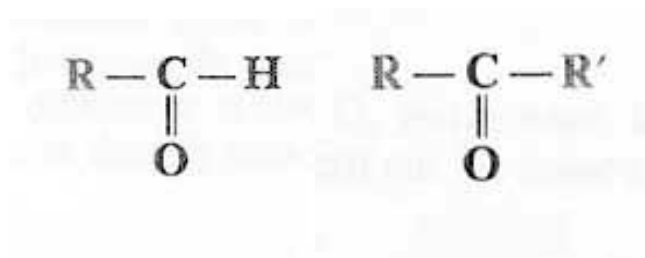


Abb. 2. Grundstruktur von Phenol nach HART et al. (2002)

Enthält ein Molekül mehrere Hydroxyl-Gruppen, handelt es sich um einen mehrwertigen Alkohol beziehungsweise um ein mehrwertiges Phenol. Der wichtigste Vertreter dieser Gruppen ist unter anderem Ethylenglykol (eine farblose, viskose, süsslich schmeckende Flüssigkeit, die vor allem als Frostschutzmittel zum Einsatz kommt).

#### 2.2.4. Aldehyde und Ketone

Die Aldehyde können durch die Abspaltung von zwei Wasserstoffatomen aus einem primären Alkohol hergestellt werden. Die entstehende C=O-Doppelbindung wird Carbonyl-Gruppe genannt. Sie kommt neben den Aldehyden, Carboxylsäuren, Estern und Amiden auch in den Ketonen vor. Der Name wird aus dem Grundgerüst der vergleichbaren Alkane gebildet und erhält die Endung *-al*<sup>55</sup>. Die Aldehyde sind im Besitz von mindestens einem Wasserstoffatom, welches an das Kohlenstoffatom des Carbonyls gebunden ist. Im Vergleich zu den Ketonen befinden sich keine Wasserstoffatome direkt am Carbonyl<sup>56</sup>.



Bz Abb. 3 und 4. Aldehyd- und Ketonegruppen nach ARNAUD (1996) ne: Benzaldehyd (Mandelessenz), Cinnamaldehyd (Zimt), Vanillin (Vanilleschote), Carvon (grüne Minze), Vitamine K und Kampher.

---

<sup>54</sup> Entnommen aus: [www.chemie.uni-erlangen.de](http://www.chemie.uni-erlangen.de) am 5.7.2006

<sup>55</sup> Entnommen aus: [www.seilnacht.com/lexikon/aldehyde.html](http://www.seilnacht.com/lexikon/aldehyde.html) am 5.7.2006; Arnaud P., 1996, S.335; Hart H., Conia J.M., 2002, S.260

<sup>56</sup> HART et al., 2002, S.260



### 2.2.5. Säuren und Ester

Die funktionelle Gruppe der Carboxylsäuren verbindet die OH-Gruppe, welche charakteristisch für die Alkohole ist und die C=O-Gruppe, charakteristisch für Aldehyde und Ketone<sup>57</sup>. Aber die Reaktivität der **Säuren** ist nicht gleich der Summe derjenigen von Alkoholen und Ketonen. Die beiden Gruppen OH und C=O bewegen sich nicht unabhängig in der Gruppe COOH, und das Verhalten jedes einzelnen ist stark beeinflusst durch den so genannten „Nachbar“ der Gruppe. Die Säuren sind mit Wasser vermischbar.

**Ester** werden neben weiteren Substanzen wie Chlorsäure, Anhydridsäure, Amid und Nitril als Säurederivate bezeichnet. Sie entstehen durch die Ersetzung der OH-Gruppe durch eine OR-Gruppe. Ester können mehrere Reaktionen eingehen: Hydrolyse, Verseifung, Reduktion oder Zersetzung durch Hitze<sup>58</sup>. Die häufigsten Ester sind Pentylazetat (Bananen), Octylazetat (Orangen), Ethylbutyrat (Ananas) und Pentylbutyrat (Aprikosen). Natürliche Aromen können sehr komplexe Strukturen aufweisen. Zum Beispiel wurden nicht weniger als 53 Ester unter den flüchtigen Substitutionen der Bartlett-Birne entdeckt<sup>59</sup>.

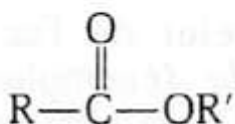


Abb. 5. Funktionsgruppe von Ester nach HART et al. (2002)

### 2.2.6. Ether oder Etheroxide

Ether, auch Etheroxid genannt, besteht aus einem Molekül aus zwei organischen Gruppen, welche an einem Sauerstoffatom gebunden sind. Die allgemeine Formel lautet  $R - O - R'$ . R und R' können identisch oder verschieden sein. Die Ether werden entweder durch Dehydrierung von Alkohol gewonnen oder durch die Reaktion eines Alkolats mit einem Halogenderivat<sup>60</sup>.

Ether sind farblose Substanzen mit einem charakteristischen angenehmen Geruch. Der Siedepunkt ist tiefer als derjenige der Alkohole mit derselben Anzahl Kohlenstoffatome. Aufgrund ihrer Struktur können Ethermoleküle keine Wasserstoffverbindungen eingehen. Jedoch können Wasserstoffverbindungen mit hydroxilierten Substanzen entstehen<sup>61</sup>. Dies ist auch der Grund, warum Alkohol und Ether vermischbar sind. Ether sind wenig reaktiv – mit Ausnahme der Epoxide – und werden deshalb oft als Lösungsmittel

---

<sup>57</sup> ARNAUD, 1996, S.358

<sup>58</sup> ARNAUD, 1996, S.366

<sup>59</sup> HART et al., 2002, S.306

<sup>60</sup> ARNAUD, 1996, S.299

<sup>61</sup> HART et al., 2002, S.245



eingesetzt<sup>62</sup>. **Epoxide** gehören auch in die Gruppe der Ether, allerdings sind sie zyklische Ether. Auch **Thioether** fallen in die Rubrik Ether, wobei das Sauerstoffatom durch ein Schwefelatom ersetzt wird<sup>63</sup>.

---

<sup>62</sup> ARNAUD, 1996, S.299

<sup>63</sup> HART *et al.*, 2002, S.244



### **3. Einführung in die Mikrobiologie der Pilze**

#### **3.1. Allgemeine Einführung**

Die Mikrobiologie ist ein Teilgebiet der Biologie. Sie befasst sich mit Mikroorganismen. Das sind mikroskopisch kleine Individuen, die mit bloßem Auge nicht erkennbar sind. Verschiedene Organismengruppen werden als Gegenstand der Mikrobiologie betrachtet, so die Bakterien, Protozoen, Pilze, Mikroalgen und Viren. In der Folge werden hier nur Fragen der Pilze behandelt.

Pilze sind eine sehr inhomogene Gruppe, ihnen allen ist aber gemeinsam, dass sie den benötigten Kohlenstoff und die nötige Lebensenergie aus dem Abbau (der Veratmung) organischer Stoffe gewinnen<sup>64</sup>. Die Besiedlung toter oder lebender organischer Substrate beginnt durch Keimung von Sporen. Die Bezeichnung "Schimmelpilz" ist also kein botanisch-systematischer Begriff, sondern ein Sammelbegriff für oberflächlich wachsende Pilzmyzelien. Dazu gehören Arten aus verschiedenen Gruppen wie Zygomyceten (Jochpilze), Ascomyceten (Schlauchpilze) und Deuteromyceten (Fungi imperfecti)<sup>65</sup>. Eine richtige mykologische Bezeichnung für die Schimmelpilze ist schwierig zu finden<sup>66</sup>.

Schimmelpilze sind also Mikroorganismen, die in der Natur aus der aeroben Zersetzung, Kompostierung abgestorbener Lebewesen und organischer Materialien ihre Nährstoffe gewinnen und dadurch eine wichtige Rolle im Nahrungskreislauf spielen<sup>67</sup>. Es erstaunt somit nicht, dass sie bei geeigneten Bedingungen auch Kunstgegenstände und Kulturgut befallen und schädigen können.

#### **3.1.1. Morphologische Kennzeichen**

##### Das Myzel

Die Entwicklung der Schimmelpilze findet oft in drei Phasen statt: Steriles Wachstum (ohne Sporenbildung), asexuelle Fruktifikation und sexuelle Fruktifikation<sup>68</sup>. Wachstum beginnt mit der Keimung einer Spore. Es entwickelt sich das *Hyphengeflecht* (Myzel). An diesem entsteht oft eine asexuelle Fruktifikation: Sporenträger, welche Konidien abgeben<sup>69</sup>. Das *Myzel* kann aus seiner Umgebung Nährstoffe und Wasser aufnehmen, diese zu arteigenen Makromolekülen umbauen, Energie gewinnen und Stoffwechsel betreiben.

Eine gewisse Differenzierung erfolgt auch innerhalb eines Myzels: Substrathyphen nehmen Nahrung auf und besorgen den Stoffaufbau; Lufthyphen dienen zur raschen Ausbreitung mittels Sporen. An oder aus ihnen entwickeln sich oft die Fruktifikationsorgane. Das Myzel kann sich also im Substrat entwickeln oder auf der

---

<sup>64</sup> RASCHLE, 1982, S.3

<sup>65</sup> PETRINI *et al.*, 2002, S.1

<sup>66</sup> GUBLER, 1990, S.2

<sup>67</sup> Arbeitsgruppe Schimmel und Mikroorganismen (orv), Schimmel Gefahr für Mensch und Kulturgut, entnommen aus: [www.orv.at](http://www.orv.at), 07.04.2006

<sup>68</sup> PETRINI *et al.*, 2002, S.1

<sup>69</sup> STRANGE *et al.*, 1991, S.1



Substratoberfläche wachsen und sich von dort aus in den Luftraum erheben<sup>70</sup>. Die Hyphen wachsen zwar in ihrem Spitzenbereich, doch sind alle Teile des Myzels potentiell wachstumsfähig. Daher genügt zur Übertragung ein kleines Stück des Myzels, um ein neues Fruchtlager (Thallus) entstehen zu lassen.

### Sporen

Sporen sind Verbreitungseinheiten der Pilze und entstehen auf verschiedene Weisen. Pilze können sich zum Teil durch asexuelle oder sexuelle Fruktifikation vermehren. Die asexuelle Vermehrung beginnt mit einer Zellverschmelzung gefolgt von der Zell- beziehungsweise Kernteilung. Dabei handelt es sich um eine Abschnürung oder Fragmentierung an Pilzfäden (Hyphen) und Sporenträgern (Konidien). Nach der Art ihrer Entstehung lassen sich die meisten Schimmelpilzsporen in Sporangiosporen<sup>71</sup> und Konidien einteilen<sup>72</sup>.

Die sexuelle Fruktifikation ist ein komplexer Vorgang und beginnt mit einer Zellverschmelzung, gefolgt von einer Kernverschmelzung und schliesslich einer Reduktionsteilung (Verteilung des Erbmaterials und Bildung von Sporen). Bei den geschlechtlichen Sporen werden viele Formen unterschieden, beispielsweise die Zygosporen und die Ascosporen.

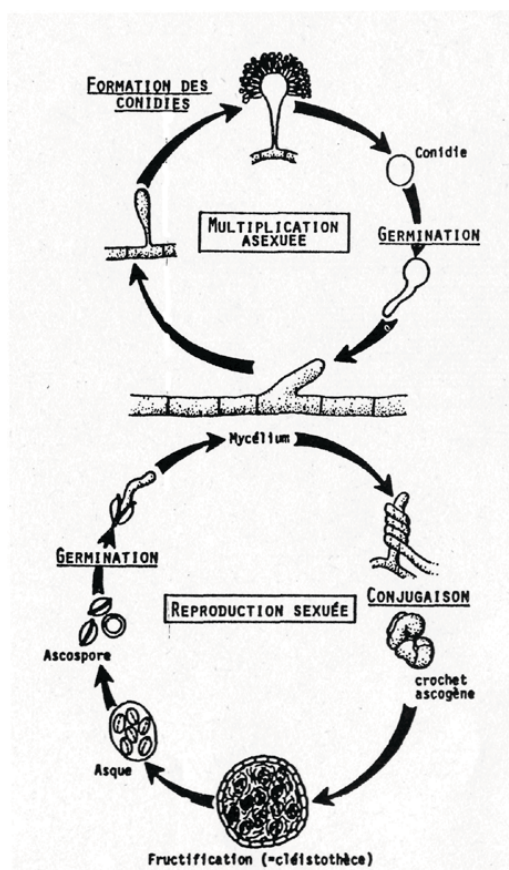


Abb. 6. Reproduktionszyklus vom Schimmelpilz der Gattung Ascomyceten. Die sexuelle oder asexuelle Reproduktion beginnt beim Myzel. Bei einzelnen *Aspergillus*-Gattungen ist nur die asexuelle Reproduktion bekannt. Bild nach SFIC (1988)

<sup>70</sup> REISS, 1986, S.3

<sup>71</sup> *Sporangiosporen*: Diese Sporen werden in Hyphenabschnitten, den Sporangien, gebildet.

<sup>72</sup> *Konidien*: Die aus dem Substratmyzel entstandenen Konidiophoren bilden an ihrem oberen Ende besonders ausgebildete Strukturen, die die Konidien meist typischerweise in Ketten abschnüren.



### 3.1.2. Systematik der Pilze

Die höheren Pilze (echte Pilze), Organismen mit stets unbeweglichen Sporen, umfassen Zygomyceten, Ascomyceten, Basidiomyceten und Deuteromyceten (Fungi imperfecti). Sie sind eine Abstammungsgemeinschaft und bilden das Regnum der Fungi. Praktisch alle Schimmelpilze gehören zu dieser grossen Gruppe<sup>73</sup>.

Tab. 3. Einteilung der Pilze nach Klassen, Vermehrungstypen und häufigen Gattungen

Klasse	Asexuelle Vermehrung	Sexuelle Vermehrung	Gattungen
Zygomyceten (Jochpilze)	Sporangiosporen	Zygosporen	<i>Absidia</i> , <i>Mucor</i> <i>Rhizopus</i> , <i>Thamnidium</i> u.a.
Ascomyceten (Schlauchpilze)	Konidien	Ascosporenbildung	<i>Byssosclamyces</i> , <i>Emmericella</i> , <i>Eupenicillium</i> , <i>Sartorya</i> , <i>Talaromyces</i> , <i>Nerisporia</i> u.a.
Basidiomyceten (Ständerpilze)	Konidien	Basidiosporenbildung	<i>Serpula</i> (Hausschwamm), <i>Gloeophyllum</i> (Blättlinge)
Deuteromyceten (Fungi Imperfecti)	Konidien	Nicht bekannt	<i>Aspergillus</i> , <i>Monilia</i> , <i>Paecilomyces</i> , <i>Penicillium</i> <i>Scopulariopsis</i> , <i>Sporotrichum</i> , <i>Trichoderma</i> , <i>Trichothecium</i> , <i>Alternaria</i> , <i>Cladosporium</i> , <i>Fusarium</i> u.a.

Der grösste Teil der Schimmelpilze zählt zu den Deuteromyceten. Deren Fruktifikation findet ausschliesslich asexuell und ohne Kernphasenwechsel statt. Eine sexuelle Form ist bis heute nicht bekannt, deshalb der Name Fungi Imperfecti – unvollkommene Pilze.

<sup>73</sup> PETRINI *et al.*, 2002, S.10



Abb. 7. *Aureobasidium pullulans* (Deuteromyceten): Verschieden abgeschnürte Typen von Konidien. Zeichnung von Rakotonirainy in FLIEDER (1999)

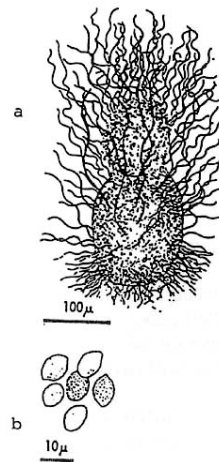
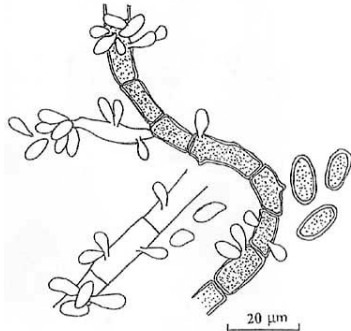


Abb. 8. *Chaetomium globosum* (Ascomyceten): a. Fruktifikation, b. Sporen. Zeichnung von Nicot in FLIEDER (1999)

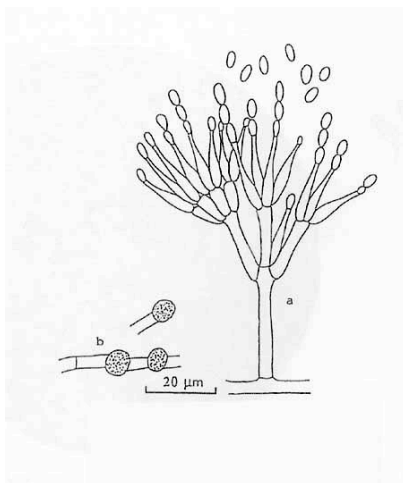


Abb. 9. *Paecilomyces variotii* (Deuteromyceten): a und b Konidien nach Botton in FLIEDER (1999)

### 3.1.3. Vorkommen und Verbreitung

Die Pilze sind in erster Linie im Boden zu finden. Hier spielen sie zusammen mit Bakterien und Kleintieren eine wichtige Rolle als Verrottungsorganismen. Die Zusammensetzung der Mikroflora eines Bodens scheint in starkem Masse sowohl von seinen physikalischen Eigenschaften als auch von der Art der Vegetation abzuhängen. Im Allgemeinen nimmt der Pilzgehalt der Böden von oben nach unten hin ab<sup>74</sup>, wobei Waldböden höhere Pilzkeimzahlen besitzen als Wiesenböden<sup>75</sup>.

Ihr Vorkommen wird lediglich durch Nährstoffmangel, Anwesenheit von Hemmsubstanzen oder konkurrierenden Arten sowie durch ungeeignete physikalische Bedingungen begrenzt. Dabei ist zu

<sup>74</sup> Hängt von der Menge Sauerstoff ab.

<sup>75</sup> Der Einsatz von anorganischem Dünger erhöht den Pilzgehalt, REISS, 1998, S.36



beachten, dass nicht alle Schimmelpilze unter gleichen Bedingungen wachsen: Es gibt wärmeliebe (verschiedene *Aspergillus*-Arten), aber auch solche, die mittlere Temperaturen für ihr Wachstum bevorzugen (*Penicillium*-, *Fusarium*-Arten).

Die Verbreitung der Pilzsporen geschieht durch den Wind (zu 98%). Die Sporen können so über Distanzen von 100 und mehr Kilometern verfrachtet werden. Manchmal erfolgt die Sporenfreisetzung aktiv durch einen Schleudermechanismus, wie bei einigen Ascomyceten. So können die Sporen über eine Entfernung von wenigen Millimetern bis zu einem halben Meter weit weggeschleudert werden. Auslösende Faktoren für das Wegschleudern sind Feuchtigkeitsgehalt, Belichtungsänderungen, Luftbewegungen, Erschütterungen, Berührung oder Temperaturwechsel<sup>76</sup>. Jede Umgebungsluft (Innen- wie Aussenluft) enthält Sporen verschiedener Schimmelpilzarten. Die Sporenkonzentration ist jedoch abhängig vom Ort, Höhe, Tages- und Jahreszeit und den Klimabedingungen.

### 3.1.4. Lebensbedingungen

Wesentlich für die Erkennung und Untersuchung von Materialschäden an Kulturgütern und für den Materialschutz ist die Kenntnis der Bedingungen, unter denen sich Schimmelpilze vermehren, im Ruhezustand verharren oder aber nicht lebensfähig sind<sup>77</sup>. Die wichtigsten Parameter, die das Pilzwachstum beeinflussen, werden nachfolgend erläutert.

#### Wasser, Wasseraktivität

Die Entwicklungsfähigkeit der Pilze wird massgeblich durch den Feuchtigkeitsgehalt des Substrates bestimmt<sup>78</sup>. Die Feuchtigkeit in Objekten ist Grundvoraussetzung für das Wachstum von Mikroorganismen<sup>79</sup>. Dieser Tatsache trägt die Bestimmung der Wasseraktivität ( $a_w$ ) eines Materials Rechnung. Das heisst, dass oberhalb eines bestimmten Wasseraktivitätswertes Mikroorganismen leben können<sup>80</sup>. Die genaue Berechnung der Wasseraktivität von Holz ist in Kapitel 4.4.2, Holzfeuchtigkeit, S.26 nachzulesen.

Für wasserfreie Stoffe gilt  $a_w = 0$ ,  $a_w = 1$  für reines Wasser. Da die Wasseraktivität temperaturabhängig ist, muss stets die Bezugstemperatur angegeben werden.

Verfügbares Wasser enthält immer anorganische und organische Inhaltsstoffe, welche für die Schimmelpilze als Nährstoffe dienen können<sup>81</sup>. Bezüglich ihrer Ansprüche an die Wasseraktivität liegen die Schimmelpilze zwischen den Bakterien und einigen spezialisierten Hefen. Während die meisten Bakterien einen  $a_w$ -Wert von mindestens 0.95 benötigen, und einzelne Hefen noch bei einer  $a_w$  von 0.65 gedeihen, haben die meisten

---

<sup>76</sup> GUBLER, 1990, S.2

<sup>77</sup> DECHEMA, 1989, S.15

<sup>78</sup> SUTTER, 2002, S.32

<sup>79</sup> RASCHLE, 1982, S.4

<sup>80</sup> RASCHLE, 1982, S.7

<sup>81</sup> DECHEMA, 1989, S.16



Schimmelpilze ihr  $a_w$ -Minimum um 0.80 bis 0.85. Mathematische Berechnungen zeigen, dass ein Pilzwachstum in Medien mit einer Wasseraktivität von 0.65 und darunter sehr unwahrscheinlich ist<sup>82</sup>.

Beispiele für optimale  $a_w$ -Werte für Myzelwachstum einzelner Schimmelpilze nach REISS (1986)<sup>83</sup>:

- *Aspergillus niger* 0.88-0.89
- *Aspergillus versicolor* 0.75
- *Paecilomyces variotii* 0.84

### Temperatur

Schimmelpilze treffen während ihres Wachstums im Boden, auf Lebensmitteln oder auf organischen Materialien oft schwankende Temperaturen an. Sie können sich nur durchsetzen, wenn sie in einem weiten Temperaturbereich gedeihen können<sup>84</sup>. Die Mehrzahl der Schimmelpilze vermehrt sich optimal bei Temperaturen von 20°C bis 42°C (mesophile und thermotolerante). Es gibt aber auch Pilze, die sich bei einer Temperatur von mehr als 44°C vermehren können (thermophile)<sup>85</sup>.

### pH-Wert des Substrates

Der optimale pH-Bereich des Substrates für Schimmelpilze liegt bei 4.5 bis 6.5, also im leicht sauren Milieu. Die maximalen Werte liegen in etwa bei 8, die minimalen bei 2. Dabei gilt es zu beachten, dass Schimmelpilze aufgrund von Stoffwechselprodukten den pH-Wert eines Substrates beeinflussen können<sup>86</sup>. Bei diesen Stoffwechselprodukten handelt es sich um organische Säuren wie zum Beispiel Zitronensäure<sup>87</sup>.

### Licht

Das Wachstum der Schimmelpilze wird in den meisten Fällen durch die Art und Intensität der Beleuchtung nicht beeinflusst. Bei einigen Gattungen (*Aspergillus* und *Alternaria*) ist jedoch zu beobachten, dass die Bildung von Konidien durch Licht angeregt wird; andererseits kann Dunkelheit die Produktion der geschlechtlich gebildeten Ascosporen fördern<sup>88</sup>. FLORIAN (2002) weist darauf hin, dass die Rolle des Lichts noch nicht klar erforscht ist. In einigen Experimenten sei es als wachstumshemmend, in anderen als wachstumsfördernd beschrieben worden. Zudem wird UV-Licht in Laboratorien als Sterilisierungsmittel von

---

<sup>82</sup> REISS, 1986, S.35

<sup>83</sup> REISS, 1986, S.36ff

<sup>84</sup> REISS, 1986, S.33

<sup>85</sup> DECHEMA, 1989, S.18ff

<sup>86</sup> REISS, 1986, S.41

<sup>87</sup> FLORIAN, 2002, S.60

<sup>88</sup> REISS, 1986, S.42



Kammern genutzt. Die Bildung von Pigmenten, Melanin und Karotinoiden in den Hyphen und Konidien von *Penicillium* dienen dem Pilz als UV-Schutz<sup>89</sup>.

### Nährstoffe

Zur Entwicklung von Schimmelpilzen braucht es in erster Linie Wasser, organische Kohlenstoffquellen, mineralische Salze in Form von Phosphat, Sulfat, Nitrat und Spurenelementen wie Eisen, Kupfer, Mangan und Zink. Es gibt einfache Kohlenstoffquellen wie Glukose, die von allen Pilzen genutzt werden. Dann existieren weit komplexere Kohlenstoffquellen wie Zellulose, Lignin und Proteine, welche von einzelnen spezialisierten Gattungen abgebaut werden. Das heisst, dass Pilze, welche ausschliesslich von einer einfachen Kohlenstoffquelle profitieren, das Material weitgehend weniger abbauen, als jene, welche durch den Abbau von Zellulose etc. die Materialstruktur zerstören<sup>90</sup>. Schimmelpilze und Bläuepilze ernähren sich vorwiegend von den Hemizellulosen des Zellsaftes, während Moderfäule- und Braunfäulepilze die Holzzellulose abbauen. Weissfäulepilze hingegen bevorzugen das Lignin als Nahrungsquelle<sup>91</sup>.

### **3.2. Schimmelpilze – ein Gesundheitsrisiko?**

Pilzsporen sind nicht nur Keime für neues Pilzwachstum, sie sind auch gesundheitsgefährdend. Massnahmen gegen Pilzbewuchs auf Kulturgütern sind darum nicht nur eine Massnahme gegen ästhetische Mängel, sondern müssen heute aus Gründen der Gesundheitsvorsorge verlangt werden<sup>92</sup>.

Dabei sollte darauf geachtet werden, dass Personen mit Asthma oder Allergien nicht in einem Projekt zur Bekämpfung von Schimmelpilzen arbeiten<sup>93</sup>. Denn Sporen der Schimmelpilze gehören zu den wichtigsten Innenraumallergenen überhaupt. Es gibt Gattungen, die öfters zu Allergien führen als andere: *Stachybotrys atra*, *Aspergillus spp*; *Penicillium spp*; *Trichoderma* und *Paecilomyces* können beispielsweise sehr potente Giftstoffe produzieren, die hauptsächlich in den Sporen enthalten sind. Daher ist eine Identifikation der in Depots gefundenen Pilze wichtig.

Als typische Erkrankungen beziehungsweise körperliche Reaktionen sind folgende zu nennen: Erkrankung der oberen und unteren Atemwege, Bronchitis, Atemnot, Husten, Fieber, Reizerscheinungen der Augen, Reizungen der Haut (Neurodermitis), erhöhte Infektanfälligkeit, chronischer Erschöpfungszustand, Konzentrationsstörungen, Muskelschmerzen, Magen-Darm-Beschwerden und Allergien. Diese Gesundheitsgefahren lassen sich als Allergien (Mykoallergosen), Intoxikationen (Mykotoxikosen) und Infektionen (Mykosen) zusammenfassen. Oftmals kann eine Schimmelpilzallergie nicht sofort diagnostiziert werden, da es erst für einige wenige Schimmelpilze Extrakte für die Allergietests gibt. Zwar sind viele Arten

---

<sup>89</sup> FLORIAN, 2002, S.60ff

<sup>90</sup> ROQUEBERT, 2002, S.76

<sup>91</sup> SUTTER, 2002, S.34

<sup>92</sup> RASCHLE, internes Dokument, 2006, S.1

<sup>93</sup> FLORIAN, 1997, S.115



ungefährlich für einen gesunden Menschen, einige Arten sind aber durchaus in der Lage, auch ihn zu infizieren. Diese unterschiedlichen Infektionspotentiale gehen auf charakteristische Besonderheiten der einzelnen Arten und deren Stoffwechselleistungen zurück. Die Schimmelpilze werden in vier Risikogruppen eingeteilt, wobei Risikogruppe 1 die „unwahrscheinlichen“ krankheitserregenden Pilze beinhaltet und Risikogruppe 4 jene Pilze, welche eine schwere Krankheit beim Menschen hervorrufen können. Zurzeit existieren international noch keine gültigen Grenzwerte für Schimmelpilzsporenkonzentrationen in der Raumluft. Verschiedene Autoren und Institutionen schlagen jedoch Richtwerte vor, die sie auf der Basis von Erfahrungswerten bestimmt haben<sup>94</sup>.

Ebenfalls wichtig ist ein so genannter Krisenplan für jedes Museum, sollte es zu einer Kontaminierung der Kulturgüter kommen. Der genaue Ablauf der Behandlung von Objekten sollte beschrieben sein, ebenso das Verhalten der betroffenen Arbeitskräfte. Es muss immer mit Handschuhen (Vinyl oder Latex) und Staubmaske (beispielsweise der Klasse FFP 3D EN 149, 2001) gearbeitet werden, damit die Sporen weder eingeatmet, noch weiter transportiert werden können.

Wichtig ist festzuhalten, dass die Schimmelpilze oftmals ein grösseres Risiko für den Menschen darstellen als für das Kulturgut. Abhängig einer Erkrankung für den Menschen durch Schimmelpilze sind die Konzentrationen der Schimmelpilzsporen sowie die Dauer der Exposition. Dennoch sollte im Falle einer Kontamination nicht mit Hysterie oder gar Panik reagiert werden, sondern mit einer gesunden Einschätzung des Problems für Mensch und Kulturgut, und die entsprechenden Massnahmen sollten ergriffen werden. Weitere Informationen können aus [www.schimmel-Schimmelpilze.de](http://www.schimmel-Schimmelpilze.de) entnommen werden.

---

<sup>94</sup> Entnommen aus: [www.schimmel-Schimmelpilze.de](http://www.schimmel-Schimmelpilze.de) am 19.07.2006



## 4. Holz

### 4.1. Allgemeine Einführung

Unter Holz versteht man den von Rinde umgebenen Teil von Bäumen und Sträuchern. Zwischen dem Holzteil (Xylem) und der Rinde liegt das Kambium. Es ist eine nur wenige Zellen dicke Schicht teilungsfähigen Gewebes, die für das Dickenwachstum der Pflanzen verantwortlich ist. Das Kambium bildet nach innen den Holzteil, nach aussen den Siebteil (Phloem oder Bast). Der Siebteil und die äusserste Schicht, die Borke, bilden zusammen die Rinde. Die wichtigsten Holzpflanzen sind Nadel- und Laubbäume.

Holz ist kein homogenes Material, weder vom anatomischen noch vom chemischen Standpunkt her betrachtet. Ein wichtiges Zeichen dafür sind die Jahrringe. Ihre Bildung hängt mit der jahreszeitlich bedingten Wachstumsphase des Kambiums zusammen: Im Frühjahr, zu Beginn der Vegetationsperiode, wenn der Bedarf an Wasser und Nährstoffen besonders gross ist, werden weiltumige, dünnwandige Holzzellen, das Frühholz, gebildet. Entsprechend entstehen im Sommer und gegen Ende der Vegetationsperiode englumigere, dickwandigere Zellen. Durch diesen Wechsel von weit- und englumigen Zellen entsteht in unserem Klima die typische Jahrringstruktur, an der sich das Alter des Baumes mittels der Dendrochronologie, aber auch die klimatischen Bedingungen und Umwelteinflüsse ablesen lassen<sup>95</sup>.

Die Ausbildung der Jahrringe ist nicht bei allen Holzarten gleich ausgeprägt. Nadelhölzer und ringporige Laubhölzer weisen im Allgemeinen gut sichtbare Jahrringe auf, während bei den zerstreutporigen Laubhölzern die Jahrringstruktur weniger deutlich hervortritt.

Ein weiteres Unterscheidungsmerkmal des Holzes sind Splint und Kern. Die Innenzone eines Holzes wird als Kern bezeichnet, in dessen Zentrum sich das Mark befindet. Die äussere Zone wird Splintholzzone genannt. Während das Splintholz die Funktion der Wasserleitung und Speicherung von Stoffwechselprodukten hat, ist das Kernholz ohne Bedeutung für den Stoffwechsel des Baumes. Der Wassergehalt des Kernholzes ist folglich bedeutend geringer als der des Splintholzes. Durch die Einlagerung von Kernstoffen verändern sich auch die physikalischen und mechanischen Eigenschaften des Kernholzes am lebenden Baum. So sind Rohdichte und Festigkeit deutlich erhöht, und das Schwind- und Quellverhalten weniger stark ausgeprägt als im Splintholz. Im Allgemeinen ist auch die Anfälligkeit für Pilz- und Insektenbefall merklich kleiner – verschiedene Holzarten lagern sogar fungizide und insektizide Wirkstoffe im Kernholz ein<sup>96</sup>. Kernholz hat im Gegensatz zum Splintholz keine lebenden Zellen mehr. Es ist trockener, härter, schwerer, wertvoller und dauerhafter<sup>97</sup>.

Kern- und Splintholz sind bei manchen Bäumen auch farblich zu unterscheiden. Die Föhre beispielsweise besitzt eine dunkle Kernzone und eine helle Splintzone.

---

<sup>95</sup> SUTTER, 2002, S.13

<sup>96</sup> SUTTER, 2002, S.14

<sup>97</sup> KEMPE, 2004, S.36



Vergleicht man nun den Querschnitt von Nadel- und Laubhölzern, ist auffallend, dass letztere Poren besitzen. Der Querschnitt verschiedener Nadelhölzer weist Harzkanäle auf<sup>98</sup>.

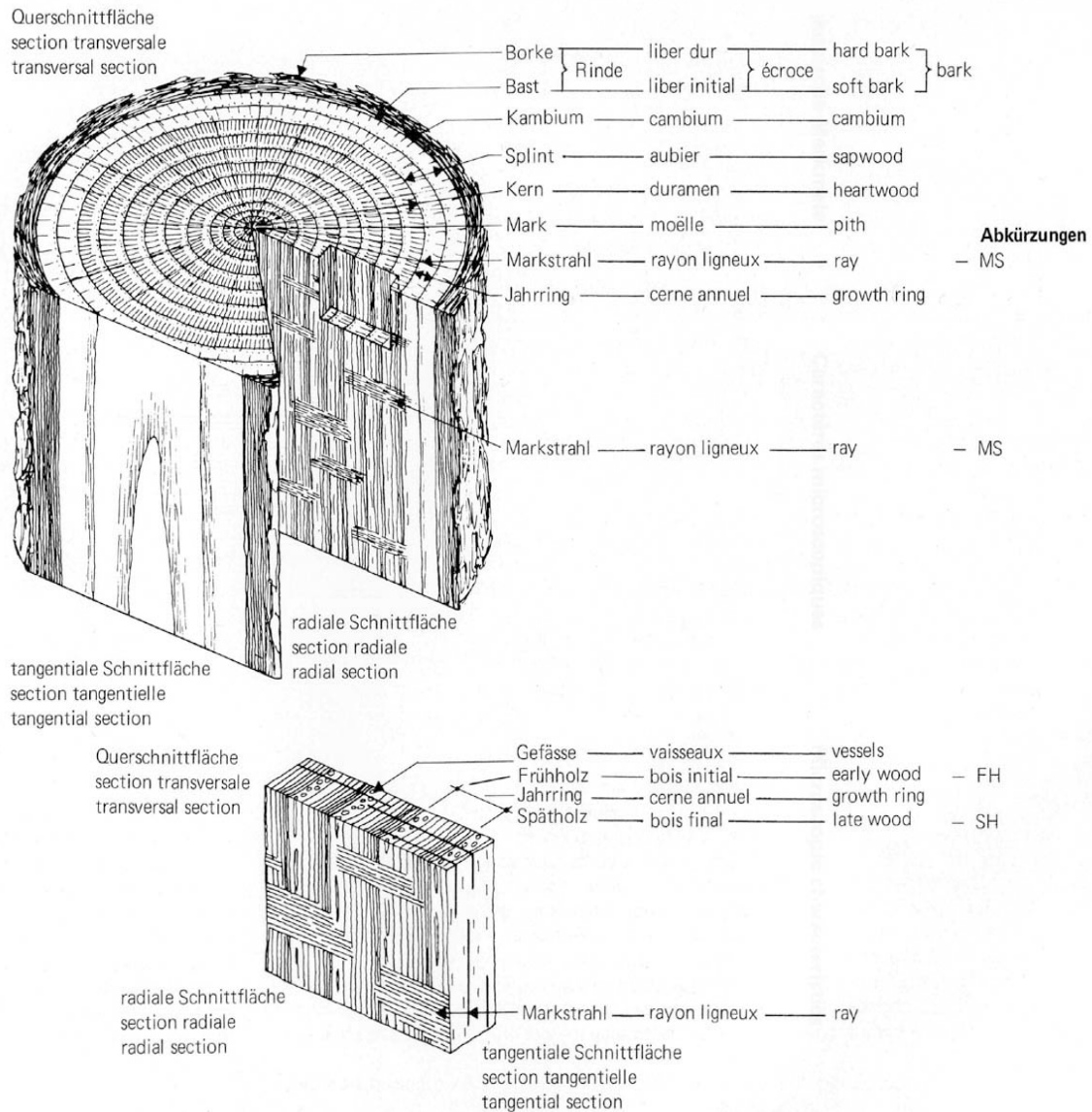


Abb. 10. Makroskopische Merkmale von Holz nach SCHWEINGRUBER (1990)

<sup>98</sup> SUTTER, 2002, S.14



#### 4.2. Der mikroskopische Aufbau der Nadel- und Laubhölzer

Der Aufbau des Holzkörpers der Nadelhölzer ist relativ einfach aufgebaut. Entsprechend ihrer Entstehung sind die parallel zur Stammachse verlaufenden Zellen, die Tracheiden, in radialen Reihen angeordnet. Die weitlumigen, dünnwandigen Tracheiden des Frühholzes dienen vorwiegend der Wasserleitung. Besonders auf ihren radialen Wänden finden sich Hoftüpfel. Sie sind einem Druckventil ähnlich aufgebaut, im Zentrum der Tüpfelöffnung (Porus) ist eine linsenförmig verdickte Platte (Torus) an Haltefäden zwischen den Wänden zweier benachbarter Tracheiden aufgehängt<sup>99</sup>. Die Tüpfel haben die Funktion von Ventilen und erleichtern den Wasseraustausch in radialer Richtung<sup>100</sup>. Im Sommer wird das Spätholz gebildet, zunehmend abgeflachte, dickwandige Tracheiden, die dem Holz die Festigkeit verleihen.

In radialer Richtung finden sich zwischen den Tracheiden Holz- oder Markstrahlen. Da diese über den Holzkörper hinaus in die Bastchicht reichen, führen sie von da die in der Krone gebildeten Assimilate in den Holzkörper und erfüllen die Funktion von Speichergewebe (Leit- und Speicherparenchym). In einigen Nadelhölzern (z.B. *Pinus* sp., *Picea* sp.) begleiten Markstrahltracheiden die Markstrahlzellen, in anderen fehlen sie (z. B. *Taxus* sp., *Abies* sp.), ebenso können Harzkanäle vorhanden sein oder fehlen. Für die anatomische Bestimmung der Nadelholzarten ist Anwesenheit oder das Fehlen von Harzkanälen, von Markstrahltracheiden, sowie die Arte der in den Markstrahlzellen vorhandenen Tüpfel wichtige diagnostische Merkmale.

Im Vergleich zu den entwicklungsgeschichtlich älteren Nadelhölzern sind Laubhölzer bedeutend komplizierter aufgebaut. Parenchymzellen, Holzfasern, Tracheiden und Tracheen können nach ihrem Entstehen noch wesentlich in die Länge und Breite wachsen, daher ist die ursprüngliche radiale Anordnung erheblich verzerrt. Die Funktionen Wasserleitung und Festigung werden in zunehmendem Masse speziellen Elementen übertragen. Libriformfasern und Fasertracheiden verlaufen in axialer Richtung, dienen der Holzfestigkeit und machen die Hauptmenge der Holzzellen aus und beeinflussen dadurch Dichte, Festigkeit und Quellvermögen in wesentlichem Masse<sup>101</sup>. Die je nach Baumart mehrheitlich oder allein für den Wassertransport verantwortlichen Gefässe (Tracheen) sind auf dem Stammquerschnitt teilweise schon mit bloßem Auge erkennbar<sup>102</sup>. Die Gefässe können dickwandig sein, dünnwandige sind oft durch Schraubenverdickungen verstärkt. Auf den Gefässwänden finden sich Tüpfel, die je nach Art in Grösse und Form sehr unterschiedlich ausgebildet sind. Die Gefässe erfüllen ihre Funktion als Wasserleitungen von der Wurzel bis in die Zweige nur kurze Zeit, dann werden sie stillgelegt, indem Luft eindringt, oder bei einigen Arten werden sie aktiv verstopft, zum Beispiel durch die Bildung von Thyllen: Lebende Parenchymzellen stülpen durch die Schliesshäute ihrer Tüpfel gebildete blasenartige Auswüchse in das Gefäss und füllen dessen Lumen aus. Neben dem axial verlaufenden Holzparenchym, das teilweise einerseits dem

---

<sup>99</sup> SUTTER, 2002, S.15

<sup>100</sup> KEMPE, 2004, S.34

<sup>101</sup> Die Fasertracheiden sind faserartige Zellen, deren Ende nicht durchbrochen ist. Die Zellwände sind dick und mit Hoftüpfeln besetzt. SUTTER, 2002, S.18

<sup>102</sup> SUTTER, 2002, S.16



Stofftransport, andererseits als Speicherzellen dient, kommen auch in den Laubhölzern die Markstrahlen vor, deren Zellen hier aber ausschliesslich parenchymatisch sind.

#### 4.3. Chemie des Holzes

Nach SUTTER (2002) sind Zellulose, Polyosen und Lignin die anteilmässig wichtigsten chemischen Bestandteile des Holzes. Sie bilden zusammen etwa 97% der Holzsubstanz. Den Rest machen verschiedene chemische Verbindungen wie Stärke, Harze, Wachse, Fette, Pektine, Farbstoffe, Proteine und Mineralien aus<sup>103</sup>.

Tab. 4. Verteilung der Stoffklassen im Holz nach Mengen in %

	Verteilung der Stoffklassen nach Menge
Zellulose	40-50%
Polyosen	15-35%
Lignin	20-35%
Sonstige	1-4%

##### 4.3.1. Zellulose

Zellulose ist das Gerüst des Holzes. Sie ist der Hauptbestandteil von pflanzlichen Zellwänden und besteht aus Zuckermolekülen (Glukose), die zu langen Ketten polymerisiert sind. Solche Ketten enthalten bis zu 14'000 Glukosemoleküle, die sehr fest und dauerhaft miteinander verbunden sind<sup>104</sup>. Die Holzzellulose ist Grundlage der Zug- und Biegefestigkeit des Holzes<sup>105</sup>.

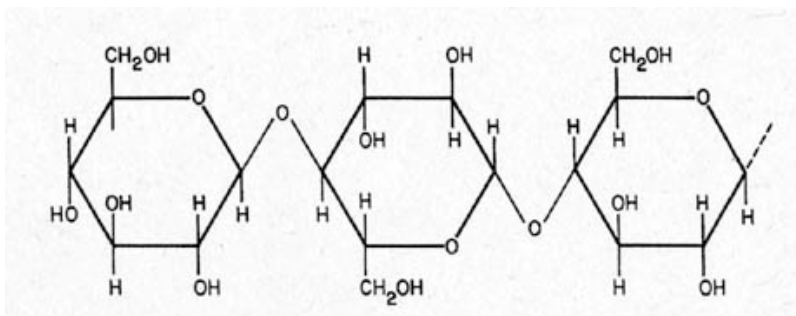


Abb. 11. Die Zellulosestruktur nach ALLSOPP (1986)

<sup>103</sup> SUTTER, 2002, S.22

<sup>104</sup> SUTTER, 2002, S.22



#### 4.3.2. Polyosen (Hemizellulosen)

Polyosen sind ebenfalls Polymerisate, sie haben aber einen weniger hohen Polymerisationsgrad, sprich kürzere Ketten. Ihre Bausteine sind ebenfalls Kohlenhydrate, aber nicht Glukosemoleküle, sondern andere Zuckerarten (z.B. Mannan, Xylan). Ihnen verwandt sind die Pektine, die aus polymerisierten Galakturonsäurederivaten bestehen<sup>106</sup>.

#### 4.3.3. Lignin

Lignin ist der Kitt, der die einzelnen Zellulosefasern zusammenhält. Die Lignine sind chemisch sehr komplex aufgebaut. Sie bestehen aus polymeren Verbindungen mit aromatischem Grundkörper (z.B. Coniferylalkohol)<sup>107</sup>.

Lignin bewirkt zudem die Druckfestigkeit des Holzes. Wenn durch Pilze überwiegend Zellulose herausgelöst wird, verursacht das verbleibende Lignin eine zunehmende Braunfärbung des Holzes<sup>108</sup>.

### 4.4. Physikalische Eigenschaften des Holzes

Der mikroskopische Aufbau und die chemische Zusammensetzung des Holzes sind die Ursachen für seine typischen Eigenschaften wie Rohdichte, Feuchtigkeitsbewegung, Schwinden, Quellen und Festigkeit<sup>109</sup>.

#### 4.4.1. Holzdichte

Die Holzdichte gibt Auskunft über das Verhältnis der Holzmasse zu seinem Volumen (gemessen bei einer bestimmten Holzfeuchtigkeit oder im darrtrockenen Zustand). Da Holz ein poröser Stoff ist, unterscheidet man zwischen der Rohdichte (einschliesslich Porenraum) und der Reindichte (ohne Porenraum) des Holzes. Während die Reindichte der Holzarten nur innerhalb enger Grenzen schwankt, weisen die Rohdichten der verschiedenen Holzarten beachtliche Unterschiede auf<sup>110</sup>. Die Angabe des Wassergehaltes verbunden mit der Holzdichte ist notwendig, da dieser den Dichtewert stark beeinflusst.

#### 4.4.2. Holzfeuchtigkeit

Die Holzfeuchtigkeit ist ein für Bearbeitung, Lagerung und Einbau von Holz wichtiger Faktor. Sie wird durch den freien Wasseranteil in Hohlräumen und in Fasern (Zellwandsubstanz) bestimmt. Berechnet wird sie als

---

<sup>105</sup> KEMPE, 2004, S.36

<sup>106</sup> SUTTER, 2002, S.22

<sup>107</sup> SUTTER, 2002, S.22

<sup>108</sup> KEMPE, 2004, S.36

<sup>109</sup> GRAF *et al.*, 1982, S.4

<sup>110</sup> SUTTER, 2002, S.22



prozentualer Anteil freien Wassers bezogen auf das Darrgewicht des Holzes (=100%)<sup>111</sup>. Die Formel lautet also wie folgt<sup>112</sup>:

$$\% w = G_w - G_o / G_o \times 100$$

%w: Wassergehalt in Prozent

G<sub>w</sub>: Gewicht bei einem Wassergehalt w

G<sub>o</sub>: Gewicht im Darrzustand

Die Bestimmung des Wassergehaltes durch Darren und Differenzwägung ist am unbearbeiteten Holz problemlos, an verarbeitetem oder gefasstem Holz praktisch nicht möglich<sup>113</sup>. Dafür werden elektrische Messmethoden (z.B. Widerstandsmessung) angewendet, über welche in dieser Arbeit keine weiteren Erklärungen abgegeben werden.

In der Praxis werden drei Feuchtigkeitszustände des Holzes (mit Zwischenbereichen) unterschieden<sup>114</sup>:

- **Darrzustand:** Der Wassergehalt beträgt 0%; weder in den Hohlräumen noch in den Zellwänden ist Wasser vorhanden. Dieser Zustand kommt beispielsweise bei verbautem Holz nicht vor. Er ist jedoch als Bezugsgrösse sehr wichtig, da der Darrzustand einwandfrei reproduzierbar ist.
- **Fasersättigung:** In den Hohlräumen befindet sich kein freies Wasser; die Holzsubstanz (Faser) ist gesättigt. Unterhalb dieser Wassergehaltsgrenze, dem Fasersättigungspunkt, beginnt das „Arbeiten“ des Holzes. Je nach Holzart liegt der Fasersättigungspunkt bei einem Wassergehalt zwischen 40% und 22%, im Mittel etwa bei 30%.
- **Wassersättigung:** Alle Hohlräume in und zwischen den Zellwänden sind mit freiem Wasser gefüllt; die Fasern sind gesättigt. Der Wassergehalt ist abhängig vom Porenvolumen. Das Splintholz von stehenden Nadelbäumen kann nahezu wassergesättigt sein. Bei langer Lagerung von Holz unter Wasser kann der Zustand der Wassersättigung ebenfalls erreicht werden.

Für die Praxis ist der Bereich zwischen Darrzustand und Fasersättigung entscheidend, da hier das Quellen und Schwinden des Holzes stattfinden<sup>115</sup>. Wird ein Holzobjekt aus einer trockenen Umgebungsluft in

---

<sup>111</sup> GRAF *et al.*, 1982, S.5

<sup>112</sup> SUTTER, 2002, S.23

<sup>113</sup> SUTTER, 2002, S.23

<sup>114</sup> SUTTER, 2002, S.24



feuchtere Luft (und umgekehrt) gebracht, so verändert sich die Holzfeuchtigkeit, bis sie wieder einen konstanten Wert (Gleichgewichtsfeuchtigkeit) erreicht hat. Mit ansteigender Luftfeuchtigkeit nimmt auch die Gleichgewichtsfeuchte des Holzes zu, bis der Zustand der Fasersättigung erreicht ist<sup>116</sup>.

### 4.4.3. Schwinden und Quellen

Das Schwinden und Quellen ist eine typische Eigenschaft des toten Holzes<sup>117</sup>. Die Aufnahme von Wasser aus der Luft (Hygroskopizität) führt zu einem Feuchtigkeitsgehalt des Holzes zwischen 0% (dartr trocken) und etwa 30% (Fasersättigung). Bei Aufnahme von Wasser quellen die Zellulosefasern, da sich die Wassermoleküle an die Fasermiszellen (in den Zellwänden) anlagern und deren Volumen vergrössern<sup>118</sup>. Durch die unterschiedliche Zellorientierung des Holzes – Anisotropie – sind auch die Quell- und Schwindmasse, je nach Richtung, sehr unterschiedlich<sup>119</sup>. Die Dimensionsveränderungen des Holzes beim Quellen oder Schwinden verlaufen in den drei Schnittebenen (längs, radial und tangential) uneinheitlich stark, aber bis zu einem Wassergehalt von etwas 30% linear. Die grösste Veränderung erfährt das Holz in tangentialer Richtung, die kleinste in Längsrichtung. Durch die Veränderung der Holzmasse resultiert eine beachtliche Zunahme des Volumens des Holzkörpers mit zunehmendem Wassergehalt. Als allgemeine Regel gilt: Die Schwindbewegung erfolgt im Splint vom Kern weg, die Quellbewegung zum Kern hin<sup>120</sup>. Risse in Holz und Fassungen können entstehen, wenn schnelle und grosse Änderungen der Luftfeuchtigkeit und/oder Temperatur stattfinden<sup>121</sup>.

---

<sup>115</sup> SUTTER, 2002, S.23

<sup>116</sup> SUTTER, 2002, S.23

<sup>117</sup> GRAF *et al.*, 1982, S.6

<sup>118</sup> SUTTER, 2002, S.25

<sup>119</sup> KEMPE, 2004, S.41

<sup>120</sup> SUTTER, 2002, S.26

<sup>121</sup> SUTTER, 2002, S.27



## 5. Zersetzung von Holz durch Pilze

Es gibt zwei verschiedene Betrachtungsweisen der Material abbauenden Tätigkeit der Pilze. Dafür gibt es zwei Begriffe<sup>122</sup>:

- *Biodeterioration*: unerwünschte Änderung der Eigenschaften eines Materials, die durch die Lebenstätigkeit von Organismen hervorgerufen werden
- *Biodegradation*: erwünschter Abbau von Materialien

Der Pilzstoffwechsel wird aktiviert, sobald die Schimmelsporen auf geeignetes organisches Nährsubstrat und günstige Keimbedingungen treffen. Auskeimende Sporen bilden Vegetationskörper, die in das von ihnen besiedelte Material eindringen. Für ihr Wachstum entziehen die Schimmelpilze diesem mittels Enzymen organisch gebundenen Kohlenstoff und schädigen hiermit das Objekt<sup>123</sup>.

### 5.1. Einteilung der Pilze nach ihrem Schadensbild

Ungeachtet ihrer Stellung im System der Pilze können zwei Hauptgruppen unterschieden werden, nämlich die holzverfärbenden und die holzerstörenden Pilze. Erstere stellen primär ein ästhetisches Problem dar, während die holzerstörenden Pilze einen grossen Verlust an Holzsubstanz und Holzfestigkeit bewirken.

Tab. 5. Genaue Einteilung der Pilze nach ihrem Schadensbild auf Holz

Einteilung der Pilze nach ihrem Schadensbild		
Holzbewohnende Pilze	Holzverfärbende Pilze	Schimmelpilze (Ascomyceten, Fungi Imperfecti)
		Bläuepilze (Ascomyceten, Fungi Imperfecti)
	Holzerstörende Pilze	Moderfäulepilze (Ascomyceten, Fungi Imperfecti)
		Braunfäulepilze (Basidiomyceten)
		Weissfäulepilze (Basidiomyceten)

---

<sup>122</sup> REISS, 1986, S.155

<sup>123</sup> Arbeitsgruppe Schimmel und Mikroorganismen (örv), Schimmel Gefahr für Mensch und Kulturgut, entnommen aus: [www.orv.at](http://www.orv.at), 07.04.2006, S.1



### 5.1.1. Holzverfärbende Pilze

Bei den holzverfärbenden Pilzen handelt es sich um Ascomyceten oder Fungi imperfecti. Der Unterschied zwischen Bläuepilz und "Schimmelpilz" beruht nicht auf taxonomischen Kriterien, sondern auf morphologischen Merkmalen. Wie bereits erwähnt, wachsen Schimmelpilze auf der Oberfläche des Substrats, ohne nennenswert einzudringen. Ihre Präsenz zeigt sich meist durch eine Verfärbung der Oberfläche. Diese Verfärbungen können schwarz, braun, grün, rot oder gelb sein. Der Grund, weshalb diese Verfärbungen ausschliesslich auf der Oberfläche entstehen ist, dass die Pigmentbildung hauptsächlich in den Konidien erfolgt, welche im Luftmyzel gebildet werden, während die Hyphen nicht oder nur leicht gefärbt sind<sup>124</sup>. Zusätzlich können jedoch noch Farbstoffe, welche vom Pilz abgesondert werden, in das Holz eindringen und es verfärben. Schimmelpilzbefallenes Holz besitzt allerdings einen Feuchtigkeitszustand, der auch das Wachstum anderer, gefährlicherer Pilze erlaubt. *„Das Temperaturoptimum der meisten Schimmelpilzarten an Holz liegt zwischen 24° und 28° C, wobei beachtliche Abweichungen nach unten und oben möglich sind. Der Feuchtigkeitsgehalt des Holzes, bei dem Schimmelwachstum möglich ist, liegt zwischen 30 und 150%“*<sup>125</sup>. Durch Verschimmelung allein erfolgt meist keine Zerstörung des Holzes. Da aber zum Teil die gleichen Pilze auch zu Moderfäule führen können, kann man keine klaren Grenzen zwischen den Befalltypen ziehen, viel mehr sind die Übergänge fließend. Flecken und Einfluss auf Farben, Firnisse etc. durch Schimmelpilze sind jedoch gravierende Einwirkungen für Kunstobjekte<sup>126</sup>.

Bläuepilze wachsen im Gegensatz zu den Schimmelpilzen in den Holzzellen (knapp unter der Substratoberfläche), wo sie durch die dunkle Eigenfärbung ihrer Hyphen dem Holz eine schwärzliche bis bläuliche Farbe verleihen. Es werden zwei Arten der Bläue unterschieden: die Primärbläue und die Anstrichbläue oder auch Tertiärbläue genannt. Erstere ist die Verblauung des saftfrischen Holzes, welche zum einen bereits an einem geschwächten lebenden Baum und zum anderen an eingesägtem Holz auftreten kann. Die Sekundärbläue entsteht an jenem Holz, welches nach der Trocknung wieder einen bestimmten Feuchtigkeitsgehalt erreicht hat. Obwohl Bläuepilze keine ernsthaften Schäden am Holz anrichten, sind sie bedeutende Zerstörer von lackierten oder bemalten Holzoberflächen. Starker Bläuebefall kann bis zur vollständigen Zerstörung der Fassung führen<sup>127</sup>.

Holzverfärbende Pilze bauen ausschliesslich die Zellinhalte ab und nicht die Zellen selbst. Sie führen also nicht zu Holzerfall, sondern nur zu Holzverfärbungen<sup>128</sup>.

### 5.1.2. Holzerstörende Pilze

Moderfäule nennt man den durch Mikropilze (Ascomyceten und Fungi imperfecti) hervorgerufenen Abbau des Holzes. Die Moderfäulepilze wachsen nicht nur in den Zellhohlräumen, sondern auch innerhalb der Zellwand – im Gegensatz zu den Schimmel- und Bläuepilzen. Im Verlaufe ihres Wachstums bauen sie die

---

<sup>124</sup> SUTTER, 2002, S.36

<sup>125</sup> SUTTER, 2002, S.36

<sup>126</sup> RASCHLE, 1982, S.17

<sup>127</sup> SUTTER, 2002, S.38

<sup>128</sup> SCHWEINGRUBER, 1990, S.192



Zellulose der Sekundärwände der Zelle ab, nur das Lignin bleibt übrig. Von Moderfäule betroffenes Holz erkennt man an seiner Weichheit, noch bevor eindeutige Zeichen einer Zerstörung von bloßem Auge sichtbar werden. Die idealen Verhältnisse für die Moderfäuleentwicklung sind im Erdboden und in der Erd-Luftzone zu finden. An hölzernen Gebäuden sowie weiteren Objekten, die dem Wetter und hoher Luftfeuchtigkeit ausgesetzt sind, kann Moderfäule auftreten. Laut SUTTER (2002) ist die Grenze zwischen Schimmel-, Bläue- und Moderfäulepilz taxonomisch nicht immer klar zu ziehen. Je nach gegebenen Umständen ist es möglich, dass eine Pilzart sowohl in der einen als auch in der anderen Form auftreten kann<sup>129</sup>.

Die Braunfäule ist die wichtigste Form der pilzbedingten Zerstörung von Holz im Innenbereich und wird von einer Anzahl Basidiomyceten hervorgerufen. Sie wachsen ausschliesslich in den Zellhohlräumen (Lumen, Markstrahlen und Harzkanälen), von welchen aus sie die Zellulose der Sekundärwand abbauen<sup>130</sup>. Dadurch entsteht die Braunfärbung des Holzes. Mittels Abbau der Zellulose verliert das Holz an Festigkeit und Gewicht. Es weist tiefgehende Risse auf, welche als Würfelbruch beschrieben werden, und erst in trockenem Zustand des Holzes gut sichtbar sind.

Die Weissfäule (auch Korrosionsfäule genannt) ist die zweite von Basidiomyceten hervorgerufene Fäulnisart. Im Unterschied zur Braunfäule bauen diese Pilze das Lignin des Holzes ab, die weisse, faserige Zellulose bleibt weitgehend erhalten<sup>131</sup>.

### 5.2. Bekämpfung der Schimmelpilze auf Holzobjekten

Die Bekämpfungsmethoden von Mikroorganismen werden in drei Kategorien eingeteilt<sup>132</sup>:

- *Sterilisation*: physikalischer Prozess: zum Beispiel mit feuchter Hitze (Autoklav), trockener Hitze (Ofen) oder mit Bestrahlung (Gammastrahlen); chemischer Prozess: Zum Beispiel mit Ethylenoxid oder Formaldehyd.
- *Desinfektion*: Wirkung je nach Produkt (auf chemischer Basis). Dosierung und Wirkung werden in der Anwendung bestimmt. Beispiele für instabile Produkte sind die Oxydationsmittel (schnelle Wirkung, aber nur von kurzer Dauer), für chemisch stabile Produkte Phenolderivate und quaternäre Ammoniumverbindungen (weniger schnell wirksam, aber dauerhaft).
- *Konservierung*: präventive Konservierung mit geeigneten Produkten (ausgewählt anhand von Testserien für das entsprechende Material) oder angepasstem Klima.

---

<sup>129</sup> SUTTER, 2002, S.40

<sup>130</sup> SUTTER, 2002, S.40

<sup>131</sup> SUTTER, 2002, S.42

<sup>132</sup> CREMIEUX, 2002, S.243



Jeglicher Materialschutz hat zum Ziel, ein Objekt über einen ausreichend langen Zeitraum unter den vorliegenden Bedingungen unverändert zu erhalten<sup>133</sup>. Hierzu müssen möglichst alle schädigenden oder zerstörenden Einflüsse ausgeschaltet werden. In den folgenden Kapiteln wird eine Vielzahl von physikalischen, chemischen und biologischen Bekämpfungsmethoden erklärt, und einzelne Produkte werden kurz angesprochen.

### 5.2.1. Physikalische Methoden

Es gibt verschiedene bereits geprüfte physikalische Verfahren gegen Pilzwachstum: UV-Strahlen, Gammastrahlen, Ultraschallsonden, Hitze, Kälte, Einsetzen von Membranfiltern etc.

*UV-Strahlen:* Sie gelten vor allem der Bekämpfung von Algen, Bakterien und Pilzen. Das keimtötende Strahlenspektrum liegt zwischen 200 bis 300 nm, mit einem Maximum an Aktivität zwischen 230 bis 275 nm. UV-Bestrahlung ist vor allem bei tiefer relativer Luftfeuchtigkeit (weniger als 50% bis 60%) effektiv. Allerdings dringen die Strahlen nicht weit in das Material ein und können ausserdem noch Veränderungen auf molekularer Basis hervorrufen (Zellulose, Proteine). Auch Farbveränderungen durch diese Methode sind bekannt<sup>134</sup>.

*Gammastrahlen:* Hierbei handelt es sich um eine elektromagnetische Bestrahlung. Sie richtet sich hauptsächlich gegen Insekten auf organischem Material (z.B. Papier, Pergament und Holz). Schimmelpilze sind weniger anfällig gegenüber dieser Behandlung. Sie können aber bei einer Dosis von 10 Kilo Grays (KGy) durchaus abgetötet werden. Zu den Vorteilen der Gammabestrahlung gehören: keine sekundäre Radioaktivität, Öl- und Temperamalereien werden nicht zerstört, und die Strahlen dringen komplett in das Objekt ein. Zudem können viele Objekte gleichzeitig behandelt werden<sup>135</sup>.

*Ultraschallsonden:* Sie werden vor allem für archäologische Objekte, feuchtes Holz sowie moderne Textilien verwendet. Diese Behandlungsmethode eignet sich nicht für antike Textilien<sup>136</sup>. Der Nachteil der Behandlung durch die Sonden ist, dass keine präventive Konservierung gewährleistet ist, und somit weitere Methoden angewendet werden müssen<sup>137</sup>.

*Hitze:* Dieses Verfahren kann im trockenen sowie im nassen Zustand durchgeführt werden. Es dient zur Desinfektion von organischem Material, zum Beispiel Büchern. Bei einer Temperatur von 95°C und 40% rLF

---

<sup>133</sup> DECHEMA, 1989, S.149

<sup>134</sup> CANEVA *et al.*, 1991, S.126

<sup>135</sup> CANEVA *et al.*, 1991, S.126

<sup>136</sup> CANEVA *et al.*, 1991, S.127

<sup>137</sup> ALLSOPP *et al.*, 1986, S.115



werden die Objekte während vier Stunden behandelt. Denn ab einer Temperatur von 40°C wird das Wachstum vieler Mikroorganismen reduziert<sup>138</sup>. Im Textilbereich oder bei polychromen Objekten empfiehlt sich diese Methode nicht<sup>139</sup>. Das Verfahren ist nicht zu verwechseln mit der Sterilisation, die bei einer Hitze von 121°C, während mindestens 15 Minuten und bei einem Druck von 1.05 kgf/cm<sup>2</sup> statt findet<sup>140</sup>.

*Einfrieren:* Eine weitere Methode, den Befall durch Mikroorganismen zu eliminieren, lautet, die Objekte bei -20°C einzufrieren. Dabei werden die Pilzsporen zwar nicht abgetötet, sie befinden sich aber in einem inaktiven Zustand. Laut ALLSOPP (1986) wird das Wachstum der Schimmelpilze erst gestoppt, wenn die Zellen des Materials gefroren sind<sup>141</sup>.

*Vakuum:* Die befallenen Objekte werden in ein Vakuum gestellt. Dieses bewirkt ein „Explodieren“ der Zellen des Materials, wie auch der Schädlinge.

*Partieller Wasserentzug:* Zu behandelnde Objekte können in luftdicht verschlossenen Behältern oder Säcken gelagert werden. Darin befindet sich zusätzlich ein Absorber. Dieser absorbiert das Wasser im Behälter, reduziert die Luftfeuchtigkeit und somit auch die Wasseraktivität im Objekt. Wie bereits bekannt, spielt die Luftfeuchtigkeit eine wesentliche Rolle für das Wachstum von Mikroorganismen (vgl. Kapitel 3.1.4. Lebensbedingungen, S.18)<sup>142</sup>. Mit diesem partiellen Wasserentzug kann der Bewuchs von Mikroorganismen verlangsamt werden. Zum Beispiel reduzieren Propylen-Glykol und Sorbitol die Wasseraktivität in Tabak oder Haustiernahrung und verlangsamen somit den möglichen Pilzbewuchs<sup>143</sup>.

*Membranfilter:* Diese Filter werden vor allem bei Nassobjekten eingesetzt. In einem geschlossenen Wasserkreislauf wirken sie als Barriere gegen Mikroorganismen. Die Porengrößen dieser Filter liegen bei 0.45 µm und 0.22 µm. Sie bewirken ein steriles Filtrieren und verhindern den Befall durch Bakterien und Pilze<sup>144</sup>.

---

<sup>138</sup> ALLSOPP *et al.*, 1986, S.114

<sup>139</sup> CANEVA *et al.*, 1991, S.126

<sup>140</sup> ALLSOPP *et al.*, 2004, S.204

<sup>141</sup> ALLSOPP *et al.*, 1986, S.114

<sup>142</sup> ALLSOPP *et al.*, 2004, S.205

<sup>143</sup> ALLSOPP *et al.*, 2004, S.207

<sup>144</sup> ALLSOPP *et al.*, 1986, S.115



### 5.2.2. Chemische Methoden

Konservierungsmittel sind chemische Substanzen oder Substanzgemische, die in geringer Konzentration Mikroorganismen abtöten oder sie in ihrer Entwicklung hemmen, aber eine gute Verträglichkeit mit dem zu schützenden Produkt zeigen müssen<sup>145</sup>.

Bei den antimikrobiell wirkenden Substanzen wird zwischen Mikrobiziden, welche Mikroorganismen abtöten, und Mikrobistatika, welche für Mikroorganismen eine wachstumshemmende Wirkung besitzen, unterschieden<sup>146</sup>. Ob eine Substanz mikrobizid oder mikrobistatisch wirkt, hängt unter vergleichbaren Bedingungen im Allgemeinen von der Anwendungskonzentration ab.

Mikrobizide unterscheiden sich mannigfaltig in ihren physikalischen und chemischen Eigenschaften, in ihren Effektivitäten und ihren Wirkungsspektren. Die Objekte hingegen bestehen aus einer Vielzahl von verschiedenen Materialien, welche unterschiedliche Anforderungen an die Behandlungssubstanzen stellen. Daran müssen die Mikrobizide mit ihren Eigenschaften angepasst sein. Zum anderen steht eine grosse Zahl verschiedener Mikrobenarten zum Angriff auf Materialien bereit<sup>147</sup>.

Um eine Substanz auf Kulturgütern als antimikrobiellen Wirkstoff benutzen zu können, muss sie folgende Kriterien erfüllen: gute antimykotische Wirksamkeit, chemische und physikalische Stabilität und damit verbunden eine hohe Dauerhaftigkeit der Behandlung sowie die toxikologische Unbedenklichkeit im Rahmen der Giftgesetzgebung<sup>148</sup>. Darüber hinaus gelten folgende Punkte: Das Holzschutzmittel darf keine Veränderung der Farbe oder der Struktur des ungefassten Holzes bewirken; es darf keine Lösungsmittel enthalten, die zu einem Quellen des Holzes führen können; es darf die Hygroskopizität des Holzes nicht erhöhen oder nachteilig verändern; Malschichten und ihre Grundierungen, Fassungen, Metallauflagen, Schutzüberzüge, Firnisse, Leimverbindungen und Kittungen dürfen vom Holzschutzmittel weder angelöst noch anderweitig verändert werden<sup>149</sup>. Als Lösemittel für den fungiziden Wirkstoff werden Wasser oder organische Lösemittel verwendet.

---

<sup>145</sup> Zitat WALLHAEUSER (1988) in DECHEMA, 1989, S.152

<sup>146</sup> PAULUS, 1993, S.1

<sup>147</sup> PAULUS, 1995, S.234

<sup>148</sup> In der Schweiz dürfen nur Holzschutzmittel eingesetzt werden, deren Wirksamkeit und Umweltverträglichkeit geprüft wurden und die über eine behördliche Zulassung verfügen. Über die Zulassung gibt das jährlich publizierte „Verzeichnis der bewilligten Holzschutzmittel“ des Bundesamts für Umwelt (Bafu) Auskunft.

<sup>149</sup> SUTTER, 2002, S.115



Die chemischen Substanzen zur Bekämpfung von Mikroorganismen werden gemäss ihrer Wirkungsmechanismen in zwei Kategorien unterteilt: die *membranaktiven* (MA) oder die *elektrophilaktiven* (EA) *Wirkstoffe*<sup>150</sup>.

In den folgenden Abschnitten werden die wichtigsten Mikrobizide aufgelistet und ihre chemischen Zusammensetzungen und Wirkungsweisen erklärt. Da es sich um ein sehr komplexes Thema mit einer Fülle an Fachliteratur handelt, werden hier hauptsächlich die Werke von PAULUS (1993, 1995) und ALLSOPP (2004) berücksichtigt.

*Alkohole:* Bei den antimikrobiell wirksamen Alkoholen handelt es sich um farblose Flüssigkeiten, die sich rückstandslos verflüchtigen. Ihre antimikrobielle Wirkung steigt mit ihrem Molekulargewicht. Die Eigenschaft der Alkohole, Proteine zu denaturieren, ist in erster Linie für ihre Wirksamkeit verantwortlich. Die Denaturierung von Zellwandproteinen hemmt wichtige Stoffwechselvorgänge der Mikrobenzelle. Pilzsporen werden jedoch nicht zerstört. Charakteristisch für Alkohole ist, dass sie sehr schnell, aber nur in vergleichsweise hohen Anwendungskonzentrationen und vorzugsweise in Gegenwart von Wasser wirken. So wirkt beispielsweise reines Ethanol weniger proteindenaturierend als eine wässrige Lösung von Ethanol. Es wird zwischen niederen Alkoholen wie zum Beispiel Ethanol, Propanol und Isopropanol und höheren Alkoholen – wie Benzylalkohol, 2-Phenyl-ethanol, 2-Phenoxy-ethanol, 1-Phenoxy-propan-2-ol – unterschieden<sup>151</sup>.

*Aldehyde:* Unter den Monoaldehyden ist Formaldehyd (Methanal) die reaktivste und damit auch die effektivste Substanz, vor allem gegen Bakterien. Schimmelpilze und Hefe sind jedoch viel resistenter (minimale Hemmkonzentration MHK 150 bis 1000 mg/l). Die antimikrobielle Wirkung von Formaldehyd ist weitgehend pH-unabhängig. Ausserdem ist Formaldehyd ohne Wirkungseinbusse verträglich mit anionischen, kationischen und nichtionischen Detergentien. Reaktivität und Flüchtigkeit der Substanzen sind jedoch als Nachteile anzusehen, da sie die Verträglichkeit und Stabilität des Wirkstoffes beeinträchtigen und darüber hinaus Geruchsbelästigungen verursachen. Aufgrund der Tatsache, dass Aldehyde Bakterien, Pilze und die entsprechenden Sporen und sogar Viren zerstören, wird Formaldehyd auch als *chemisches Sterilisationsmittel* bezeichnet.

Eine weitere Substanz aus der Gruppe der Aldehyde ist das  $\alpha$ -Bromzimaldehyd (BZA). Das Bekämpfungsspektrum von BZA umfasst Bakterien, Hefen und Pilze. Da es sich um eine flüchtige Substanz handelt, wird BZA als *Dampfphasenmikrobizid* verwendet<sup>152</sup>.

---

<sup>150</sup> Die genaue Auflistung dieser Mechanismen und ihre Auswirkungen auf Mikroorganismen können im Anhang I, S.1 nachgelesen werden.

<sup>151</sup> PAULUS, 1995, S.238

<sup>152</sup> PAULUS, 1995, S.245



*Phenolderivate:* Ausgangspunkt für die Entwicklung mikrobizid wirksamer Phenolderivate war Phenol selbst. Inzwischen sind hunderte von Phenolderivaten synthetisiert und untersucht worden, mit dem Ziel, wirksamere und zugleich weniger toxische und weniger hautreizende Stoffe als der Grundkörper Phenol zu finden. Ein in der Konservierung und Restaurierung oftmals verwendetes Produkt ist Preventol® CMK-Na (4-Chlor-3-methyl-phenol, Natriumsalz). Die Bezeichnung für CMK lautet p-Chlor-m-Kresol.

*Organische Säuren:* Wenn hier von Säuren mit mikrobizider Wirkung die Rede ist, dann ist nicht die Wirksamkeit gemeint, die Säuren generell dadurch entfalten, dass sie Medien mit niedrigen pH-Werten schaffen und dadurch im Medium die Vermehrung von Bakterien und das Auskeimen von Sporen unterdrücken, vielmehr ist gemeint, dass einige wenige organische Säuren im nichtdissoziierten Zustand als membranaktive Mikrobizide wirken<sup>153</sup>. Beispiele für solche antimikrobiellen Säuren sind p-Hydroxybenzoesäure-ester (PHB-Ester), Sorbinsäure (2,4-Hexadiensäure), Benzoessäure (Phenyl-Ameisensäure) und Naphthensäure.

*Quaternäre Ammoniumverbindungen:* Diese chemische Substanzen sind Tenside und zeichnen sich durch die Länge ihrer Moleküle aus (C14-C16). Sie gelten als Hitze- und pH-stabil und werden deshalb als lang wirkende Mikrobizide eingesetzt. Allerdings können sie nicht in Kombination mit anionischen Tensiden benutzt werden. Ein Auftragen der kationischen Tenside auf ein proteinreiches oder stark salzhaltiges Material schwächt hingegen die antimikrobielle Wirkung durch Inaktivierung einzelner Inhaltsstoffe (vgl. Kapitel 9. Diskussion und Bemerkungen, S.90). Sie gelten als biologisch gut abbaubar<sup>154</sup>. Beispiel einer quaternären Ammoniumverbindung ist Bardac® 22 (Di-n-decyl-dimethyl-ammoniumchlorid).

*Isothiazolinonderivate:* Antimikrobiell wirksame Isothiazolinonderivate enthalten eine aktivierte N – S-Bindung, welche mikrobizid wirken<sup>155</sup>.

Das stabilste Isothiazolinonderivat ist 1,2-Benzisothiazolin-3-on (BIT). Es ist ohne Zersetzung in heissem Wasser löslich und bildet mit Alkalien und Aminen wasserlösliche Salze. Die höchsten BIT-Konzentrationen werden zur Inhibierung einiger Pilzarten, z.B. *Aspergillus niger* und *Trichoderma viride* benötigt.

*Oxydationsmittel:* Oxydationsmittel wie Wasserstoffperoxyd (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), Peressigsäure (C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>O<sub>3</sub>), Halogene und Halogen abspaltende Verbindungen eignen sich nicht zur Konservierung. Ihr Einsatz liegt hauptsächlich in der kurativen Wirkung (beispielsweise zur Reinigung). Sie wirken mikrobizid aufgrund ihres Oxydationsvermögens, von dem aber nicht nur Mikroben (einschliesslich Sporen) erfasst werden, sondern auch andere organische Komponenten und Materialien. Die Aggressivität und die damit verbundene Instabilität der Oxydationsmittel müssen bei ihrer Anwendung als Mikrobizide berücksichtigt werden. Die

---

<sup>153</sup> PAULUS, 1995, S.248

<sup>154</sup> ALLSOPP *et al.*, 2004, 213ff

<sup>155</sup> PAULUS, 1995, S.263ff



ihnen innewohnende begrenzte Stabilität bietet jedoch den Vorteil, dass ihre Anwendung nicht zu umweltbelastenden Rückständen führt<sup>156</sup>.

*Carbamate und Dithiocarbamate:* Mikrobizide aus diesen Substanzklassen unterscheiden sich sowohl in der Wirksamkeit als auch im Wirkungsmechanismus. Die den Carbamaten zugrunde liegenden Carbamin- und Dithiocarbaminsäuren sind instabile Substanzen, die nur intermediär vorkommen und sofort in CO<sub>2</sub> beziehungsweise CS<sub>2</sub> und Amin zerfallen. Sehr wirksame Mikrobizide sind die Iodpropargyl-carbamate, beispielsweise die N-Iodpropargyl-benzoxazol-2-on-Derivate.

Preventol® MP 100 (3-Iodopropinyl-butyl-carbamate IPBC), aus derselben Gruppe stammend, zeichnet sich durch seine hohe fungizide Wirkung aus. Diese umfasst holzverfärbende Pilze, Bläuepilze und holzzerstörende Pilze. Demzufolge wird IPBC in erster Linie als Anstrichfungizid oder als Wirkstoff in offenporigen Holzlasuren und in Holzschutzmitteln verwendet. Organische Iod-Verbindungen können jedoch Vergilbungen hervorrufen<sup>157</sup>.

*Organometallverbindungen:* Mikrobizide Organometallverbindungen, wie Organoquecksilber- und Organozinnverbindungen, stehen aufgrund ihrer Toxizität und Ökotoxizität unter Substitutionsdruck. Infolgedessen sind die Organoquecksilberverbindungen bereits weitgehend substituiert worden und spielen als Mikrobizide für den Materialschutz keine nennenswerte Rolle mehr<sup>158</sup>. Die Organozinnverbindungen werden jedoch noch gegen Pilzbefall bei Textilien, Leder, Papier, Holz und dergleichen eingesetzt. Insbesondere dienen sie zur Algen- und Schneckenbekämpfung in Schiffsanstrichen (Antifoulingfarben) sowie als Mittel gegen Pilze, Milben und als Saatbeizmittel im Pflanzenschutz. Manche wirken auch als Frasshemmstoffe auf Insekten. Aber die Verwendung ist rückläufig. Die Organometallverbindungen sind in sauren Medien nicht besonders effektiv. Beispiele dieser Verbindungen sind Tributylzinnoxid (TBTO), Tributylzinn-Benzoat (TBTB), Tributylzinn-Naphtenat (TBTN) sowie Tributylzinfluorid (TBTF) und Phenylquecksilberacetat (PMA).

*Ätherische Öle:* Diese Substanzen kommen sowohl in der Praxis der Konservierung als auch Restaurierung (noch) nicht vor. Sie setzen sich jedoch aus chemischen Inhaltsstoffen (einzelnen Wirkstoffen) zusammen, die schon als antimykotisch wirksam beschrieben sind und in dieser Form Anwendung finden (vgl. Kapitel 2.2. Chemie der ätherischen Öle, S.8). Diese antimikrobiell wirksamen Stoffe waren Gegenstand vieler Versuche, in denen die komplexen ätherischen Öle zur Bekämpfung von Mikroorganismen eingesetzt wurden (vgl. Kapitel 2.1.1. ätherische Öle in der Konservierung und Restaurierung, S.4).

Ein Vorteil dieser natürlich vorkommenden Substanzen ist ihre gute biologische Abbaubarkeit. Da es sich um reine Pflanzenstoffe handelt, wird die Umwelt nicht mit zusätzlichen chemischen Produkten belastet, welche

---

<sup>156</sup> PAULUS, 1995, S.269

<sup>157</sup> PAULUS, 1995, S.256ff

<sup>158</sup> PAULUS, 1995, S.268



zum Teil spezielle Vorrichtungen für ihre Entsorgung benötigen. Zudem hinterlassen die ätherischen Öle auf zellulosehaltigen Objekten keinen "Fettfleck", wie dies beispielsweise bei Leinöl der Fall ist.

### 5.2.3. Biologische Methoden

Der Einsatz eines biologischen Organismus zur Unterdrückung eines anderen muss regelmässig überwacht und überprüft werden. Unter anderem weil der natürliche Abbauprozess indirekt gestört wird. Zur Bekämpfung des Verfaulens von Holz ist der Einsatz von immunisierenden Kommensalen<sup>159</sup> geprüft worden. Studien haben gezeigt, dass die Zellulose abbauenden Schimmelpilze *Trichoderma viride* und *Scytalidium lignicola* gegen den holzerstörenden Basidiomyceten *Lentinus lepideus* gewirkt haben<sup>160</sup>. In der Kulturgütererhaltung ist diese biologische Methode nicht realisierbar, da der neu eingesetzte Organismus zur Entwicklung ebensoviel Feuchtigkeit benötigt wie der "Schädling". Dies steht im Widerspruch zur Konservierung von Holzobjekten in Museumsdepots, wo der Entzug der Feuchtigkeit massgebend für die Erhaltung des Objekts ist.

Ein weiteres Beispiel gilt auch dem Kampf gegen unerwünschte Vögel in Städten. Das Einführen einer weiteren Spezies, welche antagonistisch zur ersterwähnten eingestellt ist, kann den Brutbestand durch das Fressen der Eier regulieren<sup>161</sup>. Dabei ist allerdings nicht zu unterschätzen, dass die neu eingeführten Arten (Pilze, Tiere wie Pflanzen) auch neue Probleme mit sich bringen können.

---

<sup>159</sup> Tierischer oder pflanzlicher Organismus, der zusammen mit einem anderen Organismus von der gleichen Nahrung lebt, ohne diesen zu schädigen.

<sup>160</sup> ALLSOPP *et al.*, 1986, S.119

<sup>161</sup> CANEVA *et al.*, 1991, S.127



## 6. Günstiges Wachstumsklima in Museumsdepots und präventive Massnahmen

Oftmals sind Museen alte Gebäude, welche vor allem für das Ausstellen der Objekte konzipiert wurden, aber nicht für deren Lagerung. Bei den Depots handelt es sich oft um Keller- oder Dachgeschossräume, welche ein ungünstiges Raumklima aus Sicht der Objekte aufweisen, so dass das Wachstum von Mikroorganismen begünstigt wird<sup>162</sup>. Zudem ist die Anzahl der in den Depots gelagerten Objekte meist viel grösser als die Zahl der zur Ausstellung vorgesehenen. Somit sind die Depots oft zu klein und beinhalten grösstenteils Kompositobjekte<sup>163</sup>, was eine materialdifferenzierte Lagerung kaum möglich macht.

Aus finanziellen und aus technischen Gründen kann nicht jedes Objekt einzeln gegen Mikrobenbefall behandelt werden, und so müssen allgemeine Lösungen für den ganzen Raum gefunden werden. Um Bewuchs jedoch verhindern zu können, müssen zuerst die mikrobenbegünstigenden Faktoren ermittelt werden. Bewuchs basiert immer auf drei Grundvoraussetzungen<sup>164</sup>:

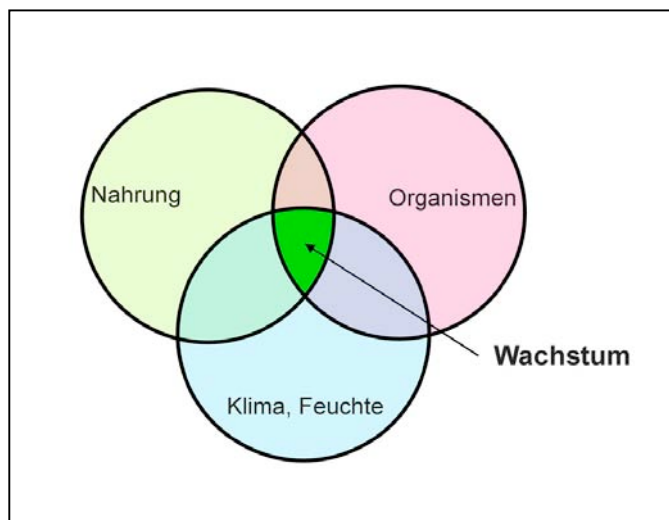


Abb. 12. Die drei Grundvoraussetzungen für Pilzbewuchs. RASCHLE., EMPA St.Gallen (2006)

1. Die Organismen müssen (zwar unsichtbar) vorhanden sein (und auf günstige Wachstumsbedingungen warten).
2. Wachstumsbedingungen sind ausreichende **Feuchtigkeit** und ein akzeptables Klima.
3. Die Organismen brauchen **Nahrung** und einen **Träger**, welcher Bewuchs zulässt.

Da Mikroorganismen in unserer Umgebungsluft immer vorhanden sind und günstige Wachstumsbedingungen abwarten, kann in Depots Bewuchs verhindert werden, indem das Klima (Feuchtigkeit) verbessert wird. Denn Pilzwachstum ist immer eine Folge von zu hoher Luftfeuchtigkeit. Pilze

<sup>162</sup> ALLSOPP *et al.*, 2004, S.160ff

<sup>163</sup> Objekte welche aus zwei oder mehreren Materialien bestehen.

<sup>164</sup> RASCHLE, 1996, S.1



entwickeln sich oberhalb einer Mindest-Gleichgewichts-Feuchtigkeit von etwa 70% rLF<sup>165</sup>. Wobei auch die Wasseraktivität ( $a_w$ ), Licht, Temperatur, pH-Werte, Luftreinheit sowie Handhabung der Objekte eine wesentliche Rolle spielen<sup>166</sup>. Laut WARSCHEID (2003) spielt die Wasseraktivität eines Objekts die Hauptrolle. Diese ist in erster Linie abhängig vom Objekt und dessen Material, von der relativen Luftfeuchtigkeit des Raumes sowie des abgelagerten organischen Staubes auf den Objekten<sup>167</sup>.

Mögliche Pilzgefahr kann dann verhindert werden, wenn zu Beginn genaue Klimamessungen in einem Depot vorgenommen worden sind. Schwachstellen und Mikroklimas innerhalb des Raumes können so einheitlich angepasst werden. Sauberkeit des Raumes, desinfizierende Reinigung der Objekte, konstantes Raumklima (18-20°C) und eine rLF zwischen 55%-60% sowie regelmässige Kontrollen bilden die besten Voraussetzungen für eine dauerhafte Vermeidung von Schimmelbefall. WARSCHEID (2003) empfiehlt für bereits kontaminierte Objekte eine rLF von nicht mehr als 55%, bei nicht kontaminierten Objekten kann diese auch bei 65% liegen<sup>168</sup>. Zudem rät er auch zu einer präventiven Konservierung mittels Applikation von geeigneten mikrobe-resistenten Substanzen. Grundsätzlich sollten Objekte nur für eine gewisse Zeitspanne Licht ausgesetzt werden und wenn möglich die Lampen mit UV-Filtern versehen sein. Dies gilt vor allem bei sehr fragilen Objekten, wie beispielsweise Papier, Bildern auf Papier, Textilien etc. Durchschnittlich gelten 50lux als optimal<sup>169</sup>. Seit September 2003 besteht eine internationale Norm ISO 11799 „Information and documentation – Document storage requirements for archive and library materials“. Der wesentliche Punkt dieser Norm beruht auf dem geringen Klimawechsel in Archiven und Depots zur Verhinderung von Bewuchs. Im Annex B zu dieser Norm sind die Anforderungen für die verschiedenen Materialien angegeben.

In Kontrast zu den in Museumsdepots gelagerten Objekten müssen die im Freien stehenden Kulturgüter anders behandelt werden, da aus nahe liegenden Gründen kein Einfluss auf das Klima genommen werden kann<sup>170</sup>.

### Schimmelpilzgattungen auf Kulturgütern in Museumsdepots

Die Innenluft von Depoträumen ist immer auch pilzsporenhaltig. Diese Sporen werden erst dann zu einem Problem einer Sammlung, wenn sie entweder auf einem Sammelobjekt keimen und zu einem „Schimmelpilz“ auswachsen können oder wenn die Sporenzahl der Luft die MAK-Grenzwerte (Maximale Arbeitsplatzkonzentration) übersteigt. Die Keimung hängt von Temperatur, relativer Luftfeuchtigkeit und Nahrungsangebot sowie der „Flugbahn“ der Sporen ab. Weitere Isolierungen von Schimmelpilzen auf verschiedenen Kulturgütern (Wandmalerei, Papier, Leder, Fassungen etc.) haben ergeben, dass weltweit

---

<sup>165</sup> RASCHLE, internes Dokument, 2006

<sup>166</sup> FLORIAN, 1997, S.125

<sup>167</sup> Staub beinhaltet oftmals Pilzsporen und Feuchtigkeit.

<sup>168</sup> Ist abhängig von Material und Zustand des Objektes.

<sup>169</sup> CANEVA *et al.*, 1991, S.116

<sup>170</sup> WARSCHEID, 2003, S.25



immer wieder dieselben Gattungen auf verschiedenen Objekten vorkommen<sup>171</sup>. Dabei handelt es sich unter anderem um *Alternaria*, *Aspergillus*, *Cladosporium* und *Penicillium*<sup>172</sup>. Nach FLORIAN (1997) ist es ein Zufall, wo und wann Sporen der verschiedenen Gattungen auf bestimmten Materialien landen<sup>173</sup>.

---

<sup>171</sup> FLORIAN, 1997, S.114

<sup>172</sup> FLORIAN (1976), FLORIAN und DUDLEY (1976), GARGANI (1968), STRZELCZYK (1981), VALENTIN (1986) und ZAINAL *et al.*, (1981) in FLORIAN, 1997, S.114; WEIDENBOERNER, 2001, S.25

<sup>173</sup> FLORIAN, 1997, S.114



## II. Experimenteller Teil

### 7. Materialien und Methoden

#### 7.1. Testmaterialien

##### 7.1.1. Ätherische Öle

Tab. 6. Verwendete 100% naturreine ätherische Öle und deren Hauptwirkstoffe

Produkt *	Pflanzliche Herkunft	Hauptwirkstoffe **
Bergbohnenkraut	<i>Satureja montana</i> Fam. <i>Lamiaceae</i>	Karvakrol, Thymol
Oregano	<i>Origanum vulgare</i> Fam. <i>Lamiaceae</i>	Karvakrol, Thymol
Gewürznelke	<i>Eugenia caryophyllata</i> Fam. <i>Myrtaceae</i>	Eugenol 75-88%
Zimt	<i>Cinnamomum zeylanicum</i> Fam. <i>Lauraceae</i>	65.0-76.0% Zimtaldehyd, 10% Phenole

\* Alle ätherischen Öle wurden durch Wasserdampfdestillation gewonnen.

\*\* Für alle ätherischen Öle wurde von der jeweiligen Lieferfirma ein Analysenzertifikat erstellt (vgl. Anhang II.I, Analysenzertifikate der ätherischen Öle, S.4).



### 7.1.2. Prüfpilze

Tab. 7. Die für die Versuche verwendeten Prüfpilze

	Name	Stamm	Pilzgruppe
1	<i>Aspergillus niger</i>	EMPA 510 (ATCC 6275)	Deuteromycetes oder fungi imperfecti
2	<i>Penicillium pinophilum</i>	EMPA 511 (CMI 114933)	Deuteromycetes oder fungi imperfecti
3	<i>Paecilomyces variotii</i>	EMPA 549 (ATCC 18502)	Deuteromycetes oder fungi imperfecti
4	<i>Trichoderma virens</i>	EMPA 513 (ATCC 9645)	Deuteromycetes oder fungi imperfecti
5	<i>Chaetomium globosum</i>	EMPA 569 (ATCC 6205)	Ascomycetes
6	<i>Aspergillus versicolor</i>	EMPA 517	Deuteromycetes oder fungi imperfecti
7	<i>Aureobasidium pullulans</i>	EMPA 316 (ATCC 9348)	Deuteromycetes oder fungi imperfecti

Folgende Schimmelpilze wurden in einer Pilzmischung (**Pilzmischung 1**) verwendet:

- *Aspergillus niger*
- *Penicillium pinophilum*
- *Paecilomyces variotii*
- *Trichoderma virens*
- *Chaetomium globosum*

*Aspergillus versicolor* und *Aureobasidium pullulans* wurden als **Einzelkulturen** zur Prüfung verwendet.

Der Pilzmischung 1 wurde für einen Teil der Versuche *Aureobasidium pullulans* hinzugefügt (**Pilzmischung 2**).

### 7.1.3. Herstellung der Sporensuspension zum Animpfen der Versuche

Nach Vorkultivieren der Schimmelpilze auf vollständigem Nähragar (Hefe-Malzextrakt und Hafer-Malzextrakt) wurden die Sporen mit unvollständiger Suspensionsflüssigkeit (Mineralsalzlösung) vom Agar entnommen. Unter sterilen Bedingungen wurde eine aus fünf, respektive sechs Prüfpilzen bestehende Pilzsporensuspension gewonnen, welche zur Beimpfung des Probenmaterials dient.

Zur Gewinnung der Sporensuspension wurde jeweils der Pilzrasen mit einer sterilen Öse vom Nährmedium abgekratzt, dann zu diesen Pilzkulturen 10ml Mineralsalzlösung ein Netzmittel beigelegt und mit Hilfe des Reagenzglasschüttelgerätes vermischt. Um das Pilzmyzel entfernen zu können, wurde das Gemisch durch einen mit Glaswatte belegten Glastrichter filtriert. Die dadurch gewonnene Sporensuspension wurde zweimal



gewaschen, um zu verhindern, dass oberflächenaktive Stoffe und Nährstoffe in Form organischer Verbindungen in der Lösung blieben. Dieser Vorgang erfolgte durch Zentrifugieren, Ausleeren des Überschusses, Zugabe von 5ml Mineralsalzlösung, Schütteln, erneutes Zentrifugieren und nochmaliger Zugabe von 5ml Mineralsalzlösung. Da die Sporensuspension  $10^6$  Sporen/ml enthalten sollte, wurde die Sporenzahl mit Hilfe von Mikroskop und Zählkammer bestimmt. Dieses Verfahren wurde mit jedem Prüfpilz wiederholt<sup>174</sup>.

Tab. 8. *Inhaltsstoffe und Menge der Mineralsalzlösung auf einen Liter berechnet*

Mineralsalzlösung		
Natriumnitrat	NaNO <sub>3</sub>	2.0g
Kaliumdihydrogenphosphat	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0.7g
di-Kaliumhydrogenphosphat	K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0.3g
Kaliumchlorid	KCl	0.5g
Magnesiumsulfat Heptahydrat	MgSO <sub>4</sub> *7H <sub>2</sub> O	0.5g
Eisen(II)-sulfat Heptahydrat	FeSO <sub>4</sub> *7H <sub>2</sub> O	0.01g
Entmin. Wasser	H <sub>2</sub> O	1000ml

### 7.1.4. Filterpapier

Ein Teil der Versuche erfolgte auf Zellulose-Filterpapier. Die für die Testserien benötigten Filterpapiere waren aschfreie Rundfilter MN 640 w 7cm<sup>175</sup> und wurden für die Testserien auf 25mm Durchmesser ausgestanzt.

---

<sup>174</sup> HUTTENLOCHER, 2004-2005, S.7



### 7.1.5. Holzproben

Ein Teil der Versuche erfolgte auf Holz:

Tab. 9. *Verwendete Holzproben für die Bewuchsversuche*

Holzart	
<i>Picea abies</i> (Rottanne, Gemeine Fichte)	Nadelholz
<i>Quercus sp.</i> Eiche	Laubholz

Die 4x4x0.5 cm grossen Holzproben wurden vor den Versuchsreihen während 20 Minuten bei 121°C autoklaviert (Sterilisation in Sattedampf bei 121°C), um alle Mikroorganismen abzutöten. Ansonsten hätten diese zu einem verunreinigten Bild der Testserien führen können. Zur besseren Wachstumsentwicklung der Prüfpilze wurden sie nach dem Abkühlen und vor den biologischen Tests in unvollständiger Mineralsalzlösung (UMSL) getränkt<sup>176</sup>. Das heisst, sie wurden in ein UMSL-Bad während ca. zwei Stunden eingelegt und anschliessend luftgetrocknet.

### 7.1.6. Nährmedium

Für viele mikrobiologische Arbeiten (Keimzahlbestimmung, Biozidresistenz, Isolierung und Charakterisierung von Mikroorganismen, etc.) werden sterile Nährmedien benötigt. Deren Zusammensetzung richtet sich nach dem Verwendungszweck. Für diese Arbeit mit Pilzen wurden zwei verschiedene Nährmedien verwendet. Es handelte sich um vollständiges "ISO B"<sup>177</sup>- und unvollständiges "ISO A"-Nährmedium. Ersteres enthielt eine für Pilze verwertbare Kohlenstoffquelle, letzteres keine. Aus der Mineralsalzlösung entstand durch Zugabe von Agar der unvollständige Mineralsalzagar. Aus dem unvollständigen Mineralsalzagar bildeten sich durch Zugabe von Zucker (z.B. Glukose) der vollständige Nähragar.

---

<sup>175</sup> Aschegehalt pro Rundfilter max. 0.03mg, für grobe Niederschläge. Produziert von Macherey-Nagel+Co MN

<sup>176</sup> Mineralsalzlösung vgl. Kapitel 7.1.6. Nährmedium, S.45



Tab. 10. Die in der Tab. 8 aufgeführten Substanzen ergeben zusammen mit Agar, Glukose und Wasser den vollständigen Mineralsalzagar (Mengen auf einen Liter berechnet)

<b>Vollständiges Agarnährmedium</b>		
Agar Bacteriological Nr.1 <sup>178</sup>		15g
D-Glucose anhydrous	C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub>	20g

Die in 1L Flaschen angerührten Nährmedien wurden während 20 Minuten bei 121° C autoklaviert (vgl. Kapitel 7.1.5. Holzproben, S.45).

Anschliessend wurden die Flaschen zur Abkühlung auf 47° C in ein Wasserbad<sup>179</sup> gestellt. Die Endtemperatur des Mediums nach dem Bad betrug 45°-47° C. Die Agarlösung konnte innerhalb dieser Temperaturen am besten gegossen werden, da sich bei zu hoher Temperatur zu viel Kondenswasser am Schalendeckel niedergelassen hätte.

Die sterilen Kunststoffpetrischalen (9 cm Durchmesser) wurden mit zirka 25-30 ml Nährmedium gefüllt. Nach 1-2 Stunden war die Agarschicht vollständig gehärtet.

#### ISO 846 A oder Pilzwachstumstest

Mit diesem Verfahren kann festgestellt werden, ob das Produkt als Nahrung für die Pilze anzusehen ist<sup>180</sup>.

#### ISO 846 B oder Fungistasetest

Eine Wachstumshemmung auf der Probe oder um die Probe auf dem Nährboden (Hemmzone) zeigt eine fungistatische Aktivität der zu prüfenden Substanz an. Auf diesem vollständigen Agar wird ein Material auf seine antimikrobielle Wirkung beurteilt. Dieser Nährboden wird zur Prüfung von Schutzmitteln verwendet.

#### **7.1.7. Referenzsubstanz Preventol® MP 100**

Preventol® MP 100 ist ein synthetisch hergestelltes Antimykotikum aus der Gruppe der Carbamat-Derivate. Es besteht nach technischem Merkblatt zu mindestens 97% aus dem Wirkstoff IPBC: 3-Iodo-2-propinyl butyl carbamate.

---

<sup>177</sup> „ISO“ bedeutet hier in Anlehnung an die ISO-Norm 846 (International Organisation for Standardization). Denn die in ISO 846 beschriebenen verschiedenen Prüfverfahren beziehen sich auf Kunststoffproben.

<sup>178</sup> Der bakteriologische Agar hatte einen sehr geringen Mineralsalzgehalt und war deshalb für die Empfindlichkeitsprüfung besonders geeignet.

<sup>179</sup> Um eine Verkalkung der Wanne möglichst zu verhindern, enthielt das Wasserbad ausschliesslich entmineralisiertes Wasser.

<sup>180</sup> ISO Norm 846, 1997, S.3



Das Biozid ist in Festform vorhanden. Für alle Versuche wurde es zu 0.25% in Ethanol angesetzt. Das von der Firma gelieferte Sicherheitsdatenblatt nennt einen Wirkstoffgehalt von 100%.

### **7.1.8. Liste der benötigten technischen Geräte**

#### Dampfsterilisator

Dampfsterilisator (Dampfautoklav) der Baureihe LAF nach DIN 58.950, welches im Modell 6-6-9 HS1 der Firma Sauter, eingebaut wurde. Es ist programmier- und überwachbar (mit Datenschreiber). Flüssigmedien und Festmaterialien werden während 20 Minuten bei 121 °C (Sattdampf bei 2 bar) sterilisiert.

#### Laborzentrifuge

Zentrifuge des Typs Labofuge A der Marke Heraeus Christ. Diese Zentrifuge eignet sich zur Zentrifugation von gleichzeitig acht Zentrifugenröhrchen (nach DIN 58.970) mit je 15 ml Inhalt. Zur Sedimentation von Pilzsporen aus einer Sporensuspension wird bei 4'800 Umdrehungen pro Minute zentrifugiert.

#### Mikrobiologische Sicherheitswerkbank

Biosicherheitswerkbank der Klasse II (Modell Skanair VSE 2000-120) der Firma Skan AG. In dieser Sicherheitswerkbank findet eine Luftführung statt, bei der sterilfiltrierte Luft zugeführt wird um saubere Luft in der Werkbank zu garantieren. Gleichzeitig findet eine Luftführung statt, die es verhindert, dass trotz offener Werkbank ein Luftstrom nach aussen gelangt (Personenschutz). Die Filteranlage besteht aus einem Vorfilter der Klasse EU 7, einem Abluftfilter Klasse EU 13 mit einer Abscheideleistung von 99.999% 0.3 Mikrometer DOP Test, einem Umluftfilter Klasse EU 12, Abscheideleistung 99.999% Mikrometer DOP Test und einem Polzeifilter.

#### Mikroskopie und Mikrophotographie

Zur Dokumentation von Pilzbewuchs wurden zwei Stereomikroskope der Firma Leica Microsystems verwendet: Kombistereomikroskop M3Z (6.5-40-fache Vergrößerung) und Stereomikroskop M10 (8-80-fache Vergrößerung). Als Lichtquelle diente eine Kaltlichtquelle Intralux 6000-1 (Marke Volpi). Zur Mikrophotographie wurde die Kamera Leica DC 500 verwendet und zur Bildbearbeitung und Bildarchivierung die Software Image Access 4. Diese verfügt über einen Multifokus, Kalibrierungssystem, Beschriftung sowie Suchfilter und kann im Microsoft Word wie auch Powerpoint angewendet werden.



### Klimakabinen

An der Empa in St. Gallen stehen begehbare Klimakammern der Fa. York International Schweiz zur Verfügung. Für die Bewuchsversuche wurde eine Kammer verwendet, die auf 23° C und 95% rLF eingestellt war (Abweichungen Temperatur max 1° C, rLF max. 5%).

### Gaschromatographie

GC-MS Gerät Thermoquest Finnigan, welche aus einem Trace GC 2000 Series (Italien) und einem GCQ Plus Massenspektrometer (USA) besteht. Für die GC-MS wurde die Software X-Calibur mit einer Bibliothek NIST/EPA/NIH Mass spectral Library (NIST 05) verwendet.

### Brutschrank

Brutschrank der Firma Salvis, mit einer einstellbaren Temperatur bis zu 100°C und einen Umluftinkubator der Firma Binder WTC.

### Weitere benutzte Geräte:

Präzisionswaage PE 310 der Marke Mettler Toledo und Reagenzschüttelgerät Vortex Genie 2, von Bender & Hobein AG in Zürich.



### 7.2. Methoden

#### 7.2.1. Künstliche Alterungen

##### 7.2.1.1. Standardalterung

Alle sterilen Prüflinge wurden nach der Applikation der ätherischen Öle während 72 Stunden und bei 30° C in einem Trocknungsschrank<sup>181</sup> gelagert, bevor sie zum Biotest verwendet wurden. Während dieser Zeit verflüchtigte sich ein Teil der Substanzen. Auf den Proben blieben die Anteile weniger flüchtiger Substanzen zurück.

##### 7.2.1.2. Hitzealterung

Für einen Teil der Experimente wurden die sterilen Prüflinge nach der Applikation der ätherischen Öle während 72 Stunden bei 80° C im Abluft-Wärmeschrank gelagert. Es sollte damit der natürliche Alterungsvorgang, welcher in einer Veränderung physikalischer und chemischer Eigenschaften von Filterpapier/Holz bestehen kann, künstlich abgekürzt werden. Dabei traten an vielen Materialien gleichartige Veränderungen auf, wie sie auch unter natürlichen Alterungsbedingungen bei Raumtemperatur (ohne Mitwirkung von Licht, Abgasen und dergleichen sowie biologischen Einflüssen) beobachtet wurden<sup>182</sup>.

##### 7.2.1.3. Feuchtalterung

Die sterilen Proben wurden wiederum nach der Applikation der Prüfsubstanzen der feuchten Wärme exponiert: Während 72 Stunden wurden sie in der Feuchtkammer (Klimakammer) bei 23° C und ca. 95% rLF gelagert. Aufgrund der hohen rLF befanden sich die Proben nahe der Kondensation.

#### 7.2.2. Biologische Tests

Alle durchgeführten biologischen Tests bestanden darin, dass die Testmaterialien mit den Prüfpilzen beimpft wurden. Das heisst, dass die Pilzsporensuspension entweder durch Aufsprühen (0.3 g) oder durch Ausplattieren mit einer sterilen Pipette (0.1 ml) auf das Material aufgetragen wurde.

Alle biologischen Tests wurden mit den in ISO 846 genannten Pilzstämmen durchgeführt. Ein Teil der Versuche erfolgte mit Schimmelpilzmischungen (1 und 2), andere erfolgten mit Reinkulturen (vgl. Kapitel 7.1.2. Prüfpilze, S.43).

---

<sup>181</sup> Der Trocknungsschrank ist an die Abzugsluft angeschlossen, das heisst, die Luft wird direkt abgezogen und nicht umgewälzt.

<sup>182</sup> Schweizerische Normen-Vereinigung 198890, 1966, S.2



### 7.2.2.1. Agardiffusionstest gegen Schimmelpilze

Im Agardiffusionstest in Anlehnung an ISO 846 Methode B wurde untersucht, wie weit die Schimmelpilze vom bewachsenen Nährboden her auf die Proben übergreifen, respektive diese bewachsen können. Damit wird bestimmt, ob ein Schutzmittel den Bewuchs verhindert. Zur Auswertung eines Agardiffusionstests wird das Wachstum auf und unter dem Prüfling sowie ein allfälliger Hemmhof um die Probe bewertet.

### 7.2.2.2. Bewuchsversuch gegen Schimmelpilze

Im Bewuchsversuch in Anlehnung an ISO 846 Methode A wurde einerseits auf unvollständigem mineralischem Agarnährboden untersucht, ob die Prüfsubstanzen Nahrung für die Schimmelpilze enthalten oder sind.

Im Bewuchsversuch in Anlehnung an IEC-68-2-10 (Feuchtkammertest) wird andererseits in der Feuchtkammer bei 23°C und ca. 95% rLF untersucht, wie weit die mit den Prüfsubstanzen versehenen Holzproben Nahrung für Pilze sind oder enthalten, respektive ob ein Schutzmittel Wachstum verhindert.

### 7.2.2.3. Bestimmung der Wachstumsintensität und Beurteilung

Das Pilzwachstum wurde auf einer Skala von 0-5 bewertet:

Tab. 11. *Bewertung des Pilzwachstums*

Wachstumsintensität	Beurteilung
0	Kein Wachstum bei mikroskopischer Betrachtung mit 40-facher Vergrößerung erkennbar
1	Kein Wachstum mit bloßem Auge, aber unter dem Mikroskop mit 40-facher Vergrößerung klar erkennbar
2	Wachstum mit bloßem Auge erkennbar, bis zu 25% der Probenoberfläche bewachsen
3	Wachstum mit bloßem Auge erkennbar, bis zu 50% der Probenoberfläche bewachsen
4	Beträchtliches Wachstum, über 50% der Probenoberfläche bewachsen
5	Starkes Wachstum, ganze Probenoberfläche bewachsen



Tab. 12. *Interpretation der Ergebnisse*<sup>183</sup>

Verfahren	Wachstumsintensität	Beurteilung
ISO 846 Methode A	0	Material dient nicht als Nährstoff für Mikroorganismen; es ist inert oder fungistatisch
	1	Material enthält Nährstoffe oder ist nur leicht verschmutzt, so dass nur leichtes Wachstum möglich ist
	2-5	Material ist gegen Pilzbefall nicht resistent und enthält Nährstoffe für die Entwicklung von Mikroorganismen
ISO 846 Methode B	0 und Hemmzone um die Probe herum	Starke fungistatische Wirkung um die Probe herum durch Diffusion
	0	Starke fungistatische Wirkung
	1	Keine vollständige fungistatische Wirkung
	2-5	Abnehmende bis keine fungistatische Wirkung

Die Biotests wurden in je vier Parallelen durchgeführt und die Wachstumsintensität als Mittelwert der vier Einzelwerte beschrieben.

<sup>183</sup> Interpretation des Pilzwachstums nach EN ISO 846, S.10, Tab.5



### 7.2.3. Beschreibung der einzelnen Experimente

#### 7.2.3.1. Agardiffusionstest mit ätherischen Ölen behandelten und gealterten Filterpapierrondellen zur Untersuchung der antimykotischen Wirkung (Experiment 1)

In diesem Experiment wurde zuerst bestimmt, welche Dosierung/Konzentration der Öle zu antimykotischer Wirkung führte, und ob zwischen den verschiedenen Alterungen (Gebrauchswertbestimmung vor dem Biotest) Unterschiede in der Wirkung resultierten. Zu Beginn galt es, die Konzentrationen der ätherischen Öle, die das Pilzwachstum unter wachstumsfördernden klimatischen Bedingungen verhinderten oder verzögerten zu bestimmen.

##### Verwendete Konzentrationen

Die Konzentrationen wurden in dem Lösungsmittel Ethanol  $C_2H_5OH$  puriss. erstellt (die zu verwendenden Lösungsmittel oder andere Substanzen in Testverfahren müssen immer rein sein, somit können eventuelle Unreinheiten aus dem verwendeten Lösungsmittel ausgeschlossen werden).

Folgende Konzentrationen wurden für alle Experimente verwendet:

- a) 1%
- b) 5%
- c) 10%
- d) 50%
- e) 0.25% für Preventol® MP 100

Die Filterpapierrondellen wurden mit den Prüfsubstanzen und ihren Konzentrationen mit einer Pipette beträufelt und den drei Alterungen während 72 Stunden ausgesetzt. Danach lagerten sie zur Akklimatisierung während 24 Stunden im Klimaraum bei 20° C bevor sie auf den in den Petrischalen gegossenen Agarnährboden ISO 846 B gelegt und anschliessend beimpft wurden. Die Beimpfung erfolgte durch das Aufsprühen von 0.3 g Sporensuspension der Pilzmischung 1 sowie den Reinkulturen *Aureobasidium pullulans* und *Aspergillus versicolor*. Die Inkubationszeit bei 24° C betrug maximal vier Wochen.



### 7.2.3.2. Einfluss verschiedener Hitzealterungen von ätherischen Ölen auf ihre antimykotische Wirkung im Agardiffusionstest (Experiment 2)

Dieses Experiment erfolgte, indem die Öle vor der Verwendung zum Biotest unterschiedlich mit Hitze gealtert wurden, unter weitgehendem Luftabschluss (mit Folie abgedeckt) respektive im offenen Gefäß. Mit den gealterten Ölen wurden erneut die bisherigen Konzentrationen in Ethanol erstellt und wie im Experiment 1 mit einer Pipette auf Filterpapier gebracht. In der Klimakammer bei 20° C und 24 Stunden wurden die Filterpapiere anschliessend akklimatisiert, bevor sie im Agardiffusionstest (Agarnährboden ISO 846 B) durch Aufsprühen (0.3 g) der Pilzmischung 1 geprüft wurden. Die Inkubationszeit betrug maximal acht Wochen bei einer Temperatur von 24° C.

Zu Untersuchen galt, die daraus resultierten möglichen Unterschiede zwischen den zwei Alterungsmethoden in Bezug auf die antimykotische Wirkung der Prüfsubstanzen.

### 7.2.3.3. Bewuchsversuch auf unvollständigem mineralischem Agarnährboden zur Untersuchung, ob ätherische Öle Nahrung für die Prüfpilze darstellen (Experiment 3)

In diesem Experiment wurden die ätherischen Öle mit der Gradientenmethode in Petrischalen auf Nahrung für Schimmelpilze untersucht. Durch den Entzug der Kohlenstoffquelle im Agarnährboden ISO 846 A fehlte es den Schimmelpilzen an Basisnahrung, welche jedoch durch die ätherischen Öle ersetzt werden könnten. Geprüft wurden die Reinkulturen von *Aspergillus niger*, *Chaetomium globosum*, *Trichoderma virens* und *Paecilomyces variotii*.

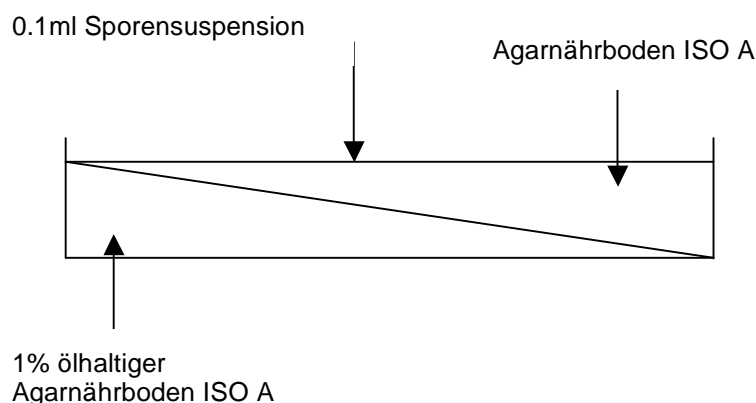


Abb. 13. Schema der Versuchsanordnung: Petrischale gefüllt mit zwei Hälften Nährmedium, dem ölhaltigen ISO 846 A- und dem reinen ISO 846 A-Nährboden

Vor dem Beifügen der ungealterten Substanzen in das Agarnährmedium ISO 846 A musste eine Konzentration von 1% in Ethanol puriss. erstellt werden. Diese Stammlösung hatte den Vorteil, dass sich die Essenzen wegen dem Alkohol im wasserhaltigen Agarnährmedium besser mischen konnten und sich keine Fettaugen auf der Oberfläche bildeten. Das Agarnährmedium blieb homogen. Dann wurde das



angereicherte Medium in einer Schrägschicht in die Petrischalen gegossen. Sobald der Agarnährboden fest war, wurde ein reiner ISO 846 A-Agarnährboden in gleicher Weise gegossen und abgekühlt (vgl. Abb. 13).

Mit 0.1 ml Sporensuspension wurden die Petrischalen beimpft. Dazu wurde eine Einwegpipette mit abgerundeter Öffnung verwendet. Durch diese Öffnung konnte die Sporensuspension gleichmässig auf dem Agarmedium verteilt werden. Nach dieser Beimpfung wurden die Schalen im Inkubator bei 24° C während sechs Wochen gelagert.

#### **7.2.3.4. Bewuchsversuch auf Holzproben in der Feuchtkammer zur Untersuchung antimykotischer Wirkung ätherischer Öle nach den drei Alterungen (Experiment 4)**

Vor dem Biotest wurden die sterilisierten und in unvollständiger Mineralsalzlösung (UMSL) getränkten Fichten- und Eichenholzproben den künstlichen Alterungen ausgesetzt (gleicher Vorgang wie auf Filterpapierrondellen). Dann wurden sie erneut während 24 Stunden und bei 20° C akklimatisiert, bevor sie durch Aufsprühen der Pilzmischung 2 beimpft wurden. Nach dem Biotest lagerten die Proben in der Feuchtkammer bei 23° C und ca. rLF 95% während maximal 16 Wochen.

Dabei galt es herauszufinden, ob die ätherischen Öle einerseits Nahrung für die Prüfpilze darstellten oder gar ihr Wachstum förderten. Ebenfalls wurden bezüglich Anfälligkeit für Pilzwachstum Unterschiede zwischen den beiden getesteten Holzarten und den Prüfsubstanzen festgehalten, wie auch die Unterschiede zwischen den verschiedenen angewandten Konzentrationen der ätherischen Öle.

#### **7.2.3.5. Verschimmelungsversuch an ungealterten Holzproben mit anschliessender Reinigung und Behandlung der Prüfsubstanzen (Experiment 5)**

Bei diesem Experiment wurden die Holzproben zu Beginn mit der Pilzmischung 1 durch Aufsprühen beimpft und während zwei Monaten in der Feuchtkammer gelagert, damit sich der Pilzbewuchs auf den Proben entwickeln konnte. Darauf folgten eine restauratorische Reinigung (mechanische Reinigung mit Staubsauger und Flachpinsel) und die Behandlung mit den ungealterten Prüfsubstanzen und deren üblichen Konzentrationen. Dieser Versuch galt der vorbeugenden antimykotischen Wirkung der ätherischen Öle. Die Frage lautete, ob durch diese direkte Applikation der ungealterten Substanzen das Pilzwachstum verzögert oder verhindert wird. Aber auch, ob die Öle Nahrung für die Prüfpilze anboten und ob ein Unterschied zwischen den Holzarten und den Konzentrationen bezüglich Pilzwachstum festzustellen war.

Die Proben wurden nach der Reinigung und Applikation der Prüfsubstanzen in der Klimakammer bei 23° C und ca. rLF 95% während maximal 16 Wochen inkubiert.

#### **7.2.3.6. Bewuchsversuch zur Untersuchung der antimykotischen Wirkung ätherischer Öle durch einen Dampfphasentest (Experiment 6)**

Anders als die im Experiment 5 beschriebene Wirkung der direkt auf die Holzproben applizierten Öle, wurden in dieser Testserie dieselben Wirkungen über die Dampfphase geprüft. In dicht abgeschlossenen Glaswannen wurden die ebenfalls ungealterten ätherischen Öle zusammen mit sterilen und verschimmelten (Pilzmischung 2) Holzproben gelagert. Der Boden der Glaswannen war mit Wasser bedeckt, darauf ein



Metallgitter eingesetzt, auf welchem sich folgendes Material befand: Eine verschimmelte Fichtenholz- und Eichenholzprobe sowie sterile Proben derselben Hölzer und in der Mitte ein Glasbehälter mit 10 ml ätherischem Öl. Mit einer Glasplatte und Silikonfett wurde die Wanne dicht abgeschlossen.

Mit den verschimmelten Proben wurde einerseits überprüft, ob die Substanzen mikrobistatische Wirkungen aufwiesen. Das heisst, das Wachstum der Pilze sollte auf diesen Proben stagnieren. Andererseits galten sie als Kontaminierungsproben für die sterilen Hölzer. Falls die ätherischen Öle durch den Dampfhasentest hemmende Wirkung aufwiesen, blieben die sterilen Proben unbewachsen.

Die Glaswannen wurden in der Klimakammer bei 23° C und während maximal 16 Wochen gelagert.

### **7.2.3.7. GC-MS der Prüfsubstanzen zur Untersuchung der chemischen Zusammensetzung (Experiment 7)**

Mit der Gaschromatographie-Massenspektrometrie (GC-MS) wurden folgende vier Substanzen analysiert:

- *Cinnamomum zeylanicum*
- *Eugenia caryophyllata*
- *Satureja montana*
- *Origanum vulgare*

Die ätherischen Öle wurden als Reinsubstanzen (Referenz), aus dem Experiment 2 (nach der thermischen Alterung bei 80° C während 72 Stunden) und aus dem Experiment 6 (Untersuchung der vorbeugenden antimykotischen Wirkung der Substanzen durch einen Dampfhasentest)<sup>184</sup> getestet.

Es war das Ziel, durch chemische Analytik festzustellen, ob durch verschiedene klimatische Bedingungen chemische Veränderungen der Öle verursacht wurden, welche einen Einfluss auf die antimykotische Wirkung der Essenzen haben könnten.

Die genauen Parameter zur GC-MS Analyse können im Anhang III, Seite 10 bis 12 nachgelesen werden.

---

<sup>184</sup> Ohne *Satureja montana*



## **8. Resultate**

### Experiment 1: Agardiffusionstest zur Bestimmung der antimykotischen Wirkung ätherischer Öle nach verschiedenen künstlichen Alterungen

Nach sieben Tagen waren alle ölbehandelten Proben und anschliessender Standard- und Feuchtalterung vollständig bewachsen (Wachstumsintensität 5). Ein gutes Myzelwachstum der verschiedenen Prüfpilze war auf allen Proben festzustellen und eine Sporulierung ausschliesslich von *Aspergillus niger* (in Pilzmischung 1).

Einzig nach der Hitzealterung konnten einzelne Konzentrationen der ätherischen Öle eine hemmende Wirkung gegenüber den Prüfpilzen erlangen (vgl. Tab. 13, 14 und 15). Die mit *Cinnamomum zeylanicum* 50%- und 10%-igen behandelten Proben, zeigten gegen *Aspergillus versicolor* nach sieben Tagen Hemmhöfe von 3-20 mm sowie 1-8 mm auf. Von einem Probenrandbewuchs betroffen waren ausschliesslich die 5%-igen Proben derselben Substanz, was mit einer gemittelten Wachstumsintensität von 1.3 bestimmt wurde. Vollständig unbewachsen blieben die mit *Cinnamomum zeylanicum* 50%- und 10%-igen behandelten Proben im Agardiffusionstest gegen *Aureobasidium pullulans*. Die Proben blieben bis nach Abbruch der Testserie nach vier Wochen unbewachsen (vgl. Abb. 17-30). Auf den weiteren Proben verstärkte sich das Wachstum, was in den Abb. 14-16 zu sehen ist.

Die mit Preventol® MP 100 behandelten Proben waren nach allen drei künstlichen Alterungen von keinem Pilzwachstum betroffen. Die Referenzsubstanz verhinderte den Pilzbewuchs über die ganze Versuchsdauer.



Tab. 13. Wachstumsintensität (WI) von Pilzmischung 1 nach sieben bis 28 Tagen auf Filterpapierrondellen, behandelt mit 50%, 10%, 5%, 1%-igen Konzentrationen der ätherischen Öle nach Hitzealterung

Substrat	Konzentration	WI 7 Tage	WI 14 Tage	WI 28 Tage
<i>Cinnamomum zeylanicum</i>	50%	0.5	3.5	4
	10%	1.1	5	5
	5%	5	5	5
	1%	5	5	5
<i>Eugenia caryophyllata</i>	50%	5	5	5
	10%	5	5	5
	5%	5	5	5
	1%	5	5	5
<i>Satureja montana</i>	50%	5	5	5
	10%	1.9	5	5
	5%	5	5	5
	1%	5	5	5
<i>Origanum vulgare</i>	50%	5	5	5
	10%	5	5	5
	5%	5	5	5
	1%	5	5	5
Preventol® MP 100	0.25%	0	0	0
Kontrolle Filterpapier		5	5	5
Kontrolle Nährboden		5	5	5

Tab. 14. Wachstumsintensität (WI) von *Aureobasidium pullulans* nach sieben bis 28 Tagen auf Filterpapierrondellen, behandelt mit 50%, 10%, 5%, 1%-igen Konzentrationen der ätherischen Öle nach Hitzealterung

Substrat	Konzentration	WI 7 Tage	WI 14 Tage	WI 28 Tage
<i>Cinnamomum zeylanicum</i>	50%	0	0	0
	10%	0	0	0
	5%	0	1.5	2.5
	1%	3	4.5	5
<i>Eugenia caryophyllata</i>	50%	3.3	4.5	5
	10%	5	5	5
	5%	5	5	5
	1%	5	5	5



<i>Satureja montana</i>	50%	3.4	4	4.5
	10%	3.1	3.5	4
	5%	4.1	5	5
	1%	5	5	5
<i>Origanum vulgare</i>	50%	4.1	4.5	4.5
	10%	3.5	3.5	3.5
	5%	5	5	5
	1%	5	5	5
Preventol® MP 100	0.25%	0	0	0
Kontrolle Filterpapier		5	5	5
Kontrolle Nährboden		5	5	5

Tab. 15. Wachstumsintensität (WI) von *Aspergillus versicolor* nach sieben bis 28 Tagen auf Filterpapierrondellen, behandelt mit 50%, 10%, 5%, 1%-igen Konzentrationen der ätherischen Öle nach Hitzealterung

Substrat	Konzentration	WI 7 Tage	WI 14 Tage	WI 28 Tage
<i>Cinnamomum zeylanicum</i>	50%	0	2	2.5
	10%	0	2.5	4
	5%	1.3	3.5	3.5
	1%	5	5	5
<i>Eugenia caryophyllata</i>	50%	5	5	5
	10%	5	5	5
	5%	5	5	5
	1%	5	5	5
<i>Satureja montana</i>	50%	5	5	5
	10%	5	5	5
	5%	5	5	5
	1%	5	5	5
<i>Origanum vulgare</i>	50%	5	5	5
	10%	5	5	5
	5%	5	5	5
	1%	5	5	5
Preventol® MP 100	0.25%	0	0	0
Kontrolle Filterpapier		5	5	5
Kontrolle Nährboden		5	5	5



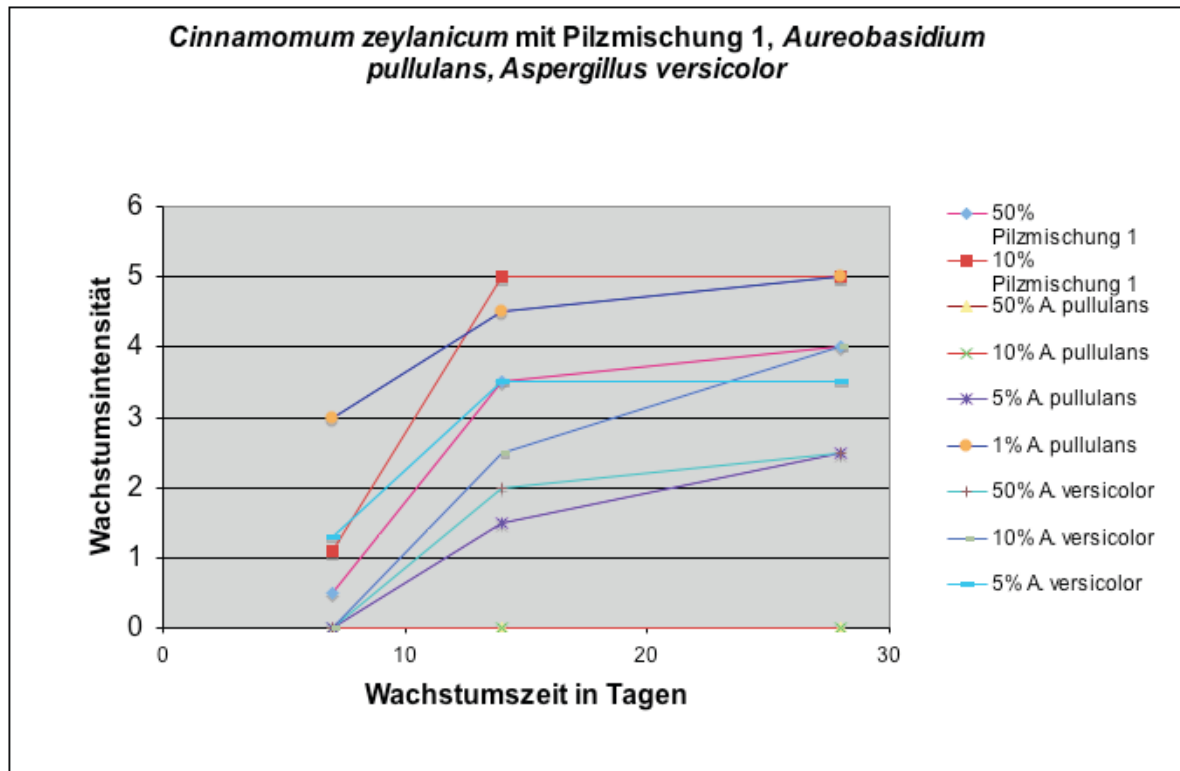


Abb. 14. Wachstumsintensität der verschiedenen Prüfpilze auf *Cinnamomum zeylanicum* behandelten und hitzegealterten Filterpapierrondellen in Abhängigkeit der Essenzkonzentrationen und der Versuchsdauer

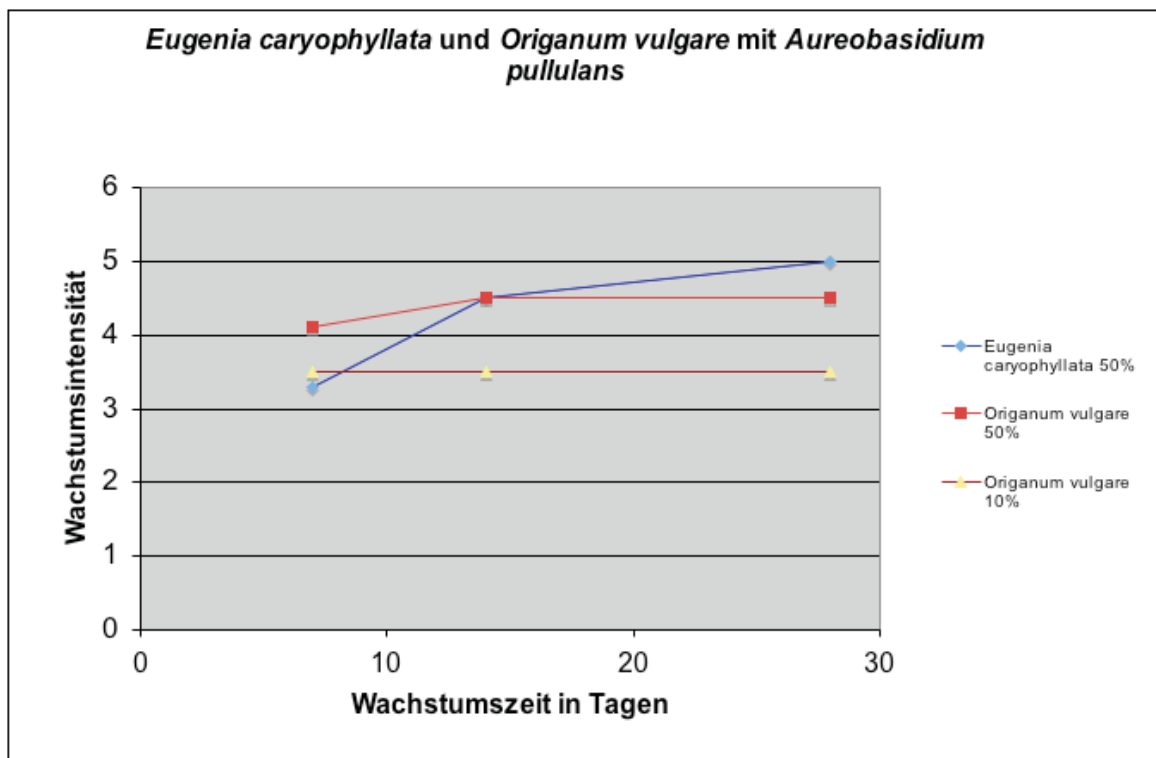


Abb. 15. Vergleich des Wachstumsverhaltens von *Aureobasidium pullulans* auf *Eugenia caryophyllata* und *Origanum vulgare* behandelten und hitzegealterten Filterpapierrondellen in Abhängigkeit der Essenzkonzentrationen und Versuchsdauer



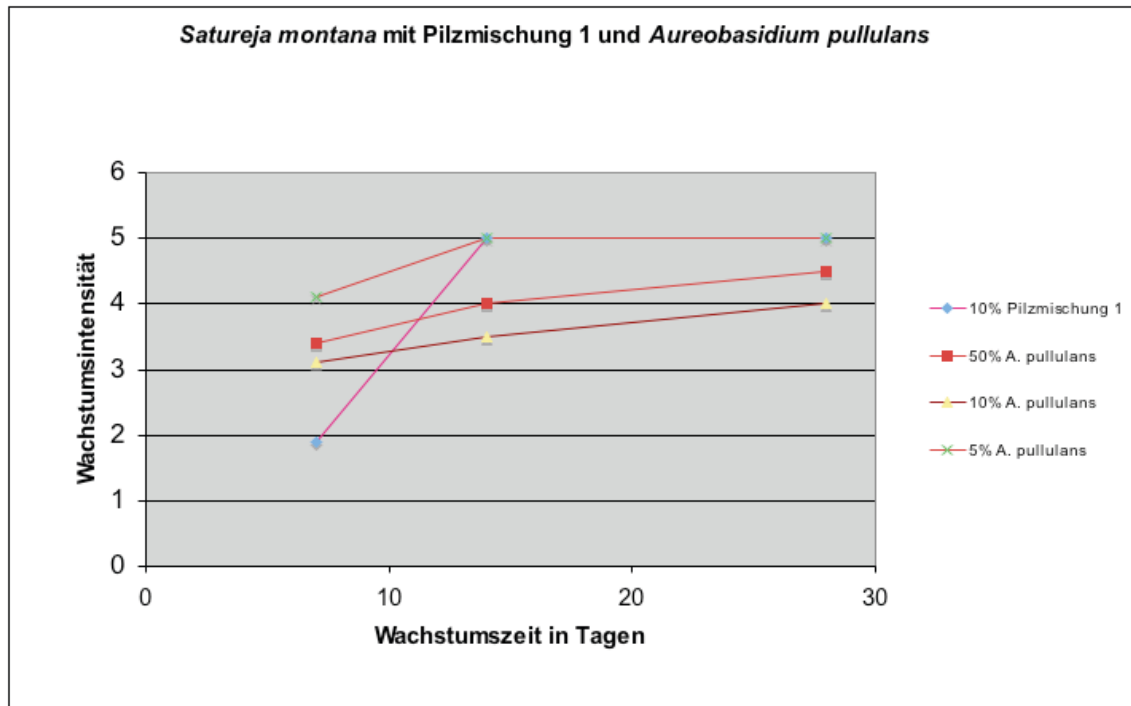


Abb. 16. Vergleich der Pilzbewachstumsintensität auf *Satureja montana* behandelten und hitzegealterten Filterpapierrondellen während 28 Tagen Inkubationszeit in Abhängigkeit der Prüfpilze und der Essenzkonzentrationen



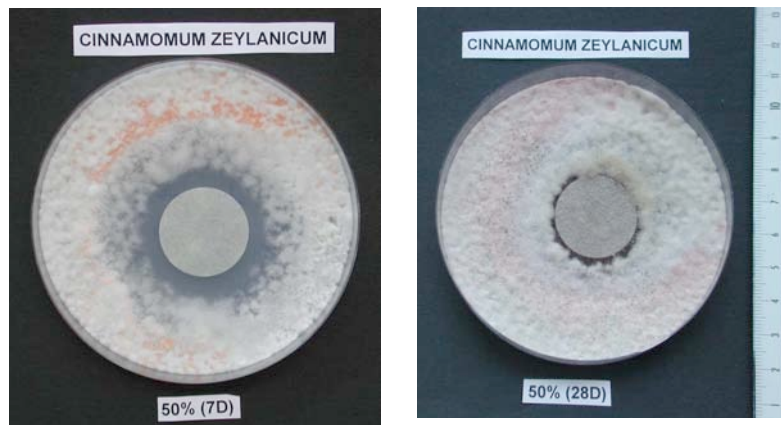


Abb. 17 und 18. Agardiffusionstest mit Filterpapierrondellen, die mit 50%-iger Konzentrationen von *Cinnamomum zeylanicum* imprägniert und mit Hitze gealtert worden sind. Prüfpilze der Pilzmischung 1, Ansicht nach sieben und 28 Tagen

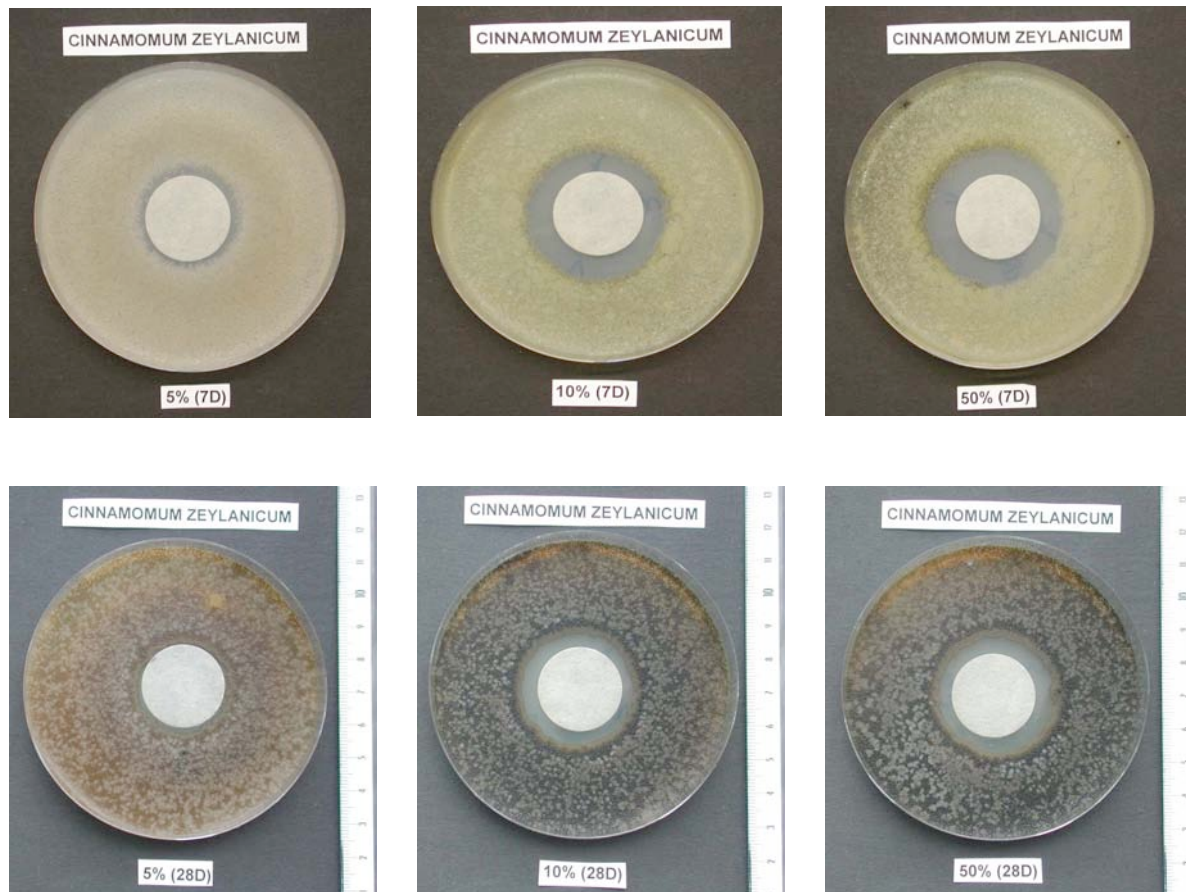


Abb. 19 bis 24. Agardiffusionstest mit Filterpapierrondellen, die mit 5%-, 10%- und 50%-igen Konzentrationen von *Cinnamomum zeylanicum* imprägniert und mit Hitze gealtert worden sind. Prüfpilz *Aureobasidium pullulans*, Ansicht nach sieben und 28 Tagen



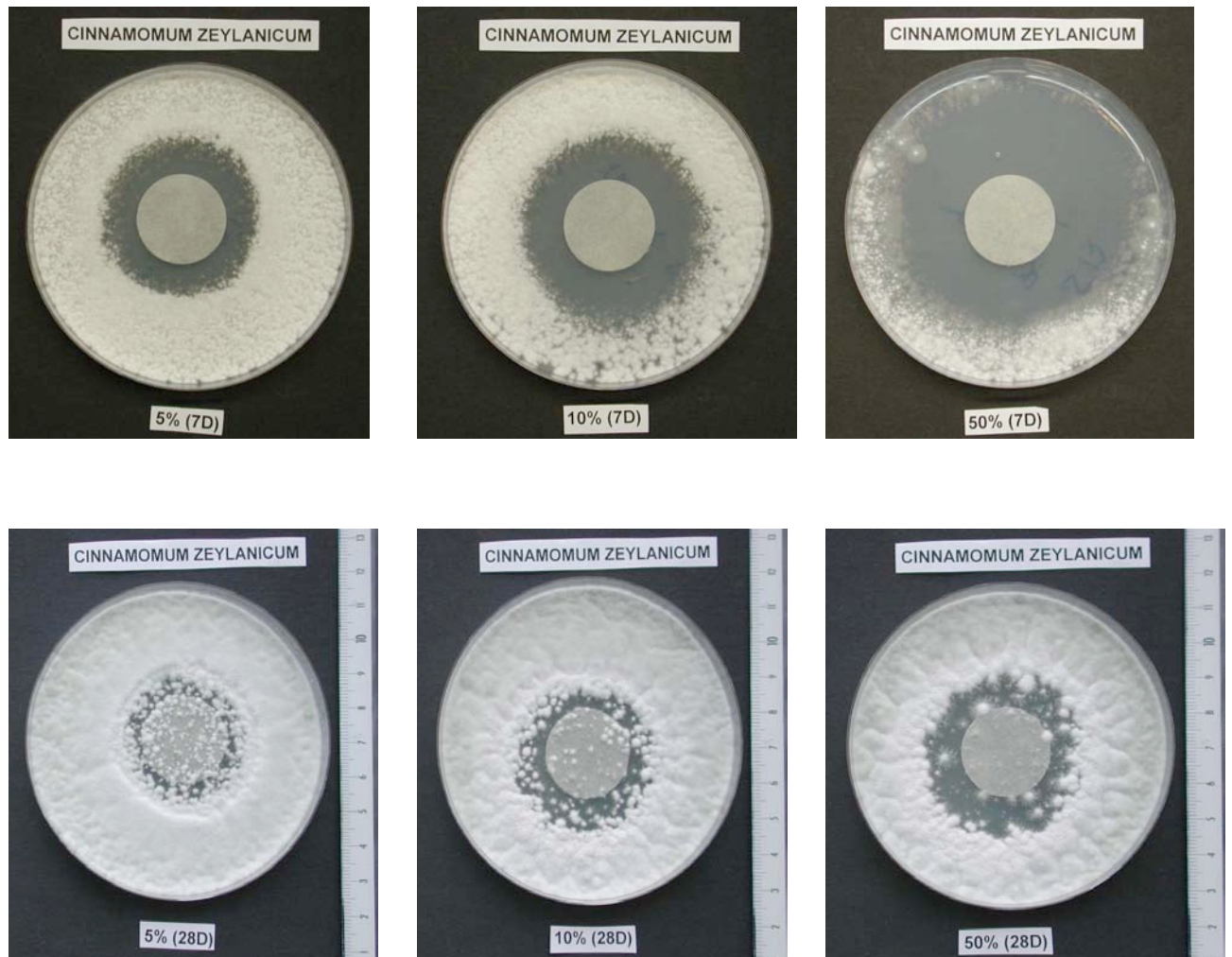


Abb. 25 bis 30. Agardiffusionstest mit Filterpapierrondellen, die mit 5%-, 10%- und 50%-igen Konzentrationen von *Cinnamomum zeylanicum* imprägniert und mit Hitze gealtert worden sind. Prüfpilz *Aspergillus versicolor*, Ansicht nach sieben und 28 Tagen



### Experiment 2: Agardiffusionstest zur Bestimmung der antimykotischen Wirkung ätherischer Öle nach der Hitzealterung in offenen und geschlossenen Behältern

Die in offenen Behältern gealterten Öle und behandelten Proben zeigten nach sieben Tagen starkes Wachstum bei den Konzentrationen 1% und 5%. Die mit den hohen Konzentrationen versehenen Proben waren nach sieben Tagen von keinem Wachstum betroffen und zeigten Hemmhöfe von 3 bis 15 mm auf. Das Wachstum verstärkte sich zusehends, bis nach 56 Tagen nur noch die mit *Cinnamomum zeylanicum* (50%) behandelten Proben keinen vollständigen Schimmelpilzbewuchs aufzeigten (vgl. Tab. 16).

Für die in geschlossenen Behältern gealterten Öle galt derselbe Wachstumsverlauf. Bei den höheren Konzentrationen zeigte sich noch kein Wachstum. Später (nach achtwöchiger Inkubationszeit) verzeichnete *Origanum vulgare* (50%) als einzige Prüfsubstanz eine antimykotische oder hemmende Wirkung gegen Schimmelpilzwachstum (vgl. Tab. 17).

Die Resultate des Pilzwachstums, respektive die hemmende Wirkung, zeigten nur einen schwachen bis kaum merklichen Unterschied zwischen den in geschlossenen und den in offenen Behältern gealterten Substanzen auf (vgl. Abb. 31-34). Die in offenen Behältern gealterten Öle verzögerten das Pilzwachstum nur leicht. Ausnahme war das im geschlossenen Behälter gealterte Öl *Origanum vulgare* in Konzentration von 50%. Es zeigte zu Beginn keinen und im weiteren Verlauf der Inkubationszeit nur schwachen Bewuchs (vgl. Abb. 35-38).



Tab. 16. Wachstumsintensität (WI) der Pilzmischung 2 im Agardiffusionstest auf ölimprägniertem Filterpapier zur Untersuchung antimykotischer Wirkung der in offenen Behältern mit Hitze gealterten ätherischen Ölen, nach sieben bis 56 Tagen

Substrat	Konzentration	WI 7 Tage	WI 14 Tage	WI 28 Tage	WI 35 Tage	WI 56 Tage
<i>Cinnamomum zeylanicum</i>	50%	0	0	2.5	3	4.6
	10%	0	2.4	5	5	5
	5%	1	5	5	5	5
	1%	5	5	5	5	5
<i>Eugenia caryophyllata</i>	50%	0	1.6	2	4	5
	10%	5	5	5	5	5
	5%	5	5	5	5	5
	1%	5	5	5	5	5
<i>Satureja montana</i>	50%	0	0.5	1.3	2.9	5
	10%	1.8	4	5	5	5
	5%	1.8	4.5	5	5	5
	1%	5	5	5	5	5
<i>Origanum vulgare</i>	50%	4.5	5	5	5	5
	10%	2	5	5	5	5
	5%	4.4	5	5	5	5
	1%	5	5	5	5	5
Kontrolle Nährboden		5	5	5	5	5

Tab. 17. Wachstumsintensität (WI) der Pilzmischung 2 im Agardiffusionstest auf ölimprägniertem Filterpapier zur Untersuchung antimykotischer Wirkung der in geschlossenen Behältern mit Hitze gealterten ätherischen Ölen, nach sieben bis 56 Tagen

Substrat	Konzentration	WI 7 Tage	WI 14 Tage	WI 28 Tage	WI 35 Tage	WI 56 Tage
<i>Cinnamomum zeylanicum</i>	50%	0	2	3.3	5	5
	10%	0	5	5	5	5
	5%	1	5	5	5	5
	1%	5	5	5	5	5
<i>Eugenia caryophyllata</i>	50%	1	2	4.5	5	5
	10%	5	5	5	5	5
	5%	5	5	5	5	5
	1%	5	5	5	5	5
<i>Satureja montana</i>	50%	2.1	2.3	5	5	5
	10%	2.4	3.5	5	5	5



## II. EXPERIMENTELLER TEIL

---

	5%	3.4	5	5	5	5
	1%	5	5	5	5	5
<i>Origanum vulgare</i>	50%	0	0	1.5	1.8	1.8
	10%	3.1	5	5	5	5
	5%	3.9	5	5	5	5
	1%	5	5	5	5	5
Kontrolle Nährboden		5	5	5	5	5



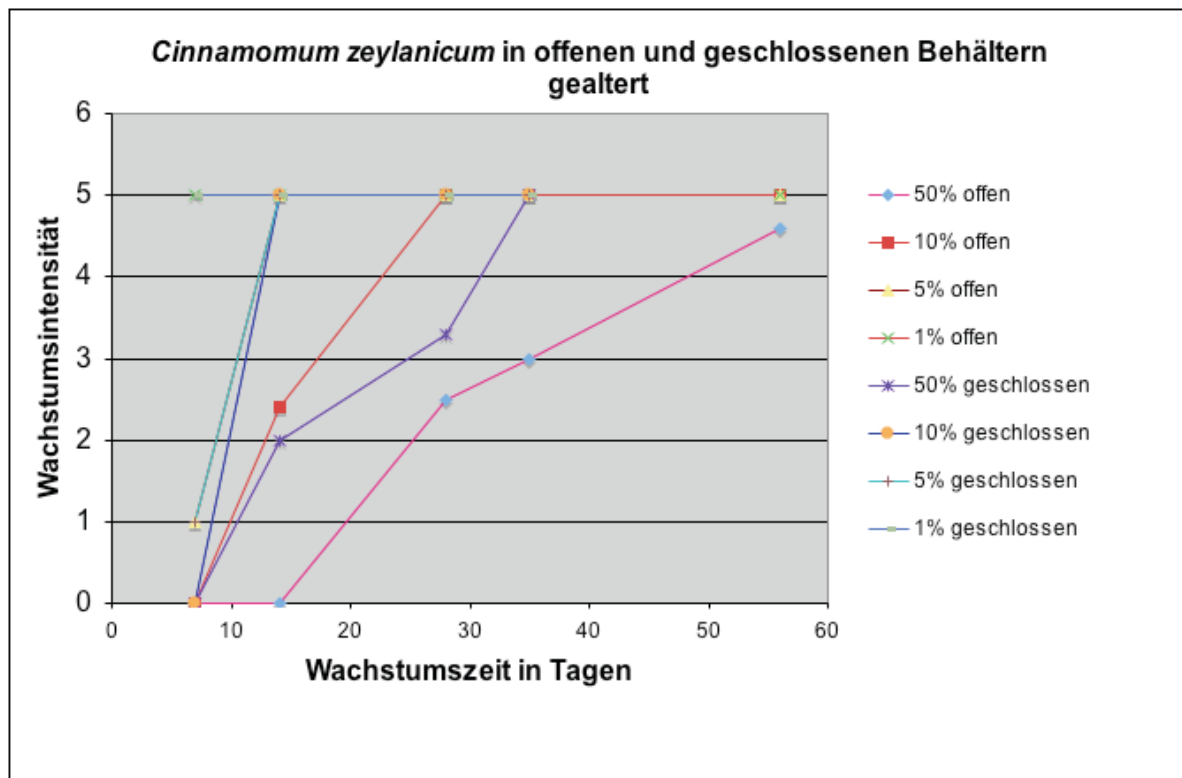


Abb. 31. Vergleich der Wachstumsintensität der Pilzmischung 2 auf Filterpapierrondellen und dem mit Hitze gealtertem Öl *Cinnamomum zeylanicum*

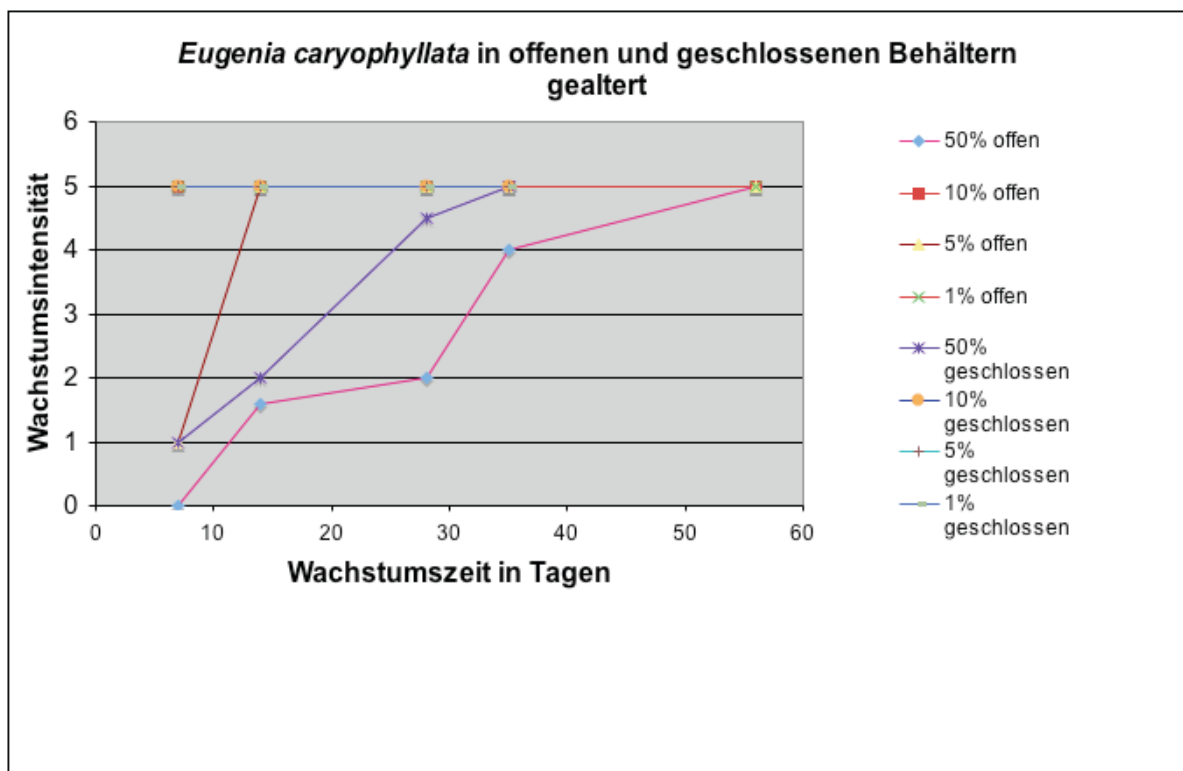


Abb. 32. Vergleich der Wachstumsintensität der Pilzmischung 2 auf Filterpapierrondellen und dem mit Hitze gealtertem Öl *Eugenia caryophyllata*



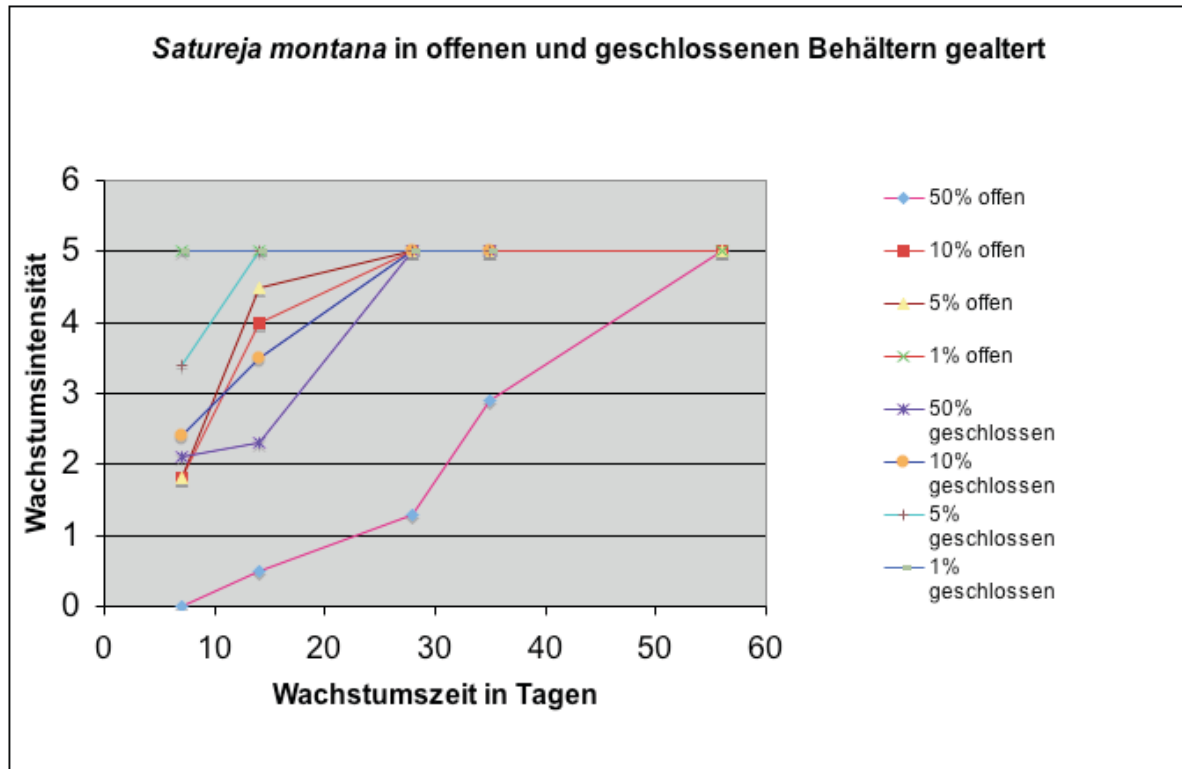


Abb. 33. Vergleich der Wachstumsintensität der Pilzmischung 2 auf Filterpapierrondellen und dem mit Hitze gealtertem Öl *Satureja montana*

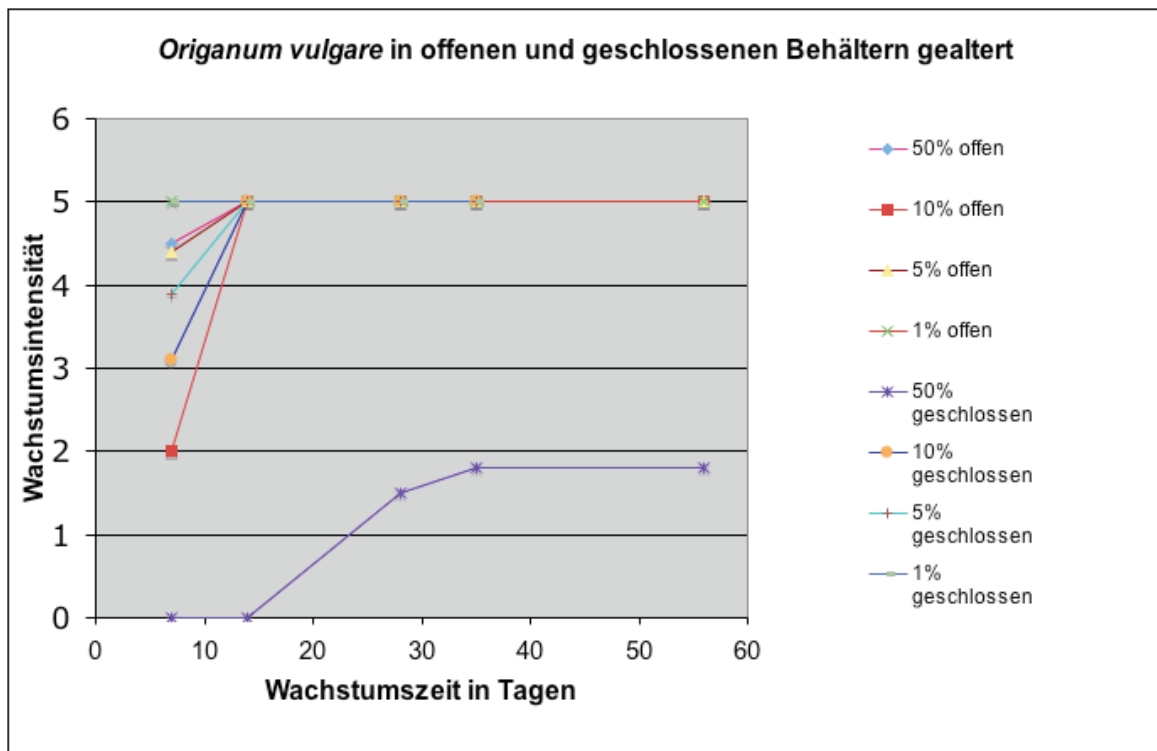


Abb. 34. Vergleich der Wachstumsintensität der Pilzmischung 2 auf Filterpapierrondellen und dem mit Hitze gealtertem Öl *Origanum vulgare*



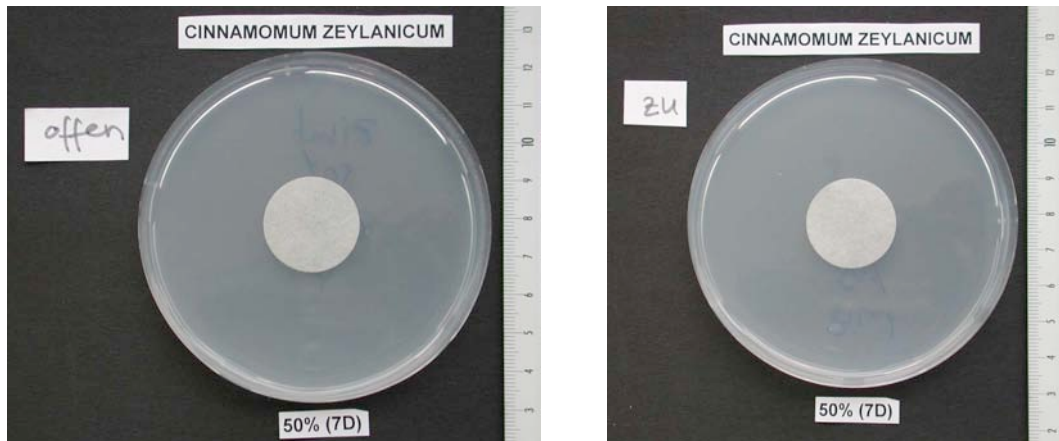


Abb. 35 und 36. Das in offenem und geschlossenem Behälter gealterte Öl Cinnamomum zeylanicum in einer Konzentration von 50% nach dem Auftragen auf Filterpapier und der Beimpfung mit der Pilzmischung 2 im Agardiffusionstest nach einwöchiger Inkubationszeit

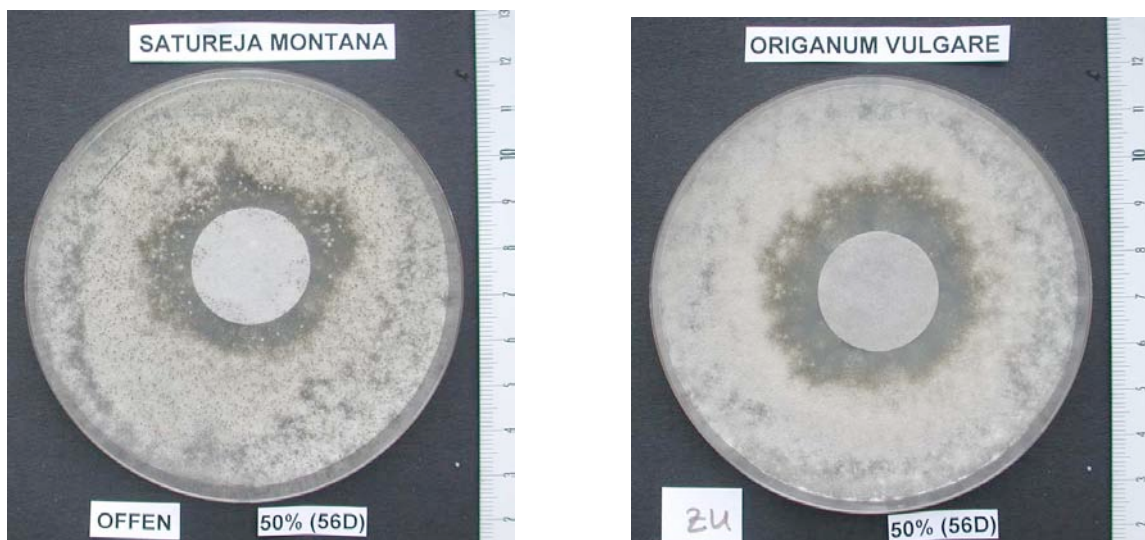
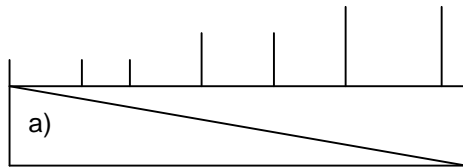


Abb. 37 und 38. Die in offenen und geschlossenen Behältern gealterten Öle Satureja montana und Origanum vulgare in einer Konzentration von 50% nach dem Auftragen auf Filterpapier und der Beimpfung mit der Pilzmischung 2 im Agardiffusionstest nach achtwöchiger Inkubationszeit

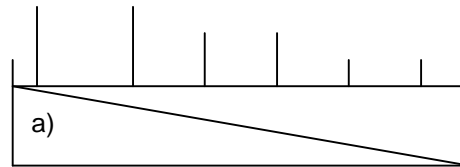


### Experiment 3: Bewuchsversuch auf unvollständigem Agarnährboden zur Untersuchung der Nahrungseignung ätherischer Öle

Es gibt zwei Möglichkeiten zum Verlauf des Bewuchses:



1) Die Prüfsubstanz stellt keine geeignete Nahrung für den Pilz dar und wirkt ebenfalls hemmend für den "Schimmelpilz".



2) Die Prüfsubstanz stellt geeignete Nahrung für den Pilz dar, und somit verstärkt sich das Wachstum nahe dem ölhaltigen Medium.

a) 1% ätherisches Öl im Agarmedium

Nach sechs Wochen konnte noch immer kein Wachstum auf den Proben festgestellt werden (Wachstumsintensität 0). Hingegen waren so genannte „Fettaugen“ der ätherischen Öle an der Oberfläche des Agarnährbodens aufgetreten. Diese konnten das Wachstum der Schimmelpilze hemmen. Obschon die Öle vor deren Beifügen in den Agar in Ethanol gelöst worden waren, blieb diese resultierende Mischung nicht stabil, und die Öle erschienen als Öltropfen im Agar und an der Agaroberfläche. Somit dienten diese Öle in diesem Test nicht als Nahrung. In den parallel laufenden Kontrollversuchen des Bewuchses auf Agarnährmedium ISO 846 B (Kontrolle ob Pilze überhaupt wachsen oder nicht) konnte jedoch Bewuchs festgestellt werden, wie dies die Abb. 39 bis 42 zeigen.

Ob die Substanzen Nahrung für die Prüfpilze darstellen, muss in einem weiteren Verfahren auf Agarnährmedium ISO 846 Methode A erneut getestet werden.





*Aspergillus niger*



*Trichoderma virens*



*Paecilomyces variotii*



*Chaetomium globosum*

Abb. 39 bis 42. Wachstum der vier verschiedenen Schimmelpilzarten auf Agarnährmedium ISO 846 B



### Experiment 4: Bewuchsversuch auf Holzproben zur Bestimmung der antimykotischen Wirkung ätherischer Öle nach den drei künstlichen Alterungen

**Standardalterung:** Nach bereits 14 Tagen konnte auf allen Fichten- sowie Eichenholzproben Wachstum festgestellt werden (vgl. Tab. 18 und 19). Auf den **Fichtenholzproben** variierte die Wachstumsintensität zwischen 0.3 und 3. Die mit der Referenzsubstanz Preventol® MP 100 gealterten und behandelten Proben waren nach derselben Zeit von keinem Wachstum betroffen. Mit Ausnahme der mit *Cinnamomum zeylanicum* behandelten Proben entwickelte sich das Wachstum der Pilze (starkes Wachstum von *Penicillium pinophilum*, *Aureobasidium pullulans* und *Aspergillus niger*, vgl. Abb. 45 und 46) auf Fichtenholzproben konzentrationsabhängig: je höher die Konzentration, desto schwächer das Wachstum. Nur das eben erwähnte ätherische Öl zeigte bei 10% die beste Wirkung. Kontinuierlich verstärkte sich das Pilzwachstum auf allen Proben, und nach 91 Tagen erlangten alle Holzproben einen vollständigen Schimmelpilzbewuchs (vgl. Abb. 47 bis 54).

Der Schimmelpilzbewuchs auf den **Eichenholzproben** war nach 14 Tagen bereits weiter fortgeschritten als auf den Fichtenholzproben. Die mit *Cinnamomum zeylanicum* (vgl. Abb. 43 und 44) und *Satureja montana* 1% behandelten Holzproben waren bereits vollständig bewachsen. Die übrigen Substanzen und deren Konzentrationen zeigten ebenfalls eine Anfälligkeit gegenüber Schimmelpilzen, und die gemittelte Wachstumsintensität betrug Werte zwischen 1 und 4.4. Nur die mit Preventol® MP 100 behandelten Holzproben waren von einem schwachen Pilzwachstum betroffen.

Nach 10 Wochen Inkubationszeit waren alle mit ätherischen Ölen behandelten Proben vollständig mit Schimmelpilzen bewachsen, und die Testserie wurde beendet.

**Hitzealterung:** Im Vergleich der Resultate zur Hitzealterung im Agardiffusionstest wies die gemittelte Wachstumsintensität der Prüfpilze auf **Fichtenholz** nach zwei Wochen einen stärkeren Bewuchs auf. Die Werte lagen zwischen 1 (mit *Cinnamomum zeylanicum* 50% behandelte Proben) und 5 (mit *Eugenia caryophyllata* 10%, 5%, 1% behandelte Proben). Wie bereits auf den Fichtenholzproben war auch auf den Eichenholzproben das Pilzwachstum konzentrationsabhängig. Mit 50% Konzentration war eine geringere Anfälligkeit gegenüber dem Wachstum zu verzeichnen als mit 1% Konzentration. Ausnahmen waren jedoch die mit *Origanum vulgare* behandelten Proben, die geringste Anfälligkeit gegenüber dem Schimmelpilzwachstum lag bei 10%. Nach 112 Tagen waren alle mit ätherischen Ölen behandelten Fichtenholzproben vollständig bewachsen, und die Testserie wurde beendet.

Der Bewuchs auf den **Eichenholzproben** entwickelte sich deutlich schneller. Die gemittelte Wachstumsintensität betrug nach 14 Tagen Werte zwischen 3.3 und 5. Nach 28 Tagen waren bereits alle Proben von Schimmelpilzwachstum vollständig betroffen, und die Testserie war beendet.

**Feuchtalterung:** Bereits nach 14 Tagen waren einzelne mit Prüfsubstanzen behandelte **Fichtenholzproben** vollständig bewachsen. Diese Substanzen (*Satureja montana* 1%, 5%; *Eugenia caryophyllata* 5%; *Origanum vulgare* 10%) zeigten keine Bewuchsverhinderung, und die gemittelten Werte zur Beurteilung waren 4.9-5. Die mit den übrigen Substanzen behandelten Proben waren nur teilweise von Wachstum betroffen und



hatten Werte zwischen 0.3 und 4.6. Nach 21 Tagen stagnierte das Wachstum, bis es sich in der 4. Woche weiterentwickelte und nach 105 Tagen auch die letzten Proben vollständig bewachsen waren.

Auf den **Eichenholzproben** entwickelte sich das Wachstum erneut schneller. Nach 14 Tagen erreichten einzelne Proben der Prüfsubstanzen eine Wachstumsintensität von 5 (*Cinnamomum zeylanicum* 1% und 5%; *Eugenia caryophyllata* 1% bis 50%; *Satureja montana* 1% bis 10%; *Origanum vulgare* 1% bis 10%). Nach 28 Tagen waren nur die Proben mit *Cinnamomum zeylanicum* teils unbewachsen. Nach 77 Tagen waren jedoch alle Proben von einem vollständigen Schimmelpilzbewuchs betroffen, und die Testserie wurde beendet.



Tab. 18. Wachstumsintensität (WI) der Pilzmischung 2 auf Fichtenholzproben nach 14 bis 91 Tagen Versuchsdauer in der Feuchtkammer. Untersucht wurden die verschiedenen Essenzen und Dosierungen nach der Standardalterung

Substrat	Konzentration	WI 14 Tage	WI 21 Tage	WI 28 Tage	WI 42 Tage	WI 56 Tage	WI 70 Tage	WI 91 Tage
<i>Cinnamomum zeylanicum</i>	50%	1.5	2.5	2.1	3.9	4.1	4.8	5
	10%	0.3	1	2	4.8	4.9	5	5
	5%	1	2.6	4.4	5	5	5	5
	1%	2	4.6	5	5	5	5	5
<i>Eugenia caryophyllata</i>	50%	1.5	2.4	3	4.8	5	5	5
	10%	1.8	3	4.3	5	5	5	5
	5%	2.3	4.5	5	5	5	5	5
	1%	3	4.5	5	5	5	5	5
<i>Satureja montana</i>	50%	0.5	1	2	4.5	4.6	5	5
	10%	1.3	2	3	5	5	5	5
	5%	1.8	3.5	4.5	5	5	5	5
	1%	3	4.5	5	5	5	5	5
<i>Origanum vulgare</i>	50%	0.3	1.3	1.5	3.5	4	5	5
	10%	1.5	3	3.4	5	5	5	5
	5%	2	3.5	4.6	5	5	5	5
	1%	2.5	4.3	5	5	5	5	5
Preventol® MP 100	0.25%	0	0	1	1	1	1	1.1
Kontrolle Nährboden		5	5	5	5	5	5	5

Tab. 19. Wachstumsintensität (WI) der Pilzmischung 2 auf Eichenholzproben nach 14 bis 70 Tagen Versuchsdauer in der Feuchtkammer. Untersucht wurden die verschiedenen Essenzen und Dosierungen nach der Standardalterung

Substrat	Konzentration	WI 14 Tage	WI 21 Tage	WI 28 Tage	WI 42 Tage	WI 56 Tage	WI 70 Tage
<i>Cinnamomum zeylanicum</i>	50%	1.5	1.6	2.5	4.4	4.6	5
	10%	1.3	2	4.8	5	5	5
	5%	3.3	4.8	5	5	5	5
	1%	5	5	5	5	5	5
<i>Eugenia caryophyllata</i>	50%	1.3	1.3	3.3	5	5	5
	10%	1.3	2.1	3.6	5	5	5
	5%	2	4	4.8	5	5	5



	1%	4	4.9	5	5	5	5
<i>Satureja montana</i>	50%	1.3	2	2.3	5	5	5
	10%	1	1.3	2.4	5	5	5
	5%	2.4	4	4.9	5	5	5
	1%	5	5	5	5	5	5
<i>Origanum vulgare</i>	50%	1.8	1.3	3.3	4.6	4.8	5
	10%	1.3	2.1	2.2	5	5	5
	5%	1	4	3.9	5	5	5
	1%	4.4	5	5	5	5	5
Preventol® MP 100	0.25%	0	1	1	1	1	1
Kontrolle Nährboden		5	5	5	5	5	5



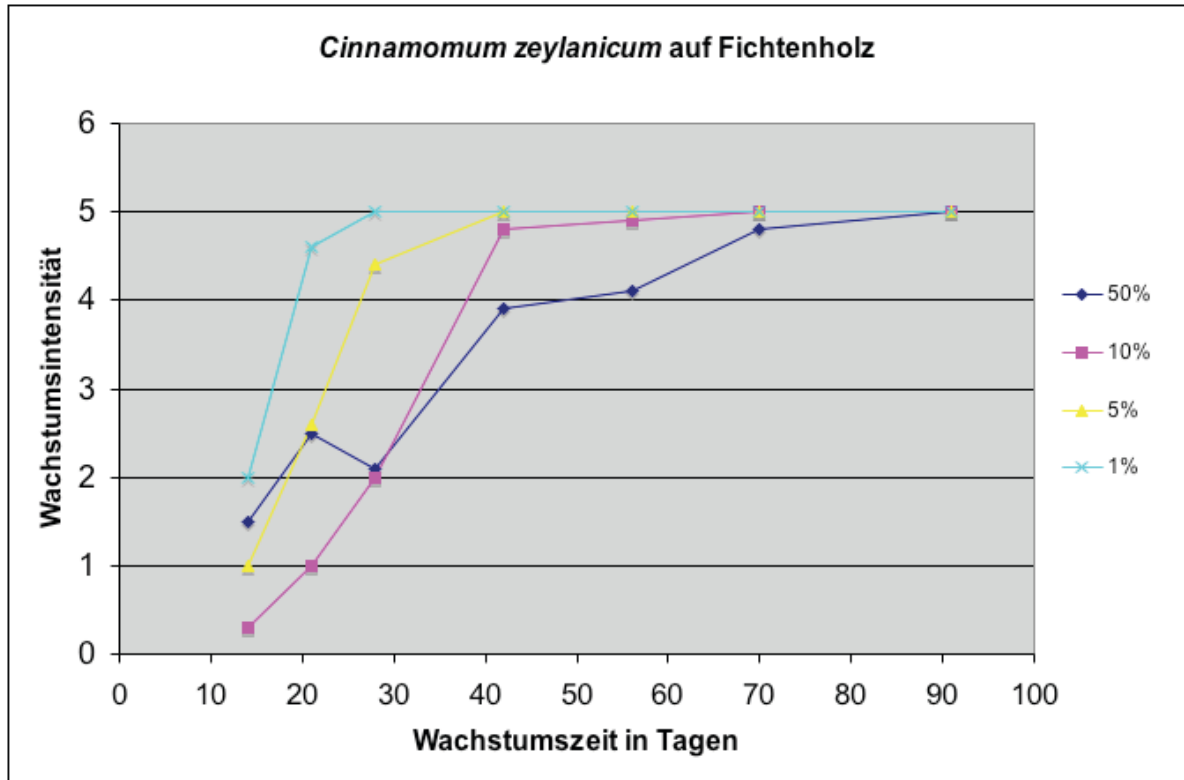


Abb. 43. Vergleich der Wachstumsintensität der Pilzmischung 2 und der verschiedenen Dosierungen mit Standard gealtertem Öl *Cinnamomum zeylanicum* auf behandeltem Fichtenholz

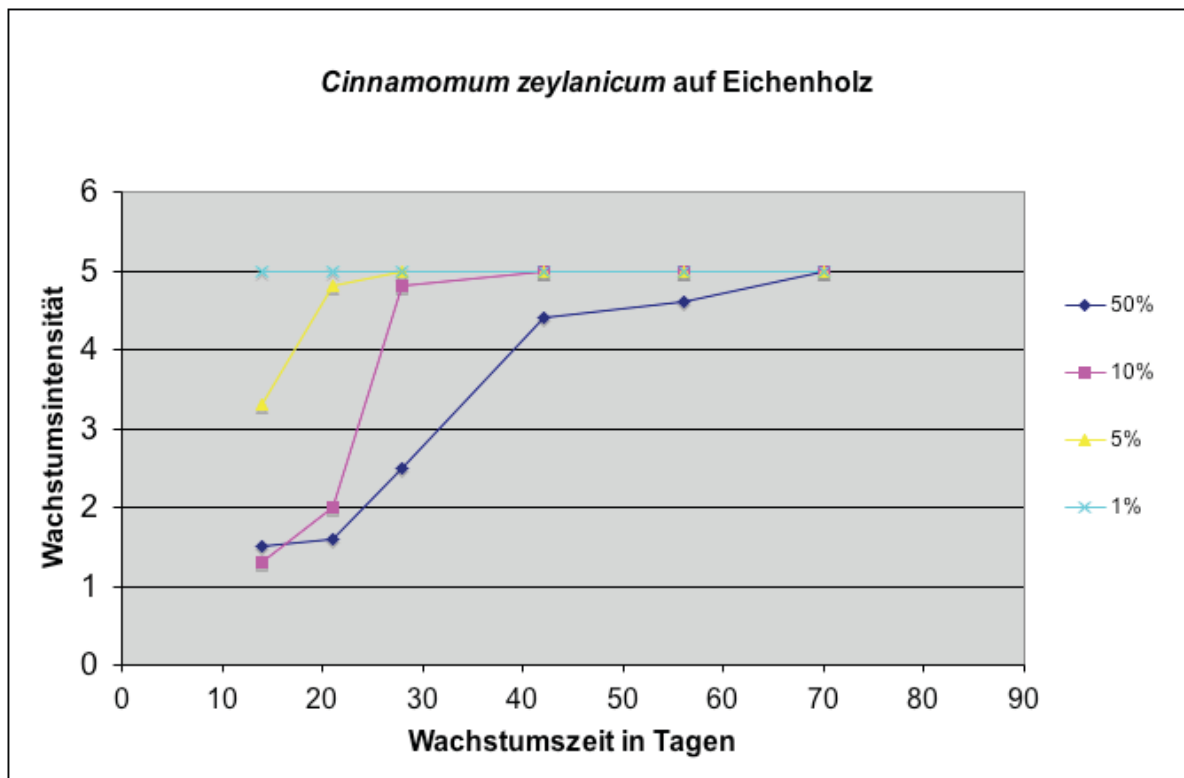


Abb. 44. Vergleich der Wachstumsintensität der Pilzmischung 2 und der verschiedenen Dosierungen mit Standard gealtertem Öl *Cinnamomum zeylanicum* auf behandeltem Eichenholz



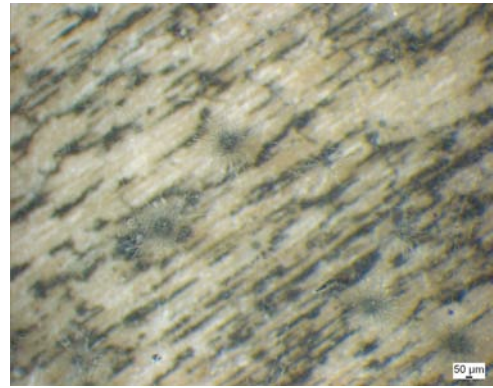


Abb. 45 und 46. Sporenträger von *Penicillium pinophilum* (links); Wachstum von *Aureobasidium pullulans* unter der Oberfläche in den Holzzellen (rechts)

Abb. 47 bis 50. Die mit *Eugenia caryophyllata* behandelten Fichtenholzproben mit den Konzentrationen 50% bis 1% nach der Standardalterung und 13-wöchiger Inkubationszeit

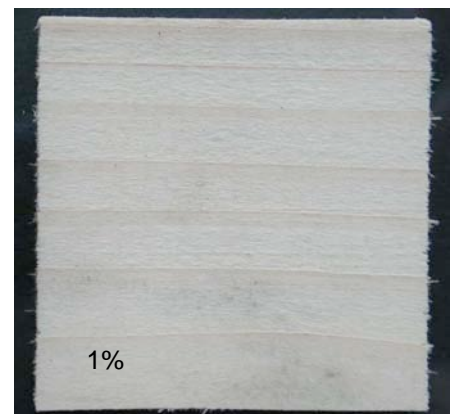
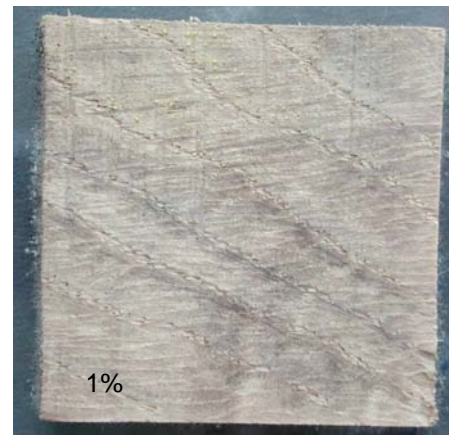




Abb. 51 bis 54: Die mit *Eugenia caryophyllata* behandelten Eichenholzproben mit den Konzentrationen 50% bis 1% nach der Standardalterung und dreizehnwöchiger Inkubationszeit





### Experiment 5 und 6: Bewuchsversuch auf Holzproben zur Bestimmung der antimykotischen Wirkung ätherischer Öle durch Auftragen nach einer mechanischen Reinigung und in Glaswannen durch einen Dampfphasentest (ohne Alterungen)

Zwei Wochen nach der Reinigung der verschimmelten Proben und dem Auftragen der ätherischen Öle konnte auf allen Holzproben wieder Bewuchs festgestellt werden. Die gemittelte Wachstumsintensität auf **Fichtenholzproben** konnte zwischen 1 und 2.4 bestimmt werden. Die mit Preventol® MP 100 behandelten Proben waren von einem schwachen Myzelwachstum betroffen, welches nur unter dem Mikroskop sichtbar war. Nach 14 Tagen war auch auf den **Eichenholzproben** Wachstum feststellbar, was zu einer Wachstumsintensität zwischen 1.9 und 4.4 führte (vgl. Tab. 20 und 21).

Nach 21 Tagen blieben die Ergebnisse aller Fichten- und Eichenholzproben unverändert, ein erneuter Wachstumsschub wurde erst nach 28 Tagen festgestellt. Das Wachstum der Schimmelpilze auf den Fichtenholzproben verlief jedoch langsamer als auf den Eichenholzproben. Erneut blieb das Wachstum nach 56 Tagen auf Fichtenholz stagnierend. Die Werte der Wachstumsintensität lagen zwischen 2 und 3. Der Bewuchs der Eichenholzproben nahm hingegen stetig zu: Die Werte lagen zwischen 3.5 und 4.9.

Nach 112 Tagen waren zwar noch nicht alle Proben vollständig bewachsen, aber aufgrund des Wachstumsverlaufs war absehbar, dass sich die Schimmelpilze weiter ausbreiten würden, und die Testserie wurde beendet (vgl. Abb. 55 bis 58).



Tab. 20. Wachstumsintensität (WI) der Pilzmischung 1 im Bewuchsversuch auf Fichtenholzproben zur Untersuchung antimykotischer Wirkung ätherischer Öle mit vorheriger Reinigung und Behandlung mit verschiedenen Dosierungen der Substanzen, Versuchsdauer 14 bis 112 Tagen

Substrat	Konzentration	WI 14 Tage	WI 21 Tage	WI 28 Tage	WI 42 Tage	WI 56 Tage	WI 70 Tage	WI 91 Tage	WI 112 Tage
<i>Cinnamomum zeylanicum</i>	50%	2.4	2.4	2.9	2.9	2.9	3.6	4	4.8
	10%	2.1	2.1	2.8	2.8	2.8	3.3	3.5	4
	5%	2	2	2.6	2.6	2.6	4.1	4.8	5
	1%	1.8	1.8	2.4	2.4	2.4	3.1	3.9	4.4
<i>Eugenia caryophyllata</i>	50%	1.6	1.6	2.9	2.9	2.9	4	4.8	5
	10%	2.1	2.1	2.9	2.9	2.9	3.8	4.3	4.8
	5%	1.6	1.6	2.6	2.6	2.6	3.6	4.1	4.5
	1%	1.8	1.8	2.6	2.6	2.6	3.4	4.4	4.8
<i>Satureja montana</i>	50%	2	2	2.8	2.8	2.8	4.3	4.9	5
	10%	1	1	2.3	2.3	2.3	3	4	4.5
	5%	1.5	1.5	2.3	2.3	2.3	2.8	3	3.9
	1%	1.8	1.8	2.3	2.3	2.3	3	3.8	4.3
<i>Origanum vulgare</i>	50%	1.3	1.3	2	2	2	3.6	4.4	4.9
	10%	2	2	2.5	2.5	2.5	3	4.3	5
	5%	2	2	2.3	2.3	2.3	3.3	3.8	4.5
	1%	1.9	1.9	2.1	2.1	2.1	2.5	2.9	3.4
Preventol® MP 100	0.25%	1	1	1.8	1.8	1.8	2.5	3.3	3.3
Kontrolle Nährboden		4.5	4.5	5	5	5	5	5	5

Tab. 21. Wachstumsintensität (WI) der Pilzmischung 1 im Bewuchsversuch auf Eichenholzproben zur Untersuchung antimykotischer Wirkung ätherischer Öle mit vorheriger Reinigung und Behandlung mit verschiedenen Dosierungen der Substanzen, Versuchsdauer 14 bis 112 Tagen

Substrat	Konzentration	WI 14 Tage	WI 21 Tage	WI 28 Tage	WI 42 Tage	WI 56 Tage	WI 70 Tage	WI 91 Tage	WI 112 Tage
<i>Cinnamomum zeylanicum</i>	50%	3.5	3.5	4.1	4.6	4.9	5	5	5
	10%	2.9	2.9	3.3	3.9	4.4	4.5	4.6	4.9
	5%	3.1	3.1	3.5	3.9	4.6	4.9	5	5
	1%	1.9	1.9	3.9	4	4.3	4.5	4.8	5
<i>Eugenia caryophyllata</i>	50%	3	3	4.4	4.6	4.8	4.8	5	5
	10%	1.5	1.5	2.8	3.1	3.5	3.8	4.5	5



	5%	1.5	1.5	3.1	3.4	3.6	3.9	4.3	5
	1%	1.5	1.5	2.6	2.8	3.5	3.9	4.3	4.9
<i>Satureja montana</i>	50%	3.5	3.5	4.3	4.3	4.5	4.6	4.8	5
	10%	2.8	2.8	4.1	4.8	4.9	4.9	5	5
	5%	2.6	2.6	3.9	4	4.5	4.8	4.9	5
	1%	2.8	2.8	3.3	3.3	3.8	3.9	4	5
<i>Origanum vulgare</i>	50%	4.4	4.4	5	5	5	5	5	5
	10%	4	4	5	5	5	5	5	5
	5%	3.8	3.8	4.6	4.5	4.9	5	-	5
	1%	2.1	2.1	3.1	3.3	3.5	3.6	3.9	5
Preventol® MP 100	0.25%	1.5	1.5	1.5	1.9	2.5	3	3	3
Kontrolle Nährboden		4.5	4.5	5	5	5	5	5	5





Abb. 55 und 56. Nach achtwöchiger Vorinkubationszeit in der Feuchtkammer bei 23° C und ca. rLF 95% der Fichten- und Eichenholzproben vor dem Versuch der Reinigung und Auftragen der Prüfsubstanzen



Abb. 57 und 58. Die gereinigte und mit *Cinnamomum zeylanicum* 50% behandelte Fichtenholzprobe nach sechzehnwöchiger Inkubationszeit links, und rechts die mit *Origanum vulgare* 1% behandelte Eichenholzprobe nach gleich langer Inkubationszeit



Im Bewuchsversuch zur Untersuchung der antimykotischen Wirkung ätherischer Öle durch den Dampfphasentest konnte nach 14 Tagen auf allen Holzproben ein Wachstum der Prüfpilze festgestellt werden. Die mit *Eugenia caryophyllata* behandelten **Fichtenholzproben** waren vollständig bewachsen. Sichtbar waren ein gutes Myzelwachstum sowie Myzelwachstum von *Aureobasidium pullulans* und die Sporenbildung von *Aspergillus niger* (vgl. Abb. 61 bis 66). Der Bewuchs der übrigen Proben nahm im Verlaufe der Wochen zu, und nach 91 Tagen waren sämtliche Fichtenholzproben vollständig bewachsen (vgl. Tab. 22).

Nach 14 Tagen waren die mit *Satureja montana* behandelten **Eichenholzproben** grösstenteils bewachsen. Sichtbar waren Myzelwachstum sowie Myzelwachstum von *Aureobasidium pullulans* und Sporulierung von *Aspergillus niger*. Bei den weiteren Proben war eine Wachstumsintensität zwischen 1.5 und 2.5 feststellbar. Der Wachstumsverlauf bei den Eichenholzproben nahm im Vergleich zu den Fichtenholzproben weniger rasch zu (vgl. Tab 23).

In Abb. 67 und 68 steht die Wachstumsintensität der Pilzmischungen 1 und 2 der beiden Experimente 5 und 6 im direkten Vergleich. Beimpft wurden Fichten- sowie Eichenholzproben. Der Unterschied des Pilzwachstums der beiden Versuche auf den verschiedenen Holzarten ist deutlich sichtbar.



Abb. 59 und 60.

*Die luftdicht geschlossenen Wannen zur Lagerung in der Klimakammer bei 23°C*

*Links: Beispiel von Cinnamomum zeylanicum*



Tab. 22. Wachstumsintensität (WI) der Pilzmischung 2 im Bewuchsversuch auf Fichtenholzproben zur Untersuchung antimykotischer Wirkung ätherischer Öle durch den Dampfphasentest, Versuchsdauer 14 bis 91 Tage

Substrat	WI 14 Tage	WI 21 Tage	WI 28 Tage	WI 42 Tage	WI 63 Tage	WI 77 Tage	WI 91 Tage
<i>Cinnamomum zeylanicum</i>	2.5	4.5	5	5	5	5	5
<i>Eugenia caryophyllata</i>	5	5	5	5	5	5	5
<i>Satureja montana</i>	2.5	3	3.5	4.5	5	5	5
<i>Origanum vulgare</i>	2.5	3	3	4	4.5	4.5	5

Tab. 23. Wachstumsintensität (WI) der Pilzmischung 2 im Bewuchsversuch auf Eichenholzproben zur Untersuchung antimykotischer Wirkung ätherischer Öle durch den Dampfphasentest, Versuchsdauer 14 bis 112 Tage

Substrat	WI 14 Tage	WI 21 Tage	WI 28 Tage	WI 42 Tage	WI 63 Tage	WI 77 Tage	WI 91 Tage	WI 105 Tage	WI 112 Tage
<i>Cinnamomum zeylanicum</i>	1.5	1.5	1.5	2	2	2.5	3	3	3
<i>Eugenia caryophyllata</i>	1.5	1.5	2	3	3	3.5	4.5	5	5
<i>Satureja montana</i>	4	4.5	5	5	5	5	5	5	5
<i>Origanum vulgare</i>	2.5	3	3.5	4	5	5	5	5	5



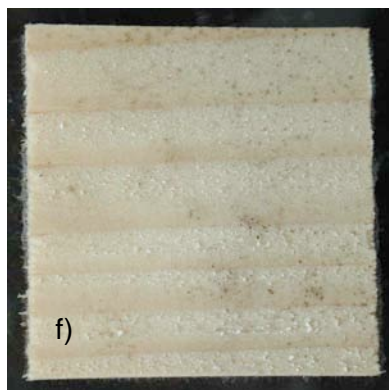
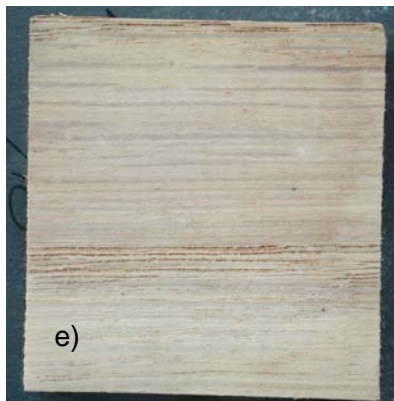
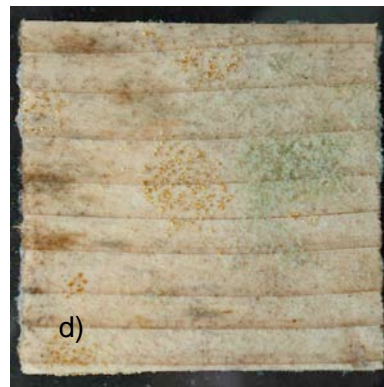
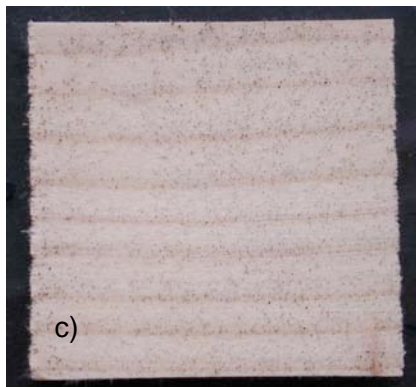
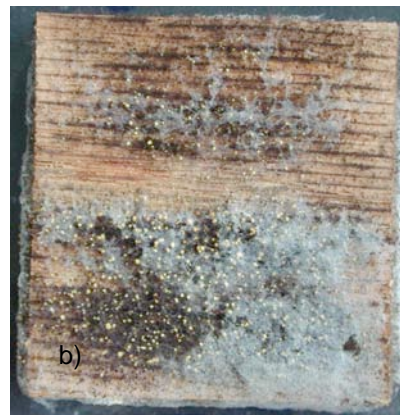
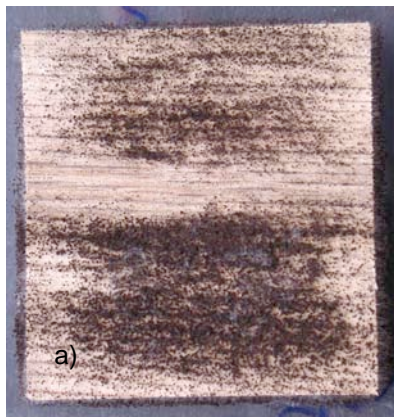


Abb. 61 bis 66. Die bereits verschimmelten Eichenholzprobe (a) und Fichtenholzprobe (c) vor dem Dampfphasentest und dieselben Proben nach 16-wöchiger Inkubationszeit bei 23° C und der in der Wanne enthaltenen Prüfsubstanz *Eugenia caryophyllata* (b und d). Die sterilen Eichen- (e) und Fichtenholzproben (f) nach dem Dampfphasentest mit *Eugenia caryophyllata* und 13- respektive 16-wöchiger Inkubationszeit



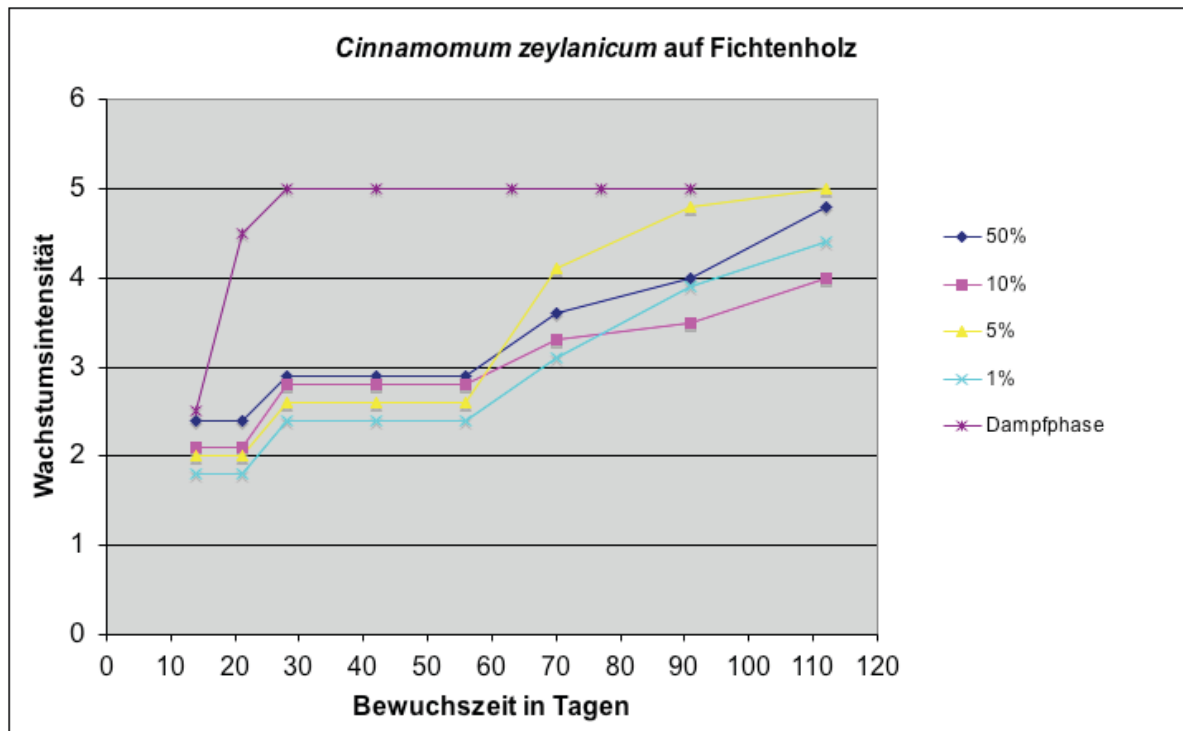


Abb. 67. Vergleich des Pilzwachstums der Pilzmischung 1 auf Fichtenholzproben nach der Reinigung und Auftragen des Öls *Cinnamomum zeylanicum* und nach 16-wöchiger Inkubationszeit, zu den mit Dampfphase behandelten und mit Pilzmischung 2 beimpften Fichtenholzproben nach 13-wöchiger Inkubationszeit

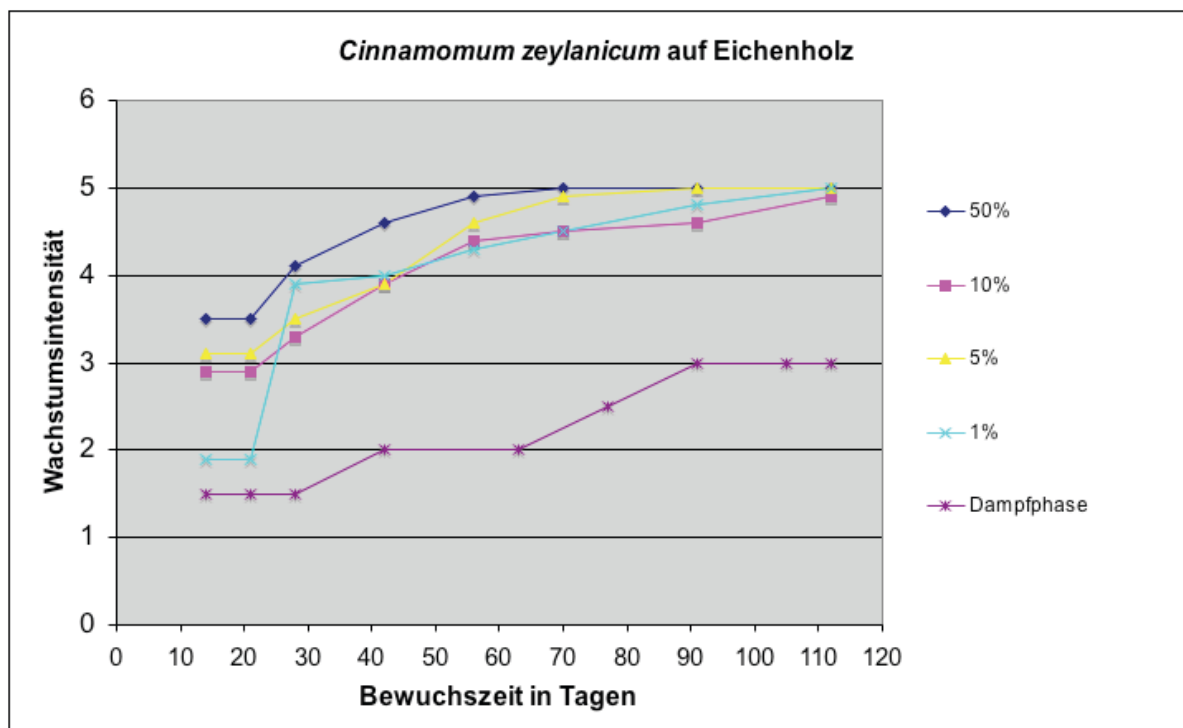


Abb. 68. Vergleich des Pilzwachstums der Pilzmischung 1 auf Eichenholzproben nach der Reinigung und Auftragen des Öls *Cinnamomum zeylanicum* und nach 16-wöchiger Inkubationszeit, zu den mit Dampfphase behandelten und mit Pilzmischung 2 beimpften Eichenholzproben nach 13-wöchiger Inkubationszeit



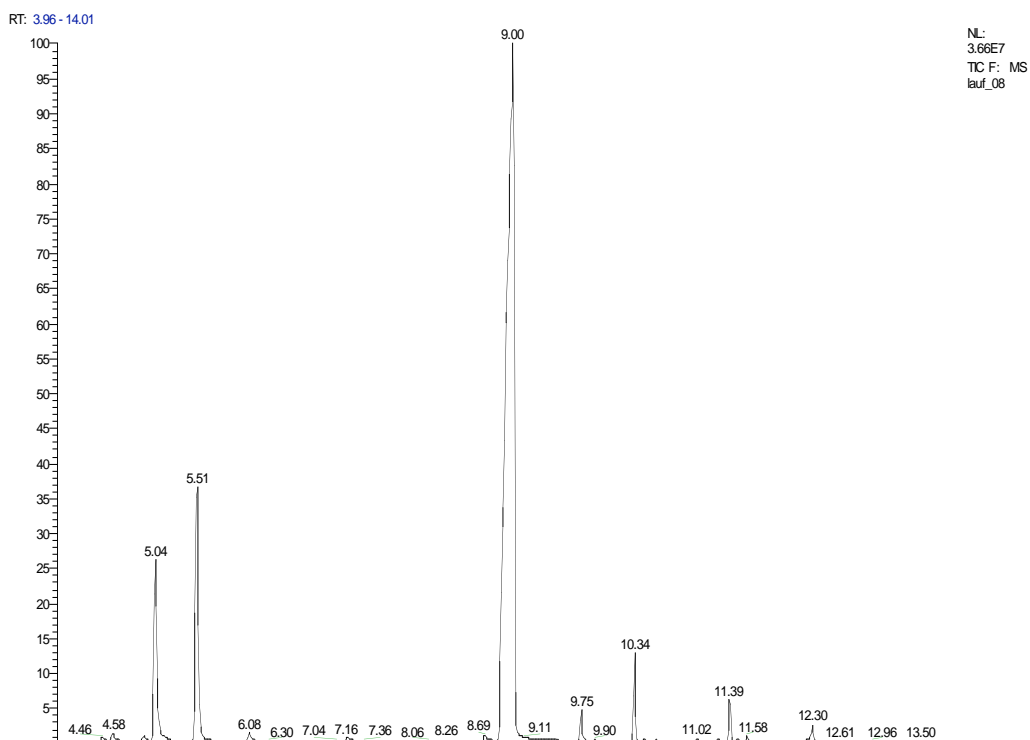
### Experiment 7: Untersuchung der chemischen Zusammensetzung der ätherischen Öle mit GC-MS

Für die Interpretation der Resultate mit GC-MS Analytik ist wichtig zu wissen, dass es sich um einen Vergleich der Massenspektren mit einer Spektrenbibliothek handelt. Dieser Vergleich liefert nur eine mögliche Verbindung oder Verbindungsklasse und keine eindeutige Identifikation der unbekannten Verbindung. Es wurde mit der NIST 05 Bibliothek gearbeitet, welche 190'825 Spektren beinhaltet, davon sind 163'198 als verschiedene chemische Verbindungen identifiziert.

Die verschiedenen Gaschromatogramme und Massenspektren der einzelnen Substanzen konnten Gemeinsamkeiten zwischen den verschiedenen Substanzen und deren chemischen Reaktionen aufzeigen. Die leicht flüchtigen Stoffe traten im Gaschromatogramm der Substanzen nach der thermischen Alterung nur noch als sehr kleine Peaks oder gar nicht mehr auf (Beispiel *Origanum vulgare*). Der Anteil der gebliebenen Inhaltsstoffe hatte sich im Gegenzug verstärkt (Beispiel *Eugenia caryophyllata*, *Cinnamomum zeylanicum*). Nur bei *Satureja montana* waren während der thermischen Alterung zwei neue Peaks respektive Inhaltsstoffe entstanden (vgl. Abb. 69 und 70 sowie Tab. 24 und 25). Nach 8.05 Minuten war ein Peak von 2-methoxy-4-methyl-1-(1-methylethyl) Benzen sichtbar und bei 8.77 Minuten der Peak von Karvakrol (2-methyl-5-(1-methylethyl) Phenol) oder Thymol (5-methyl-2-(1-methylethyl) Phenol). Bei den letzteren zwei Substanzen konnten keine eindeutigen Aussagen gemacht werden, da sich beide Moleküle nur in der Anordnung ihrer Substituenten unterschieden. Massenspektrometrisch liessen sich diese zwei Verbindungen nicht unterscheiden. Die Entstehung dieser neuen Inhaltsstoffe könnte ein Hinweis auf die gute antimykotische Wirkung in Experiment 2 sein (vgl. Kapitel 8, Resultate, S.53). Denn Thymol/Karvakrol sind bekannte Stoffe zur Bekämpfung von Mikroorganismen, und 2-methoxy-4-methyl-1-(1-methylethyl) Benzen wird als giftig und krebserregend beschrieben.

Die schwache Bewuchsverhinderung in Experiment 2 von *Origanum vulgare* (vgl. Kapitel 8, Resultate, S.56) könnte ebenfalls auf die stark verdunsteten Inhaltsstoffe zurückzuführen sein. Als essentielle Peaks traten auf dem Chromatogramm nur noch Karvakrol (8.96 Minuten; 2-methyl-5-(1-methylethyl) Phenol) und Aromadendrene (10.34) auf. Dasselbe Muster galt ebenfalls für das dritte Chromatogramm des Öls zur Untersuchung der antimykotischen Wirkung durch den Dampfphasentest.

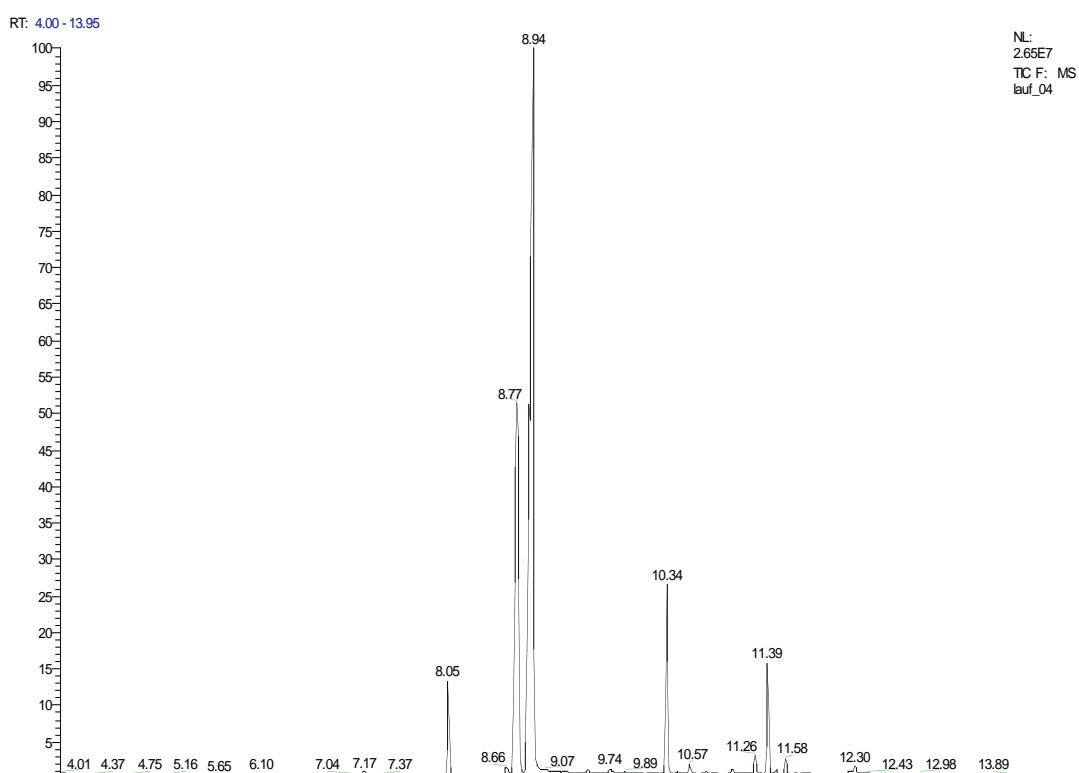


Abb. 69. Gaschromatogramm von *Satureja montana* als ReferenzsubstanzTab. 24: Resultate des Massenspektrogramms von *Satureja montana* als Referenzsubstanz

RT	Hit 1	CAS Nr.	Hit 2	CAS Nr.	Undefiniert/Interpretation
5.04	o-Cymen (1-methyl-2-(1-methylethyl) Benzen)	527-84-4			
5.51					Vgl. Anhang IV, Seite 27, Abb. 14
6.08					Vgl. Anhang IV, Seite 27, Abb. 15
9.00	Karvakrol (2-methyl-5-(1-methylethyl) Phenol)	499-75-2			
9.75	Karvakrol (2-methyl-5-(1-methylethyl) Phenol)	499-75-2			
10.34	Aromadendren, (1,1,7-Trimethyl-4-methylenedecahydro-1H-cyclopropa				



	Azulen)				
11.39	Aromadendren, (1,1,7-Trimethyl-4-methylenedecahydro-1H-cyclopropa Azulen)				
12.30					Vgl. Anhang IV, Seite 28, Abb. 16

Abb. 70. Gaschromatogramm von *Satureja montana* nach der Hitzealterung in offenem BehälterTab. 25. Resultate des Massenspektrogramms von *Satureja montana* nach der Hitzealterung in offenem Behälter

<u>RT</u>	<u>Hit 1</u>	<u>CAS Nr.</u>	<u>Hit 2</u>	<u>CAS Nr.</u>	<u>Undefiniert</u> <u>Interpretation</u>
8.05	Benzen/Anisol (2-methoxy-4-methyl-1-(1-methylethyl)	1076-56-8			



	Benezen)				
8.77	Karvakrol (2-methyl-5-(1-methylethyl) Phenol)	499-75-2	Thymol (5-methyl-2-(1-methylethyl)-Phenol)	89-83-8	
8.94	Karvakrol (2-methyl-5-(1-methylethyl) Phenol)	499-75-2			



### 8.1 Diskussion und Bemerkungen

Bei den Untersuchungen konnte unter Anwendung des Bewertungs- und Interpretationsschemas nach EN ISO 846<sup>185</sup> auf den drei Trägermaterialien und bei allen Versuchen mit den vier Prüfsubstanzen sowie den Kontrollversuchen mit unbehandeltem Holz und Filterpapieren, Wachstum durch die Prüfpilze nachgewiesen werden, sofern die Proben bei 24° C und bei 23° C/rLF 95% während vier bis 16 Wochen inkubiert wurden.

Zu Beginn der Testserien wurden fünf weitere ätherische Öle miteinbezogen:

- Majoran; *Origanum majorana*
- Thymian, *Thymus vulgaris*
- Teebaum; *Melaleuca alternafolia*
- Zitrone; *Citrus limon*
- Sandelholz; *Santalum album*

Die Resultate im Agardiffusionstest nach der Durchführung aller künstlichen Alterungen ergaben jedoch ein vollständiges Wachstum nach bereits einer Woche, so dass diese Substanzen nicht weiter geprüft und nicht in die weiteren Versuche miteinbezogen wurden<sup>186</sup>.

Auch wurde zu Beginn der praktischen Arbeiten mit tieferen Konzentrationen der Prüfsubstanzen als später gearbeitet: 1%, 1‰ und 0.1‰. Alle Proben waren jedoch nach einer Woche vollständig bewachsen<sup>187</sup>. Darum wurden die Konzentrationen erhöht. Die Versuche wurden so angelegt, dass für jedes Öl berechnet werden konnte, bei welcher Dosierung eine messbare antimikrobielle Wirkung resultierte. Die hier erzielten Resultate standen somit nicht in Übereinstimmung mit anderen Untersuchungsergebnissen, die meist als minimale Hemmkonzentrations-Werte (MHK-Werte) im *in vitro* Test vorliegen. Diese zeigten nämlich auf, dass bereits Mengen wie 1.25 mmol l<sup>-1</sup> ausreichen, um eine hemmende Reaktion des Pilzwachstums auf Probematerial bestätigen zu können<sup>188</sup>. Die hier erzielten Ergebnisse belegen jedoch, dass in praxisnahen Versuchen in der Feuchtkammer unter klimatischen Wachstumsbedingungen selbst mit höheren Konzentrationen ein Pilzbefall nicht vollständig verhindert werden kann.

Die verschiedenen Resultate der Dosierung/Konzentration konnten nicht interpretiert werden. Je nach Versuch und Prüfsubstanz waren die wirkungsvollsten Konzentrationen sehr unterschiedlich ausgefallen. Im Agardiffusionstest lagen die besten Wirkungen oftmals bei 50% und die ineffizientesten bei 1%. Allerdings

---

<sup>185</sup> Dieses gibt das menschliche Auge und eine 40-fache mikroskopische Vergrößerung als Detektor an.

<sup>186</sup> Die Resultate der künstlichen Alterungen aller Prüfsubstanzen befinden sich im Anhang.

<sup>187</sup> Die Resultate der Versuchsreihe mit den zu Beginn gewählten Konzentrationen befinden sich im Anhang.

<sup>188</sup> VODA *et al.*, 2003, S.51ff; MAHMOUD, 1994, S.110ff



konnten diese Resultate nicht auf die Holzproben übertragen werden. Ein möglicher Ansatz zur Begründung des soeben erwähnten Problems könnte jedoch bei den Inhaltsstoffen eines jeden einzelnen Öls liegen. Denn diese können nicht als Nahrungsstoffe für die Schimmelpilze ausgeschlossen werden, obwohl die Ergebnisse in Experiment 3 nicht darauf hindeuteten. Es wäre jedoch eine Erklärung, warum in manchen Versuchen die Holzproben der 50%-igen Konzentration nach kürzester Zeit vollständig bewachsen waren.

Die Versuchsergebnisse aller ätherischen Öle lassen keine klare Differenzierung untereinander zu, da die Resultate sich sehr ähnlich waren. Was im Agardiffusionstest der mit *Cinnamomum zeylanicum* behandelten Filterpapierrondellen nach den verschiedenen Alterungen noch als beste Resultate betrachtet wurde, konnte nicht auf die Bewuchsversuche auf Fichten- und Eichenholz übertragen werden. Diskrepant waren auch die Versuchsergebnisse der künstlichen Hitzealterungen im Agardiffusionstest, verglichen mit denen des Bewuchsversuches in der Feuchtkammer. Während die im Agardiffusionstest erlangten Resultate eine Bewuchsverhinderung aufzeigten, wurde diese auf den Holzproben nicht mehr so deutlich festgestellt. Auf Fichten- und Eichenholzproben hingegen lagen die besten Resultate in der Standardalterung.

In allen Versuchen im Agardiffusionstest auf Filterpapier sowie im Bewuchsversuch auf Holzproben konnte festgestellt werden, dass die ätherischen Öle nicht in der Lage waren, den Pilzbefall zu verhindern. Dies ist jedoch mit grösster Wahrscheinlichkeit auf die schlechte Alterungsbeständigkeit der Prüfsubstanzen zurückzuführen. Denn Testreihen von WEILAND *et al.* (1997) hatten ergeben, dass mikroskopische Untersuchungen des Holzes auf keinerlei Strukturänderungen während einer thermischen Alterung hingewiesen haben und somit ein Wachstum begünstigt hätten<sup>189</sup>. Diese Aussage bestätigte die eigene Beobachtung, dass selbst durch die Hitzealterung keine Strukturänderungen des Holzes aufgetreten waren.

Um die Prüfsubstanzen auch auf ihre vorbeugende antimykotische Wirkung testen zu können, wurden die vier Öle einmal in direkter Applikation auf Holzproben und einmal in indirektem Kontakt durch einen Dampfphasentest untersucht. Dabei konnte festgestellt werden, dass auch in dieser Anwendung die ätherischen Öle den Pilzbefall nicht verhindern konnten. Das Wachstum der Schimmelpilze entwickelte sich nach dem Auftragen der Substanzen jedoch langsamer als nach den künstlichen Alterungen<sup>190</sup>. Die ätherischen Öle – bekannt als flüchtige, stark aromatische Substanzen – vermochten auch in einem dicht abgeschlossenen Behälter das Pilzwachstum über die Dampfphase nicht zu verhindern. Auffallend in diesem Experiment war, dass während der Inkubationszeit das Pilzwachstum nicht nur auf den sterilen Proben stärker wurde, sondern auch auf den bereits verschimmelten Holzproben. Ein möglicher Ansatz zur Begründung der soeben erwähnten Ergebnisse könnte in der jedem Material eigenen spezifischen Gleichgewichtsfeuchte liegen, da die Holzproben bei hoher relativer Luftfeuchtigkeit und Temperatur genügend Feuchtigkeit enthalten können, um Pilzaktivität zu unterstützen.

Auffallend bei allen Proben und Versuchen war der Wachstumsunterschied zwischen Fichten- und Eichenholz. Die Fichtenproben waren generell von einem schwächeren Wachstum betroffen als die Eichenholzproben. Dies ist eher ungewöhnlich, da Eiche zu einem Holz zählt, das gegen Mikroorganismen

---

<sup>189</sup> WEILAND *et al.*, 1997, S.111

<sup>190</sup> Was die Vermutung einer schlechten Altersbeständigkeit der ätherischen Öle erneut unterstützt.



eher resistent ist<sup>191</sup>. Laut Schoch könnte das Eindringen des Ethanol, in welchem die ätherischen Öle gelöst waren, das in der Fichte enthaltene Harz lösen und mitsamt dem Lösungsmittel im Holzzinnern diffundieren. Harz ist in organischen Lösungsmitteln löslich und gilt zudem als bewuchshemmend<sup>192</sup>. Um diese Theorie bestätigen zu können, müssen dieselben Versuche auf weitere Nadel- und Laubholzarten durchgeführt werden.

Ein weiterer Diskussionspunkt ist die Beurteilung der Holzproben auf ihre Wachstumsintensität. Wie die Filterpapierproben wurden auch die Holzproben mit demselben System bewertet (Skala von 0 bis 5, vgl. Kapitel 7.2.2.3, Bestimmung der Wachstumsintensität und Beurteilung, S.50). Diese Beurteilung besagt, dass eine Wachstumsintensität von 1 ausschliesslich unter dem Mikroskop sichtbar ist, eine Wachstumsintensität von 2 bereits von blosssem Auge. Auf den Holzproben musste dieses System angepasst werden. Denn einzelne Proben waren bereits vollständig von Myzelwachstum betroffen, dieses aber nur unter dem Mikroskop sichtbar. Das bedeutet, dass diese Proben dennoch mit einer Wachstumsintensität von 5 beurteilt wurden. Das entscheidende Kriterium der Bewertung liegt in der flächenmässigen Verteilung des Pilzwachstums auf den Proben. Wichtig für diese Beurteilung ist, wie viel Prozent der Probenoberfläche mit "Schimmelpilz" bewachsen ist und nicht, ob der Bewuchs von blosssem Auge oder unter dem Mikroskop sichtbar ist. Die Abbildungen 71 und 72 zeigen eine Beurteilung der Wachstumsintensität von 5 zweier Fichtenholzproben auf. Beide Probenoberflächen sind vollständig bewachsen, aber nur auf der Abbildung 72 ist dies von blosssem Auge sichtbar.



Abb. 71. Verschimmelte Fichtenholzprobe von *Satureja montana*. Myzelwachstum und Sporulierung sind nur unter der Lupe sichtbar.



Abb. 72. Sporulierung von *Aspergillus niger* sowie Myzelwachstum sind auf der Fichtenholzprobe von *Cinnamomum zeylanicum* gut erkennbar.

Die Resultate der GC-MS Analytik zeigten, dass 80° C während 72 Stunden die chemischen Verbindungen sowie die Inhaltsstoffe der ätherischen Öle nicht wesentlich beeinflussten. Da es sich um flüchtige Substanzen handelt, war auch anzunehmen, dass während dieser thermischen Alterung die leichtflüchtigen Inhaltsstoffe verdunsteten. Dasselbe galt auch für Experiment 6, bei dem die Öle offen in einem Behälter gealtert wurden.

---

<sup>191</sup> Mündliche Auskunft von SCHOCH vom 8.6.2006

<sup>192</sup> Mündliche Auskunft von SCHOCH vom 8.6.2006



Zwar war von blossen Auge eine Oxidation der Öle (die Farbe ändert stark) sichtbar, anhand der GC-MS-Analyse liess sie sich jedoch nicht verfolgen. Nur *Eugenia caryophyllata* bildete nach 12.31 Minuten möglicherweise ein Oxidationsprodukt: Caryophyllen-Oxid (5-oxatricyclo[8.2.0.0(4,6)]dodecane,4,12,12-trimethyl-9-methylen-,[1R-(1R\*,4R\*,6R\*,10S\*)]). Dies konnte jedoch nicht mit Sicherheit bestätigt werden.

Bis auf *Satureja montana* konnten keine Veränderungen der Inhaltsstoffe festgestellt werden. Somit blieb auch ungeklärt, warum die Substanzen nach der thermischen Alterung über stärkere antimykotische Wirkungen verfügten als davor.

Des Weiteren galt es zu beachten, dass in dieser Analyse keine quantitativen Aussagen mit der GC-MS Analytik gemacht werden konnten. Zudem waren die qualitativen Aussagen nicht gesichert und absolut, da keine Referenzverbindung zu jedem Reinprodukt analysiert wurde. Denn als Referenzsubstanz wurden die für die verschiedenen Experimente verwendeten Öle eingesetzt und nicht das Reinprodukt der einzelnen Inhaltsstoffe. Somit waren die aufgeführten Verbindungen nicht einfach durch Spektrenvergleich, mit den Spektren aus der Spektrenbibliothek, zu identifizieren. Der Vergleich lieferte nur Hinweise, um welche Substanz oder Substanzklasse es sich handeln könnte. Für eine sichere Identifizierung muss die vorgeschlagene Substanz als Reinsubstanz bezogen und mit GC-MS analysiert werden. Stimmen danach die Retentionszeiten und das Massenspektrum überein, so ist die unbekannte Verbindung mit grosser Wahrscheinlichkeit identifiziert.

Wie den verschiedenen Chromatogrammen entnommen werden konnte, wiederholen sich dieselben Inhaltsstoffe eines einzelnen Öls, dies aber nicht unbedingt zur selben Retentionszeit. Beispielsweise bei *Satureja montana* in Reinsubstanz erschien ein Peak nach 9.00 Minuten und nach der thermischen Alterung bereits nach 8.94 Minuten. Die Retentionszeit schwankte aber mit 0.06 Minuten nur geringfügig. Die Ursache dafür konnte von geringfügigen Unterschieden bei der Injektion der Proben stammen, aber auch von kleinen Unterschieden im Trägergasstrom und bei der Probenzusammensetzung. Diese minimalen Unterschiede in der Retentionszeit waren vernachlässigbar.



### **9. Schlussfolgerung und Ausblick**

Die ätherischen Öle zeigten nach den künstlichen Alterungen sowie in kurativen Versuchen auf Filterpapier und Holzproben nicht genügend antimykotische Wirkung gegen Schimmelpilzbewuchs, um sie in der Praxis der Konservierung und Restaurierung anzuwenden. Dennoch können sie in weiterführenden Versuchen im Bereich der Mikrobiologie geprüft und getestet werden. Das Prüfen der antimikrobiellen Wirkungen dieser Substanzen gegen Insekten und weitere Mikroorganismen wäre eine Forschungsarbeit wert. Die bekannte Eigenschaft der ätherischen Öle ist ihr unverkennbar stark aromatischer Duft. Da Insekten über ein empfindlicheres Geruchsorgan verfügen als Menschen, könnte ein Befall von Holz durch bestimmte Insekten verhindert werden.

Zudem wäre die antimikrobielle Wirkung der einzelnen Inhaltsstoffe auf polychromem Holz zu testen. Wie in Kapitel 2.1.1 ätherische Öle in der Konservierung und Restaurierung, nachzulesen ist, wurden bereits die einzelnen Hauptinhaltsstoffe der Öle gegen Pilzwachstum getestet, jedoch nicht auf gefassten Holzproben. Dabei wäre die Verträglichkeit zwischen den Wirkstoffen sowie der einzelnen Pigmente (organische wie anorganische) und dem Bindemittel zu untersuchen. Die Arbeit mit einzelnen Inhaltsstoffen hat zudem den Vorteil, dass sich durch chemische Reaktionen die Substanzen nicht inaktivieren können, das heisst die gewünschte antimikrobielle Wirkung verhindern. In der Prüfung der antibakteriellen Wirkung auf textile Flächegebilde werden die Inaktivierungsmittel auch bewusst eingesetzt. Sie haben die Aufgabe, die Interaktionszeit zwischen Antimikrobikum und Mikroorganismen zu limitieren. Die chemischen Eigenschaften des Antimikrobikums bestimmen daher das Inaktivierungsmittel und dessen Konzentration. Sowohl Inaktivierungsmittel als auch deren Konzentration können zum Teil aus bereits bestehenden Prüfvorschriften entnommen werden<sup>193</sup>.

---

<sup>193</sup> Schweizer Norm SN 195 924, Textilindustrie, S.8ff



## 10. Literaturverzeichnis

Allsopp D. and Seal K., Introduction to Biodeterioration, Edward Arnold ed., Great Britain, 1986

Allsopp D., Seal K., Gaylarde C., Introduction to Biodeterioration, Seconde Edition, Cambridge University Presse ed., Cambridge, 2004

Arnaud P., Cours de chimie organique, 15ème édition, éd. Dunod, Paris, 1996

Belaiche P., Traité de phytothérapie et d'aromathérapie, tome 1, l'aromatogramme, éd. Maloine S.A., Paris, 1979

Billerbeck V.G., Essais d'utilisation d'huiles essentielles en traitement de l'air, *in*, Les contaminants biologiques des biens culturels, Roquebert M.F. dir, éd. Elsevier, Paris, 2002, S.345-361

Billerbeck V.G., Roques C., Fonvieille J.L., Prevention of Microbiological Infestations Using Essential Oils, *in*, Schimmel – Gefahr für Mensch und Kulturgut durch Mikroorganismen, Verband der Restauratoren, Rauch A., Miklin-Kniefacz S., Harmssen A. dir, Theiss ed., Stuttgart, 2005, S.168-172

Blaeser P., Steiner U., Dehne H.W., Pflanzeninhaltsstoffe mit fungizider Wirkung, Forschungsbericht n°97, Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn, Landwirtschaftliche Fakultät, Lehr- und Forschungsschwerpunkt "Umweltverträgliche und Standortgerechte Landwirtschaft", Bonn, 2002

Boonchird C. and Flegel T.W., *In vitro* antifungal activity of eugenol and vanillin against *Candida albicans* and *Cryptococcus neoformans*, *in*, Can. J. Microbiol. n°28, 1982, S.1235-1241

Brophy J.J. and Doran J.C., Essential Oils of Tropical Asteromyrtus, Callistemon and Melaleuca Species, In Search of Interesting Oils with Commercial Potential, ACIAR ed., 1982

Caneva G., Nugari M.P., Salvadori O., Biology in the Conservation of Works of Art, ICCROM ed., Rom, 1991

Chaumont J.P. et Leger D., Propriétés antifongiques de quelques phénols et de composés chimiquement voisins, relation structure-activité, *in*, Plant. Méd. Phytothérapie n° 23, 1989, S.124-128



Crémieux A., Stérilisation, désinfection, conservation: objet et principes, Bases microbiologiques de l'évaluation des procédés, *in*, Les contaminants biologiques des biens culturels, Roquebert M.F. dir, éd. Elsevier, Paris, 2002, S.233-249

DECHEMA, Mikrobiologische Materialzerstörung und Materialschutz, Grundlagen – Schädigungsvorgänge – Materialschutz – Forschungs- und Entwicklungsbedarf, Deutsche Gesellschaft für Chemisches Apparatewesen, Chemische Technik und Biotechnologie e.V., Frankfurt am Main, 1989

Dinkel L., Schimmelpilze auf einmalig beschreibbaren Compact Discs, Diplomarbeit, Hochschule für Gestaltung, Kunst und Konservierung, Studiengang Konservierung und Restaurierung, Vertiefungsrichtung Moderne Materialien und Medien, Bern, 2003, *nicht publiziert*.

Europäische Norm EN ISO 846, Kunststoffe: Bestimmung der Einwirkung von Mikroorganismen auf Kunststoffe, Europäisches Komitee für Normung CEN, Brüssel, 1997

Flieder F. et Capderou C., Sauvegarde des collections du Patrimoine, La lutte contre les détériorations biologiques, éd. CNRS Editions, Paris, 1999

Florian M.L., Heritage Eaters, Insects & Fungi in Heritage Collections, éd. James&James, London, 1997

Florian M.L., Fungal Facts, Solving fungal problems in heritage collections, Archetype Publications Ltd. ed., London, 2002

Graf E. und Sutter H.P., Holzschutz zur Erhaltung von Kulturgütern, *in*, Methoden zur Erhaltung von Kulturgütern, Schweizer F./ Villiger V. dir, Haupt Verlag, Bern, 1989, S.111-114

Gubler C., Zur mykogenen Allergie: Pilzsporen in der Luft von Zürich, Dissertation zur Erlangung der Doktorwürde der medizinischen Fakultät der Universität Zürich, Zürich, 1990

Hänsel R., Therapeutische Anwendung ätherischer Öle, *in*, Ätherische Öle – Anspruch und Wirklichkeit, Reinhold C. dir, Band 34, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart, 1993, S.203-230



Hart H. et Conia J.M., Introduction à la chimie organique, 1<sup>er</sup> cycle classes préparatoires, éd. Dunod, Paris, 2002

Henry F., Lopes I., Bendjilali C., Morteau S., Encapsulation d'Huiles Essentielles Antifongiques pour la Protection des Oeuvres d'Art, *in*, Actes des 3<sup>ème</sup> journées internationales d'études de l'ARSAG : La Conservation: Une science en évolution, Bilan et Perspectives, 21-25 Avril, BNF, Paris, 1997, S.225-236

Hostettmann K. et Hamburger M., Plantes médicinales : Problèmes analytiques et recherche de principes actifs, *in*, La qualité des plantes médicinales et aromatiques, Actes du colloque Mediplant des 20 et 21 septembre, Conthey, 1990, S.43-51

Hübschmann H.J., Handbuch der GC/MS, Grundlagen und Anwendung, VCH Verlagsgesellschaft mbH, Weinheim, 1996

Huttenlocher C., Materialien zur Holzfestigung im Bereich der Konservierung von Kunst- und Kulturgut – ihre Beständigkeit gegenüber Pilzen und der Einfluss von Bioziden, Praktikumsarbeit EMPA, St. Gallen, 2005, *nicht publiziert*

Jacquemettaz E., Etude de l'action d'huiles essentielles contre le développement microbien dans les bains au polyéthylène glycol 400 à 15%, utilisés pour le traitement des bois archéologiques gorgés d'eau, Diplomarbeit an der Ecole Supérieure d'Arts Appliqués du canton de Neuchâtel, filière des Hautes Ecoles Spécialisées de conservation-restauration, spécialisation archéologie-ethnographie, 2000, *nicht publiziert*

Kempe K., Holzschädlinge, Holzzerstörende Pilze und Insekten an Bauholz, Vermeiden, Erkennen, Bekämpfen, 3. Auflage, Fraunhofer IRB Verlag, Stuttgart, 2004

Kishon N., Mishra A.K., Chansouria J.P.N., Fungitoxicity of essential oils against dermatophytes, *in*, Mycoses n° 36, 1993, S.211-215

Kubeczka K.H., Möglichkeiten und Grenzen der Qualitätsbeurteilung arzneilich verwendeter ätherischer Öle, *in*, Ätherische Öle – Anspruch und Wirklichkeit, Reinhold C. dir, Band 34, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH ed., Stuttgart, 1993, S.85-102

Lima E.O., Gompertz O.F., Giesbrecht A.M., Paulo M.Q., In vitro antifungal activity of essential oils obtained from plants against dermatophytes, *in*, Mycoses n°36, 1993, S.333-336



Marquier Z.V., Qualité des huiles essentielles en désinfection préventive, Normalisation – protection des chémotypes, *in*, Les contaminants biologiques des biens culturels, Roquebert M.F. dir, éd. Elsevier, Paris, 2002, S.333-344

Mahmoud A.L.E., Antifungal action and antiaflatoxigenic properties of some essential oil constituents, *in*, Letters in Applied Microbiology n° 19, 1994, S.110-113

Oehme M., Praktische Einführung in die GC/MS-Analytik mit Quadrupolen, Grundlagen und Anwendung, Handbibliothek Chemie, Hüthig Verlag, Heidelberg, 1996

Pandey V.N. and Srivastava A.K., Prevention of fungal growth of cultural heritage in wood and leather by volatile constituents of higher plants, *in*, ICOM Ethnographic Conservation Newsletter, n° 18, Anthropology Conservation Laboratory ed., 1998, S.381-386

Paulus W., Microbicides, For the Protection of Materials, A Handbook, Chapman & Hall ed., London, 1993

Paulus W., Mikrobizide, *in*, Mikrobielle Materialzerstörung und Materialschutz, Schädigungsmechanismen und Schutzmassnahmen, Brill H. dir., Gustav Fischer Verlag, Hamburg, 1995, S.232-278

Pellecuer J., Jacob M., Simeon De Bouchberg M., Dusart G., Attisto M., Barthez M., Gourgas L, Pascal B., Tomei R., Essais d'utilisation d'huiles essentielles de plantes aromatiques méditerranéennes en odontologie conservatrice, *in*, Plant. Méd.. Phytothérapie n° 14, 1980, S.83-98

Petrini L.E. und Petrini O., Schimmelpilze und deren Bestimmung, Bibliotheca Mycologica, Band 194, Gebrüder Borntraeger Verlag, Stuttgart, 2002

Potel-Jehl J.-D., L'usage des plantes aromatiques dans le temps, *in*, Le devenir des plantes utiles, Bulletin de la société Industrielle de Mulhouse n° 4, 1990, S.35-37

Rakotonirainy M., Raison M.A., Flieder F., Evaluation of the fungistatic and fungicidal activity of six essential oils and their related compounds, *in*, Preprints of the Jubilee symposium of the School of conservation, The royal Danish academy of fine arts ed., Kopenhagen, 1998, S.121-130



Rakotonirainy M., Fohrer F., Flieder F., Recherche de fongicides thermonébulisables pour la désinfection des aires de stockage et des surfaces, *in*, Actes des 3<sup>ème</sup> journées internationales d'études de l'ARSAG : La Conservation: Une science en évolution, Bilan et Perspectives, 21-25 Avril, BNF, Paris, 1997, S.218-224

Raschle P., Einsatz von Bioziden bei der Konservierung von Kulturhistorischen Objekten, Vortragsreihe des SKR, Mäder P.M. dir, 1982

Raschle P., Bewuchs und biogene Zerstörung erkennen und verhindern, Vortrag an der Restauratorenagung vom 18. Januar 1996 / ETH Zürich, *nicht publiziert*

Raschle P., Schimmelpilze im Wohn- und Arbeitsbereich, EMPA internes Dokument, St.Gallen, 2006, *nicht publiziert*

Reiss J., Schimmelpilze, Lebensweise Nutzen Schaden Bekämpfung, Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, 1986

Reiss J., Schimmelpilze, Lebensweise Nutzen Schaden Bekämpfung, Zweite Auflage, Springer-Verlag ed., Berlin Heidelberg, 1998

Roquebert M.F., Les Contaminants biologiques des biens culturels, Heritage Series, Collection Patrimoine, éd. Elsevier, Paris, 2002

Sallé J.-L., Les huiles essentielles, Synthèse d'aromathérapie et introduction à la sympathicothérapie, avec la participation de Jacques Pelletier, éd. Frison-Roche, Paris, 1991

Schweingruber F.H., Mikroskopische Holzanatomie, Formenspektren mitteleuropäischer Stamm- und Zweighölzer zur Bestimmung von rezentem und subfossilem Material, Dritte Auflage, Herausgeber : Eidgenössische Forschungsanstalt für Wald, Schnee und Landschaft, Birmensdorf, 1990

Schweizer Norm SN, 195924, Textilindustrie : Textile Flächegebilde : Prüfung der antibakteriellen Wirkung : Keimzählmethode, Schweizerischen Normen-Vereinigung SNV, Zürich, 1983

Schweizerische Normen-Vereinigung SNV 198890, Textilien : Prüfung auf Beständigkeit gegen äussere Einflüsse : Beschleunigte Wärmealterung in feuchter oder trockener Luft, St.Gallen, 1966



Scora K.M. and Scora R.W., Effect of volatiles on mycelium growth of *Penicillium digitatum*, *P. italicum*, and *P. ulaiense*, in, Journal Basic Microbiol. 38, 5-6, 1998, S.405-413

Seigler D.S., Chemists and taxonomy, in, Chemistry in Britain 10, no 9, 1974, S.339-342

Soulier J.-M., Analyse et Contrôle des Huiles Essentielles, Chromatographie en phase gazeuse et spectrométrie de masse, in, Les Cahiers de l'Aromathérapie n°1, Septembre 1995, S.19-26

Soulier J.-M., Etude de Deux Familles Biochimiques: Phénols et Monoterpénols, in, Les Cahiers de l'Aromathérapie n°1, Septembre 1995, S.27-37

Steinegger E. und Hänsel R., Lehrbuch der Pharmakognosie, auf phytochemischer Grundlage, zweite Auflage, Springer-Verlag, Berlin, 1968, S. 356-436

Strang T.J.K. et Dawson J.E., Le contrôle des moisissures dans les musées, éd. Institut Canadien de Conservation (ICC), Bulletin technique n° 12, Ottawa, 1991

Sutter H.P., Holzschädlinge an Kulturgütern erkenne und bekämpfen, Vierte Auflage, Haupt Verlag, Bern, 2002

Valnet J., Aromathérapie, 11ème édition, éd. VIGOT, Paris, 2001

Viollon C. and Chaumont J.P., Antifungal properties of essential oils and their main components upon *Cryptococcus neoformans*, in, Mycopathologia, n° 128, 1994, S.151-153

Voda K., Boh B., Vrtacnik M., Pohleven F., Effect of the antifungal activity of oxygenated aromatic essential oil compounds on the white-rot *Trametes versicolor* and the brown-rot *Coniophora puteana*, in, International Biodeteriation & Biodegradation 51, 2003, S.51-59

Warscheid T., The Evaluation of Biodeterioration Processes on Cultural Objects and Approaches for their effective Control, in, Art, Biology and Conservation, Biodeterioration of Works of Art, Koestler R.J. *et al* dir. The Metropolitan Museum of Art ed., New York, 2003, S.15-25



Weiland J.J. und Guyonnet R., Retifiziertes Holz, *in*, Ecole Nationale Supérieure des Mines de Saint-Etienne, Centre Sciences des Processus Industriels et Naturels (SPIN), 158 Cours Fauriel, F-42 023 Saint-Etienne, S.109-120

Weidenbörner M., Identifizierung und Kontrolle kulturgüterrelevanter Schimmelpilze, *in*, Schimmel, Gefahr für Mensch und Kulturgut durch Mikroorganismen, Rauch A. *et al* dir., Verband der Restauratoren, Theiss Verlag, Stuttgart, 2001, S.25-29

Internet:

<http://www.bah-bonn.de/arzneimittel>, 18.04.2006

<http://www.chemgapedia.de>, 06.04.2006

<http://www.chemie.fu-berlin.de/chemistry/oc/terpene/terpene.html>, 05.07.2006

<http://www.chemie.uni-erlangen.de>, 05.07.2006

<http://www.culture.fr/culture/conservation/fr/cours/roqueber.htm>, Mai 1999

<http://enius.de/schadstoffe/terpene.html>, 05.07.2006

<http://www.orv.at>, 07.04.2006

<http://www.schimmel-schimmelpilze.de>, 19.07.2006

<http://www.seilnacht.com/lexikon/aldehyde.html>, 05.07.2006

<http://www.umweltanalytik.com/lexikon/ing35.htm>, 05.07.2006

[http://www.uni-jena.de/data/unijena /faculties/bio\\_pharm/ieu/l5\\_lmc/5.1.spezielleInhaltsstoffell.doc](http://www.uni-jena.de/data/unijena /faculties/bio_pharm/ieu/l5_lmc/5.1.spezielleInhaltsstoffell.doc), 07.05.2006

<http://www.uni-jena.de>, 07.05.2006