

# **Pilze auf Baustoffen: Einfluss funktionaler Oberflächen auf deren Bewuchs**

## **Dissertation**

zur

Erlangung des Doktorgrades (Dr. rer. nat.)

der

Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät

der

Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn

vorgelegt von

Manuel Spaeth

aus

Bonn

Bonn, im Oktober 2007

Angefertigt mit Genehmigung der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn

1. Referent: Prof. Dr. Wilhelm Barthlott
2. Referent: PD Dr. Kerstin Koch

Tag der Promotion: 27.11.07

Meinen Eltern Uta und Oswin Spaeth  
und  
meiner Frau Elena Spaeth

# Inhaltsverzeichnis

<b>1 Einleitung</b> .....	<b>1</b>
1.1 Pilze.....	3
<b>1.1.1 Systematik</b> .....	<b>3</b>
<b>1.1.2 Ökologie</b> .....	<b>4</b>
SAPROBIONTEN .....	4
PARASITEN UND PATHOGENE.....	5
SYMBIONTEN .....	6
ABIOTISCHE WACHSTUMSFAKTOREN .....	8
<b>1.1.3 Verbreitung und Besiedlung</b> .....	<b>10</b>
SPORENPRODUKTION.....	10
SPORENVERBREITUNG .....	11
BESIEDLUNG .....	16
BIOFILMBILDUNG.....	17
1.2 Bauschäden durch Pilzbefall.....	19
<b>1.2.1 Biodeterioration</b> .....	<b>19</b>
<b>1.2.2 Schädigungsweise von Pilzen auf Baustoffen</b> .....	<b>21</b>
<b>1.2.3 Maßnahmen zum Schutz gegen pilzinduzierte Bauschäden</b> .....	<b>23</b>
KONSTRUKTIVE MAßNAHMEN .....	23
CHEMISCHE MAßNAHMEN .....	24
FUNKTIONALE OBERFLÄCHEN .....	25
1.3 Photokatalytische und superhydrophobe selbstreinigende Oberflächen .....	27
<b>1.3.1 Photokatalytische Oberflächen</b> .....	<b>27</b>
<b>1.3.2 Superhydrophobe selbstreinigende Oberflächen (Lotus-Effect®)</b> ...	<b>31</b>
<b>2 Ziele</b> .....	<b>40</b>
<b>3 Material und Methoden, allgemeiner Teil</b> .....	<b>42</b>
3.1 Material.....	42
<b>3.1.1 Pilze</b> .....	<b>42</b>
<b>3.1.2 Pflanzliche Oberflächen</b> .....	<b>43</b>
<b>3.1.3 Technische Oberflächen</b> .....	<b>43</b>

3.2 Methoden.....	44
<b>3.2.1 Rasterelektronenmikroskopie (REM) .....</b>	<b>44</b>
PROBENVORBEREITUNG .....	44
MIKROSKOPIE.....	45
<b>3.2.2 Kontaktwinkelmessung.....</b>	<b>45</b>
<b>3.2.3 Fluoreszenzfärbung.....</b>	<b>46</b>
<b>3.2.4 Statistische Auswertung.....</b>	<b>47</b>
<b>4 Experimenteller Teil .....</b>	<b>48</b>
4.1 Untersuchungen zum Einfluss der Calcofluorfärbung auf das Pilzwachstum.....	48
<b>4.1.1 Einleitung .....</b>	<b>48</b>
<b>4.1.2 Ziele.....</b>	<b>50</b>
<b>4.1.3 Material und Methoden.....</b>	<b>50</b>
<b>4.1.4 Ergebnisse .....</b>	<b>53</b>
<b>4.1.5 Diskussion.....</b>	<b>54</b>
4.2 Untersuchungen zum Wachstum von <i>Penicillium chrysogenum</i> und <i>Cladosporium cladosporioides</i> auf technischen Materialien .....	57
<b>4.2.1 Einleitung .....</b>	<b>57</b>
<b>4.2.2 Ziele.....</b>	<b>58</b>
<b>4.2.3 Material und Methoden.....</b>	<b>58</b>
VERWENDETE PILZTAXA .....	58
KULTIVIERUNG DER PILZE UND GEWINNUNG DER SPORENSUSPENSION .....	59
PROBEKÖRPER.....	60
KONTAKTWINKELMESSUNG .....	60
INOKULATION DER PROBEN.....	60
BEREGNUNG .....	63
PROBENLAGERUNG IN DER KLIMAKAMMER .....	64
AUSWERTUNGSMETHODEN .....	67
STATISTISCHE AUSWERTUNG.....	69
VERSUCHSZYKLUS.....	69
<b>4.2.4 Ergebnisse .....</b>	<b>71</b>
OPTIMALE PARAMETER UND METHODEN FÜR EIN LABORTESTVERFAHREN .....	71
1. TEILVERSUCH: Nassinokulation <i>Penicillium chrysogenum</i> .....	73

2. TEILVERSUCH: Nassinokulation <i>Penicillium chrysogenum</i> , variiert .....	75
3. TEILVERSUCH: Trockeninokulation <i>Penicillium chrysogenum</i> .....	77
4. TEILVERSUCH: Nassinokulation von <i>Cladosporium cladosporioides</i> .....	78
<b>4.2.5 Diskussion.....</b>	<b>80</b>
OPTIMALE PARAMETER UND METHODEN FÜR EIN LABORTESTVERFAHREN .....	80
KONTAKTWINKELMESSUNGEN .....	82
BEWUCHSUNTERSCHIEDE ZWISCHEN VERSCHIEDENEN BAUSTOFFEN .....	83
<b>4.3 Adhäsionskräfte von Pilzsporen und technischen Partikeln auf</b>	
<b>pflanzlichen und technischen Oberflächen.....</b>	<b>88</b>
<b>4.3.1 Einleitung .....</b>	<b>88</b>
<b>4.3.2 Ziele.....</b>	<b>94</b>
<b>4.3.3 Material und Methoden.....</b>	<b>94</b>
KONTAKTWINKELMESSUNG .....	94
VERWENDETE SPOREN UND DEREN PRÄPARATION .....	97
ADHÄSIONSKRAFTMESSUNGEN .....	98
<b>4.3.4 Ergebnisse .....</b>	<b>103</b>
KONTAKTWINKELMESSUNGEN .....	103
ADHÄSIONSKRAFTMESSUNGEN AUF TECHNISCHEN OBERFLÄCHEN .....	104
ADHÄSIONSKRAFTMESSUNGEN AUF PFLANZLICHEN OBERFLÄCHEN .....	107
<b>4.3.5 Diskussion.....</b>	<b>109</b>
KONTAKTWINKELMESSUNGEN .....	109
ADHÄSIONSKRAFTMESSUNGEN AUF TECHNISCHEN OBERFLÄCHEN .....	110
ADHÄSIONSKRAFTMESSUNGEN AUF PFLANZLICHEN OBERFLÄCHEN .....	115
<b>5 Schlussbetrachtung und Ausblick.....</b>	<b>119</b>
<b>6 Zusammenfassung.....</b>	<b>122</b>
<b>7 Danksagung.....</b>	<b>124</b>
<b>8 Literatur.....</b>	<b>126</b>
<b>9 Abbildungsverzeichnis .....</b>	<b>148</b>
<b>10 Tabellenverzeichnis .....</b>	<b>155</b>
<b>11 Anhang.....</b>	<b>157</b>

# 1 Einleitung

Mikroorganismen (Bakterien, Pilze, Mikroalgen) finden sich überall in unserer Umwelt, in der Luft, im Wasser und im Boden. Bis heute sind etwa 40.000 Algenarten, 72.000 Pilzarten und 10.000 Bakterienarten beschrieben. Schätzungen gehen jedoch von einer Gesamtzahl von 400.000 Algenarten, 1.5 Mio. Pilzarten und 1 Mio. Bakterienarten aus (GROOMBRIDGE und JENKINS, 2002; HAWKSWORTH und KALIN-ARROYO, 1995). Diese haben sich im Laufe der Evolution an unterschiedlichste und zum Teil extreme Umweltbedingungen angepasst. Die ökologische Bedeutung von Mikroorganismen ist vielfältig. Algen als autotrophe Primärproduzenten bilden die Basis jeglicher aquatischer Ökosysteme und dienen somit als Nahrungsgrundlage vieler Tierarten. Pilze und Bakterien als heterotrophe Organismen hingegen sorgen als Destruenten und Mineralisierer für die Zerlegung organischer Substanzen in ihre molekularen Bestandteile, die in den Nährstoffkreislauf zurückgeführt werden.

Viele Mikroorganismenarten sind auch für den Menschen von großem Nutzen. So werden Mikroalgen zu Kosmetika verarbeitet oder als Nahrungsergänzung verwendet (BECKER, 1994). Bakterien sind zur biotechnologischen Produktion von Medikamentenwirkstoffen und für Fermentationsprozesse unerlässlich. Hefen spielen beim Bierbrauen, der Wein- und Teigherstellung und Schimmelpilze zum Beispiel bei der Käseproduktion und der Medikamentenherstellung eine große Rolle.

Genauso vielfältig sind jedoch die negativen Auswirkungen, die Mikroorganismen auf das menschliche Leben haben können. Schimmelpilze verderben Lebensmittel, zersetzen diverse Stoffe und erzeugen Pflanzenkrankheiten (REIB, 1998). Beim Menschen können sie Mykosen, Atemwegserkrankungen und Allergien hervorrufen (MÜCKE und LEMMEN, 2000). Bakterien sind neben Viren die häufigsten Auslöser schwerer Erkrankungen.

Mikroorganismen können jedoch neben organischem auch anorganisches Material zersetzen, was besonders bei der Besiedlung von Baustoffen mit Mikroorganismen kritisch ist. Diese Problematik besteht seitdem Menschen bauen, findet aber erst in den letzten Jahren verstärkt Beachtung und gewinnt heutzutage zusehends an Bedeutung, da der Bewuchs nicht nur als optische Beeinträchtigung, sondern als

echter Baumängel eingestuft wird. Das Ausmaß dieser Schäden schätzt man in neuerer Zeit auf 2 - 4 Mrd. € pro Jahr allein in Deutschland (FLEMMING, 1995).

Eine der Hauptursachen für die Schadenszunahme besteht in der verbesserten Isolierung von Gebäuden. Diese Isolierung bedingt, dass Außenfassaden von Wohn- und Bürogebäuden nicht mehr von innen „mitgeheizt“ werden, sondern häufig und stark auskühlen. Dabei wird die Taupunkttemperatur auf den Fassadenoberflächen regelmäßig unterschritten und es kommt zur Kondensation von Wasserdampf (SEDLBAUER *et al.*, 2004). Von der erhöhten Feuchtigkeit, die so auf den Oberflächen entsteht, profitieren insbesondere die Mikroorganismen (BLAICH und RASCHLE, 1999; KASTIEN, 1999). Zusammenfassend ist somit festzustellen, dass sich die Lebensbedingungen für Mikroorganismen auf Fassadenoberflächen durch die optimierten Isolierungen deutlich verbessert haben.

Um dem Bewuchs von Baustoffen durch Mikroorganismen entgegenzuwirken gibt es vielfältige Möglichkeiten, die gebräuchlichste ist der Einsatz von Bioziden. Hierunter versteht man Wirkstoffe, die die Eigenschaft haben auf chemischem Wege Lebewesen abzutöten oder zumindest in ihrer Lebensfunktion einzuschränken. Der große Nachteil von Bioziden besteht darin, dass sie durch Niederschlagswasser ausgewaschen werden und in den Boden sowie in Oberflächengewässer gelangen. Dort töten sie unspezifisch Zoo- und Phytoplankton ab und können sich sogar in der Nahrungskette anreichern. Als Reaktion auf verschärfte Zulassungsverfahren für Biozide entwickelt die Industrie zunehmend Baumaterialien mit neuartigen Funktionen (Photokatalyse, Lotus-Effect<sup>®</sup>, Phasenwechselmaterialien), die den Bewuchs durch Mikroorganismen erschweren sollen. Am Nees-Institut für Biodiversität der Pflanzen, an dem die in der vorliegenden Arbeit beschriebenen Untersuchungen durchgeführt wurden, gibt es langjährige Erfahrung mit der Erforschung und Bewertung solcher funktionaler Oberflächen.

## 1.1 Pilze

### 1.1.1 Systematik

Die Stellung der Pilze im System ist komplex und bis heute fortwährenden Änderungen unterworfen. Seit 1990 ist die Einteilung aller zellulären biologischen Organismen in drei Domänen, die Bakteria, die Archaea und die Eukarya, zu denen auch die Pilze zählen, allgemein akzeptiert (WOESE, 2000).

Innerhalb dieser Domänen ist die weitere systematische Unterteilung sehr umstritten. Die aktuell gebräuchlichste Einteilung der Pilze ist die in zwei Reiche, die echten Pilze (Mycota) und die pilzartigen (Straminipila) (DEACON, 2006). Daneben gibt es 4 weitere Stämme der Pilze (Myxomycota, Plasmodiophoromycota, Dictyosteliomycota und Acrasiomycota), deren systematische Stellung unklar ist. Da die in dieser Arbeit verwendeten Pilzarten alle in das Reich der Mycota gehören, beschränkt sich die weitere Beschreibung hierauf. Die Mycota unterteilen sich in 5 Abteilungen (Chytridiomycota, Zygomycota, Glomeromycota, Ascomycota und Basidiomycota), wobei die Abteilung der Schlauchpilze (Ascomycota) mit mehr als 32.000 beschriebenen Arten die größte ist (DEACON, 2006). Ihr gehören auch alle in dieser Arbeit verwendeten Pilzarten an. Diese Abteilung ihrerseits setzt sich aus drei Klassen zusammen, den Archaeascomycetes, den Hemiascomycetes und den Euascomycetes. Da die weitere Unterteilung dieser Klassen sehr umstritten ist und sich durch neue molekularbiologische Forschungsergebnisse ständig verändert, ist in (Tabelle 1) die aktuellste systematische Stellung der in dieser Arbeit verwendeten Pilzarten nach dem ‚Index Fungorum‘ ([www.indexfungorum.org](http://www.indexfungorum.org)) aufgeführt. Diese Homepage wird von CABI (Commonwealth Agricultural Bureaux International) verwaltet, alle drei Monate aktualisiert und basiert auf KIRK *et al.* (2001).

**Tabelle 1:** Systematische Stellung der in dieser Arbeit verwendeten Pilzarten

<b>Art</b>	<i>Penicillium chrysogenum</i> Thom.	<i>Cladosporium cladosporioides</i> Fresen.	<i>Pyricularia oryzae</i> Cavara	<i>Alternaria alternata</i> Keissl.
<b>Familie</b>	Trichocomaceae	Mycosphaerellaceae	Magnaporthaceae	Pleosporaceae
<b>Klasse</b>	Euascomycetes	Euascomycetes	Euascomycetes	Euascomycetes
<b>Abteilung</b>	Ascomycota	Ascomycota	Ascomycota	Ascomycota

### 1.1.2 Ökologie

Erste fossile Funde aus dem Paläozoikum belegen die Existenz von Pilzen seit ca. 460 Mio. Jahren (REDECKER *et al.*, 2000). Es gilt jedoch als sicher, dass aquatische Formen bereits weit vor dieser Zeit existierten (DEACON, 2006). Seitdem ist es den Pilzen gelungen, nahezu alle Lebensräume auf der Erde zu besiedeln.

Pilze lassen sich anhand ihrer Lebensweise in drei Gruppen unterteilen: 1. Saprobionten, 2. Parasiten und Pathogene und 3. Symbionten.

#### SAPROBIONTEN

Die meisten Pilze sind Saprobionten, die abgestorbenes organisches Material zersetzen und somit dem Stoffkreislauf wieder zuführen. Sie spielen, neben den Bakterien, die Hauptrolle in der Zersetzung von Biomasse. Im Gegensatz zu diesen können sie jedoch durch ihr Myzelwachstum in das Material eindringen und es so auch mechanisch zerstören. Von Pilzen kann dabei ein weites Spektrum an organischen Komponenten verwendet werden. Die meisten Pilze sind in der Lage, Polysaccharide wie Stärke und sogar Cellulose und Chitin abzubauen. Selbst Lignin wird von ihnen effizient abgebaut (HAMMEL, 1997). Keratin kann nur von einigen Spezialisten verwertet werden (DEACON, 2006). Eine physiologische Besonderheit von Pilzen ist hierbei die Sezernierung von Polymerasen als Exoenzyme, um diese komplexen Polysaccharide, die nicht über die Zellwand der Hyphen aufgenommen werden können, extrazellulär bis zu Monosacchariden zu spalten und erst dann in die Zelle aufzunehmen. Diese Exoenzymausscheidung erfolgt an der Hyphenspitze und sorgt so gleichzeitig dafür, dass das Myzel tiefer in das organische Material eindringen kann.

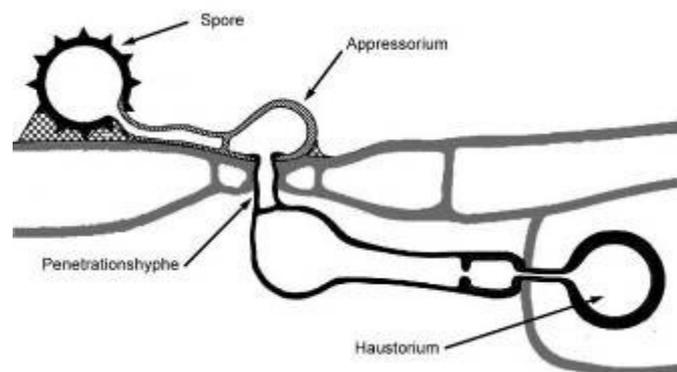
Eine besondere Rolle kommt den Pilzen bei der Spaltung von Zellulose und Hemizellulosen zu, die zusammen ca. 70% des Pflanzenmaterials ausmachen (DEACON, 2006). Dieses komplexe Polysaccharid kann neben Bakterien nur von Pilzen in Glukose aufgespalten werden. Was in einem biologischen System unerlässlich ist, um den Stoffkreislauf zu schließen, führt in vom Menschen geschaffenen Systemen zu Problemen. So sind in gemäßigten Zonen

Basidiomyceten die Hauptverursacher von Holzschäden an Bauwerken (RAYNER und BODDY, 1988).

Auf Grund ihrer Fähigkeit, unterschiedlichste organische und anorganische Substanzen zu verwerten, sind Pilze an Bauwerken nicht nur im Bereich von Holzkonstruktionen ein Problem. Nahezu sämtliche verwendete Baustoffe können durch Pilze bewachsen werden, wodurch sie immense wirtschaftliche Schäden verursachen. So wurden Pilze im Sandstein alter Gebäude (DE LA TORRE *et al.*, 1991), auf verputzten Fassaden jüngerer Gebäude (KASTIEN, 1999) und selbst auf Gläsern von Kirchenfenstern nachgewiesen (KAISER *et al.*, 1994). Hierauf wird im Detail später in dieser Arbeit eingegangen.

#### PARASITEN UND PATHOGENE

Pathogene und parasitierende Pilze sind eine Hauptursache vieler Krankheiten bei Pflanzen, seltener bei Tieren und Menschen. So werden weltweit ca. 75% aller Pflanzenkrankheiten durch Pilze verursacht (WHEELIS *et al.*, 2002), in Mitteleuropa sogar über 80% (MÜLLER und LOEFFLER, 1992). Dies führt zu einem geschätzten weltweiten Ertragsausfall von 25% (AGRIOS, 1997). Beim Menschen können sie Mykosen, Atemwegserkrankungen und die Sporen Allergien hervorrufen (MÜCKE und LEMMEN, 2000).



**Abbildung 1:** Verlauf der Infektion einer Pflanze durch einen pathogenen Pilz, verändert nach MENDGEN *et al.* (1996)

Die Infektion von Pflanzen verläuft pathogenen Pilzen häufig wie in Abbildung 1 zu sehen. Nach Auftreffen der Pilzspore auf der Pflanzenoberfläche und passiver

Adhäsion wächst aus ihr der Keimschlauch aus. Häufig entwickelt sich hieraus, durch weiteres Wachstum, das Appressorium, welches durch seine starke Haftung an der Pflanzenoberfläche als Verankerung für die darauf folgende Penetration dient. Diese wird durch spezielle Penetrationshyphen ermöglicht, die entweder durch Wunden im Gewebe, natürliche Öffnungen (z. B. Stomata) oder direkt durch die intakte Epidermis eindringen (MENDGEN *et al.*, 1996). Hierbei werden innerhalb der Penetrationshyphen Drücke von bis zu 8 MPa aufgebaut, um Kutikula und Zellwand der Wirtszellen zu durchstoßen (HOWARD *et al.*, 1991). Innerhalb der Epidermis bilden sich die Haustorien aus. Dies sind speziell für die Nährstoffaufnahme modifizierte Hyphen. Hierbei unterscheidet man zwischen den Haustorien von nekrotrophen und biotrophen Pilzen. Bei nekrotrophen Pilzen dringen die Haustorien in die Epidermiszellen ein und zerstören sie durch die Ausscheidung von Mykotoxinen oder Enzymen. Die Nährstoffe aus dem zerstörten Gewebe nutzt der Pilz für sein weiteres Wachstum. Die Haustorien von biotrophen Pilzen hingegen dringen lediglich in die Zellwand der Wirtszellen ein, zerstören die Zellen jedoch nicht, sondern ernähren sich von den Stoffwechselprodukten des lebenden Pflanzengewebes. Dafür bilden sie oft spezielle ‚Nährstoff-absorbierende‘ Strukturen, aus, die das lebende Gewebe förmlich anzapfen (DEACON, 2006).

## SYMBIONTEN

Viele Pilze sind Symbiosepartner anderer Organismen. In einigen Fällen sind die Beziehungen zwischen den symbiotischen Partnern so eng, dass sie nicht ohne den anderen existieren können. Eine Zusammenfassung der Symbiosen, an denen Pilze beteiligt sind, zeigt Tabelle 2.

**Tabelle 2:** Hauptarten der Symbiosen mit Pilzbeteiligung, verändert nach DEACON (2006)

<b>Art der Symbiose</b>	<b>Beteiligte Pilze</b>	<b>Andere Partner</b>
Mykorrhiza	Ascomycota, Basidiomycota, Glomeromycota	Bryophyten, Pteridophyten, Gymnospermen, Angiospermen
Flechten	Ascomycota, manchmal Basidiomycota	Grünalgen oder Cyanobakterien
Pilzendophyten bei Gräsern	Neotyphodium und Pilze der Familie Clavicipitaceae (Ascomycota)	Poaceae
Pansen Symbiosen	Obligat anaerobe Chytridiomycota	Wiederkäuer (Ruminantia)
Holzbrütende Borkenkäfer Ambrosiakäfer) und Ambrosiapilz	Verschiedene Basidiomycota und Ascomycota	Borkenkäfer (Scolytidae)
Pilzgärten der Blattschneiderameisen und Termiten	<i>Termitomyces</i> , <i>Leucagaricus</i> (Basidiomycota)	Pilzzüchtende (attine) Ameisen und Termiten

Im Folgenden wird jedoch nur auf die zwei wichtigsten Arten eingegangen.

Ein klassisches Beispiel für eine Symbiose mit Pilzbeteiligung sind Flechten. Flechten sind eine Symbiose aus mindestens zwei unterschiedlichen Organismen, einem Pilz (Mykobiont) und einem zur Photosynthese fähigen Partner (Photobiont), entweder einer Grünalge oder einem Cyanobakterium. Durch die Symbiose dieser zwei oder mehr Partner entsteht ein vollkommen neuer Organismus mit einer eigenen Morphologie. Es gibt schätzungsweise 13.000 bis 30.000 Flechtenarten weltweit, und ca. 20 % aller bekannten Pilzarten leben in einer solchen Symbiose.

Die zweite, wohl bekannteste Symbiose, an der Pilze beteiligt sind, ist die Mykorrhiza. Diese Art der Symbiose zwischen bestimmten Pilzen und den Wurzeln oder Rhizoiden von Pflanzen tritt bei ca. 80% aller Tracheophyta auf (DEACON, 2006). Auch bei dieser Symbiose ist die Aufgabe des Pilzes die bessere Versorgung der Pflanze mit Wasser und Mineralien. Im Gegenzug erhält der Pilz photosynthetisch synthetisierte Zucker für das eigene Wachstum.

## ABIOTISCHE WACHSTUMSFAKTOREN

Das Wachstum aller Pilze, unabhängig davon auf welche Weise sie ihre Nährstoffe beziehen, wird maßgeblich durch folgende abiotische Faktoren beeinflusst: Temperatur, Wasserverfügbarkeit, Nährstoffverfügbarkeit und pH-Wert. Auf Pilzsporen wird in diesem Kapitel nicht weiter eingegangen, da diese in der Lage sind selbst extremste Umweltbedingungen zu überleben.

### Temperatur

Pilze kommen in allen Klimazonen der Erde vor. Die meisten Pilze sind mesophil, das heißt, das sie in einem Temperaturbereich von 10 - 40 °C wachsen können, ihr Optimum jedoch bei 22 – 25 °C liegt (DEACON, 2006). Zu dieser Gruppe gehören auch die in dieser Arbeit verwendeten Pilzarten.

Einige Spezialisten sind jedoch in der Lage sogar Oberflächen in arktischen Klimazonen zu besiedeln. Solche, psychrophil genannte, Pilze können in einem Temperaturbereich zwischen 4 und 20 °C, oder darunter, wachsen und ihr Stoffwechseloptimum liegt nicht höher als 16 °C (MORRIS und CLARKE, 1987). Hierzu gehören einige Arten der Gattungen *Penicillium* und *Cladosporium*. Einige Arten der Gattung *Aureobasidium*, die von Felsen in der Antarktis isoliert wurden, tolerieren sogar Temperaturen von -70 bis -80 °C und werden als psychrotolerant bezeichnet, da sie lediglich in der Lage sind, solche Temperaturen zu überleben, dabei jedoch kaum noch Stoffwechselaktivität zeigen (SMITH, 1993).

Im Gegensatz dazu existieren Pilze, die in der Lage sind, bei Temperaturen über 50 °C zu wachsen. Als thermophil werden hierbei solche Arten bezeichnet, deren Bereich für das Wachstum zwischen  $\geq 20$  °C und  $\geq 50$  °C liegt. Ihr Wachstumsoptimum haben diese Pilze bei 40 - 50 °C (COONEY und EMERSON, 1964). Die absolute Obergrenze für das Pilzwachstum liegt bei 60 - 62 °C (TANSEY und BROCK, 1972). Thermotolerante Arten wachsen in einem Temperaturbereich von unter 20 °C bis ca. 55 °C (MAHESHWARI *et al.*, 2000).

## Wasserverfügbarkeit

Ein weiterer Umweltfaktor, der für das Wachstum von Mikroorganismen, und somit auch von Pilzen, entscheidend ist, ist die Verfügbarkeit von Wasser. Denn nur beim Vorhandensein von Wasser ist es möglich, Nährstoffe durch Zellwand und -membran aufzunehmen und auf gleichem Wege Exoenzyme zu sezernieren. Ein Maß für die Wasserverfügbarkeit ist die Wasseraktivität ( $a_w$ -Wert). Dieser Wert ist definiert als der Quotient aus dem Wasserdampfdruck über einem Substrat ( $p$ ) und dem über reinem Wasser ( $p_0$ ):  $a_w = p/p_0$ . Das heißt, je höher der Wert, desto besser ist die Wasserverfügbarkeit. Ideal für das Wachstum von Pilzen ist ein  $a_w$ -Wert zwischen 0,9 und 1. Einige Arten, besonders aus den Gattungen *Aspergillus* und *Penicillium*, sind jedoch in der Lage, noch bei  $a_w$ -Werten unter 0,85 zu wachsen, weshalb sie auch als xerophil bezeichnet werden (ABELLANA *et al.*, 1999). Der Pilz *Xeromyces bisporus* betreibt sogar noch bei einem  $a_w$ -Wert von 0,61 Stoffwechsel (JAY, 2005).

## pH-Wert

Ebenfalls bedeutend für das Wachstum von Pilzen ist der pH-Wert des Mediums, das sie besiedeln. In der Regel sind Pilze in der Lage in einem pH-Wertbereich von 4 - 8,5. Einige Pilze, die als säuretolerant bezeichnet werden, können noch bei einem pH-Wert von 2 wachsen. Dies gilt ebenso für sehr alkalische Lebensräume. Einige Arten der Gattung *Chrysosporium*, die aus Vogelnestern isoliert wurden, wachsen bis zu einem pH von 11 (DEACON, 2006).

## Licht

Licht spielt als Umweltfaktor für das Wachstum von Pilzen kaum eine Rolle. Es ist lediglich bekannt, dass besonders UV-Licht die Pigmentierung der Pilzhyphen stimuliert. Diese dient dazu, den Pilz vor UV-Licht-induzierten Schäden zu schützen. Desweiteren kann Licht die Produktion von Sporen (sexuellen und asexuellen) stimulieren (DEACON, 2006).

## Nährstoffverfügbarkeit

Von der enormen Anpassungsfähigkeit zeugt auch, dass Pilze in der Lage sind, unterschiedlichste Substrate zu besiedeln und diese als Nährstoffquellen zu nutzen (WAINWRIGHT, 1993). So bewachsen sie menschliche Schleimhäute (MÜCKE und LEMMEN, 2000) genauso wie Felsen in Wüstengebieten (STALEY *et al.*, 1982) oder das Mauerwerk von Gebäuden (KRUMBEIN *et al.*, 1992). Da es sich bei ihnen um heterotrophe Organismen handelt, benötigen sie eine organische Kohlenstoffquelle für ihr Wachstum. Dennoch gibt es Nachweise in der Literatur, wo über ein Pilzwachstum in nährstofffreiem Silicagel berichtet wird (TRIBE und MABADEJE, 1972). Dies lässt sich zum Teil damit erklären, dass selbst gasförmige Kohlenwasserstoffe aus der Atmosphäre für das Wachstum genutzt werden können (FRIES, 1973; WATSON *et al.*, 1984).

### 1.1.3 Verbreitung und Besiedlung

Nahezu alle Pilze verbreiten sich außer durch Myzelwachstum über Sporen. Dies sind im Allgemeinen mikroskopische ein- oder mehrzellige Einheiten, die entweder der Verbreitung dienen oder Dauerstadien eines Pilzes darstellen. Sie werden entweder vegetativ oder sexuell gebildet. Sie sind in Ihrer Form und Verbreitungsweise stark unterschiedlich.

#### SPORENPRODUKTION

Da nicht nur die Sporen, sondern auch die Sporenproduktion und somit der Lebenszyklus der Pilze sehr unterschiedlich ist, soll hier nur beispielhaft auf den Lebenszyklus der Ascomycota eingegangen werden (Abbildung 2), zu denen die in dieser Arbeit verwendeten Pilze zählen. Die hauptsächliche Verbreitung der Ascomycota findet über vegetative Sporen, die Konidiosporen oder kurz Konidien statt. Diese werden in der Konidiogenese an der Spitze spezialisierter Hyphen, der Konidiophoren, durch konidiogene Zellen gebildet.



### Autochtone Verbreitung

Einige coprophile (Dung-liebende) Pilze bauen in einem Vesikel unterhalb des Sporangiums einen hohen Turgordruck auf. Anschließend wird die Trennwand, die Vesikel und Sporangium voneinander trennt, enzymatisch zersetzt, wodurch das Vesikel schlagartig zerplatzt und das Sporangium bis zu 2 m weit schleudert.

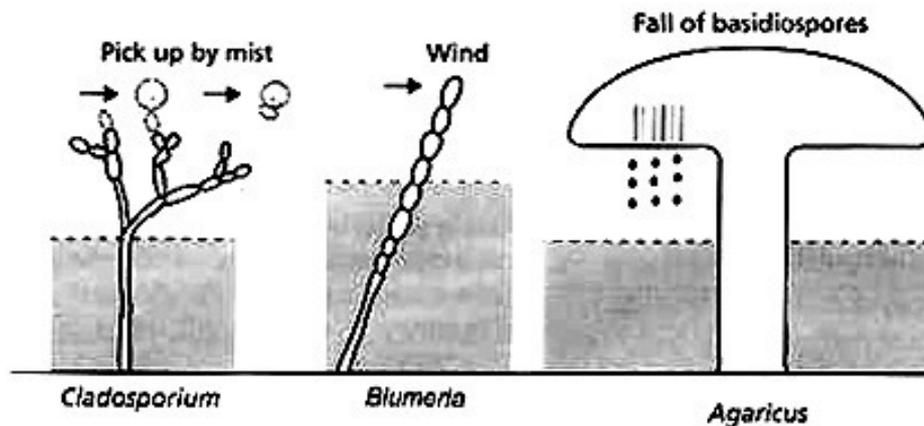
### Tierverbreitung

Eine andere Art der Verbreitung ist die durch Tiere (Zoochorie). So werden z. B. die Pilze *Ophiostoma ulmi* und *Ophiostoma novo-ulmi*, die das Ulmensterben verursachen, durch Borkenkäfer der Gattungen *Scolytus* und *Hylurgopinus* übertragen. Die so übertragenen Sporen keimen im Xylem der von den Käfern befallenen Bäume aus und sporulieren in den durch sie gefressenen Gängen, so dass die jungen Käfer, die sich aus den in die Gänge gelegten Eiern entwickeln, erneut durch die Sporen kontaminiert werden und sie so zum nächsten Baum weiter tragen (DEACON, 2006). Dieses Beispiel zeigt eine Beziehung zwischen Pilz und Insekt, in dem ein spezifischer Pilz auf die Verbreitung durch ein spezifisches Insekt angewiesen ist. Andere Beispiele zeigen, dass die Verbreitung der Sporen durch Tiere häufig unspezifisch ist. So werden z. B. Mykorrhizapilze durch Säugetiere (REDDELL *et al.*, 1997) oder die Sporen der Rutenpilze (Phallaceae) durch diverse Insekten verbreitet (HANSKI, 1989; TUNO, 1998).

### Wind- und Wasserverbreitung

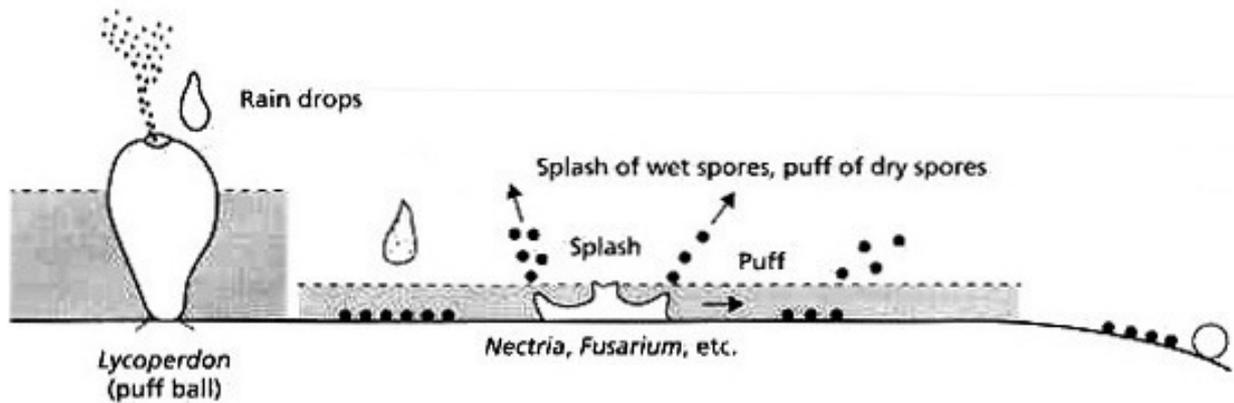
Die meisten im Boden lebenden, saprotrophen oder symbiotischen Pilze jedoch bilden Sporen, die durch Wind oder Regentropfen verbreitet werden. Die Grundvoraussetzung für diese Art der Verbreitung ist, dass die Sporen die laminare Grenzschicht, die jede Oberfläche umgibt, durchbrechen. Die Dicke dieser Grenzschicht ist abhängig von der herrschenden Windgeschwindigkeit über der Oberfläche, deren Turbulenzen und der Rauigkeit der Oberfläche (GRACE und COLLINS, 1976). Deshalb kann sie von unter einem Millimeter auf einem luftumströmten Blatt bis zu einem Meter oder mehr auf dem Waldboden reichen

(DEACON, 2006). Eine Möglichkeit hierfür ist die Ausbildung von sporentragenden Strukturen, die über die laminare Grenzschicht hinausragen, so dass die Sporen von Wind oder Nebel erfasst werden können (Abbildung 3). Diese Strukturen unterscheiden sich stark in ihrer Größe. So sind es bei den echten Mehltaupilzen wie *Blumeria* einfache, wenige Zellen lange Sporenketten, bei den Basidiomyceten hingegen sind die Fruchtkörper mitunter mehrere Zentimeter hoch.



**Abbildung 3:** Bildung von sporentragenden Strukturen zur Sporenfreisetzung über der laminaren Grenzschicht (grau schattiert), verändert nach DEACON (2006)

Eine andere Möglichkeit der Überwindung der Grenzschicht ist die Nutzung der kinetischen Energie von Regentropfen. Im einfachsten Falle liegen die Sporen lediglich auf einer Oberfläche. Fällt ein Regentropfen auf die Oberfläche, so durchdringt er die Grenzschicht, schlägt auf der Oberfläche auf und spreitet dabei. Bei diesem Spreitvorgang werden die Sporen entweder durch den erzeugten Luftstoß fortgeschleudert oder durch den Tropfen aufgenommen, der sie bei seinem Rückprall oder beim Abfließen von der Oberfläche mit sich fortnimmt (FITT *et al.*, 1989).



**Abbildung 4:** Unterschiedliche Möglichkeiten der Sporenverbreitung durch Regentropfen. Verändert nach DEACON (2006)

Einige Pilze haben Strukturen ausgebildet, die ausschließlich der Sporenverbreitung durch Regen dienen, hierzu zählen unter anderem die Boviste. Hier sind die reifen Basidiosporen in einen papierartigen Fruchtkörper mit apikaler Öffnung eingeschlossen. Fällt nun ein Regentropfen auf diesen Fruchtkörper, so werden die Sporen durch die Öffnung ausgeblasen (Abbildung 4).

Einmal in der Luft, können Sporen über viele Kilometer verdriftet werden. So wurden *Penicillium*-Sporen in der Stratosphäre in einer Höhe von 20 km (GRIFFIN, 2004) und selbst noch in der Mesosphäre in einer Höhe von 77 km nachgewiesen (IMSHENETSKY *et al.*, 1978). Auch ein transatlantischer Transport von Pilzsporen in Staub aus der Sahara wurde bereits nachgewiesen (GRIFFIN *et al.*, 2003).

Die Sporenkonzentrationen in der Luft schwanken stark, je nach Ort und Witterungslage. So wurden in Deutschland in Sommermonaten, Sporenkonzentrationen von ca. 13.000 Sporen/m<sup>3</sup> Luft nachgewiesen, wogegen die durchschnittliche Konzentration in den Wintermonaten bei ca. 900 Sporen/m<sup>3</sup> Luft lag (TRAUTMANN *et al.*, 2005). Ebenso gravierend sind die unterschiedlichen Anteile verschiedener Sporen an der Gesamtsporenzahl zu unterschiedlichen Jahreszeiten. Während in den Sommermonaten der Anteil der Basidiosporen an der Gesamtsporenzahl bei ca. 65% lag, betrug er im Winter 86 %. Dagegen lagen die Anteile der Ascomyceten, besonders von *Cladosporium*, mit 27% im Sommer, im Gegensatz zu 4% im Winter, deutlich höher (GABRIO, 2004).

## Wege auf die zu besiedelnde Oberfläche

Aus der Luft auf die zu besiedelnden Oberflächen gelangen die Sporen hauptsächlich auf drei Wegen: Durch Sedimentation, Aufprallen auf der Oberfläche oder durch Auswaschung durch Regen oder Nebel. Auf welchem der drei Wege Pilze auf Oberflächen gelangen, hängt stark von den Witterungsbedingungen und der Form und Größe der Sporen ab (LYON und EVERSMEYER, 1984). Bei geringen Windgeschwindigkeiten und trockener Witterung spielt die Sedimentation, das heißt das einfache Absinken der Sporen aus der Luft durch ihre größere Dichte, die Hauptrolle. Mit der Formel  $v_t = 0,0121 \cdot r^2$  lässt sich die Sinkgeschwindigkeit  $v_t$  [m/s] der Sporen in Abhängigkeit von ihrem Radius  $r$  berechnen (DEACON, 2006). So sinken z. B. Sporen des Bovisten *Bovista plumbea* mit einer Geschwindigkeit von 0,24 cm/s zu Boden.

Bei höheren Windgeschwindigkeiten gewinnt das Aufprallen der Sporen auf der Oberfläche, was gleichbedeutend mit einem Herausfangen der Sporen aus dem Luftstrom durch die Oberfläche ist, an Bedeutung (CHAMBERLAIN, 1967b). Hierbei ist die Größe der Sporen entscheidend. Je größer und damit schwerer eine Spore ist, desto geringer muss die Windgeschwindigkeit sein, um sie auf einer Oberfläche auftreffen zu lassen. Dies hängt mit dem Impuls (Masse x Geschwindigkeit) der Spore zusammen. Je größer der Impuls, desto eher wird sie ihre Bewegungsrichtung beibehalten. Da heißt im praktischen Fall, eine schwere Spore, die sich in einem Luftstrom befindet, der durch ein Objekt abgelenkt wird, tendiert eher dazu, ihre Richtung beizubehalten und somit auf die Oberfläche aufzuschlagen als eine leichte Spore. Aus diesem Grunde sind die Sporen phytopathogener Pilze, die Pflanzen über ihre Blätter infizieren, meist sehr groß (30 – 40 µm) (DEACON, 2006).

Bei Regen werden die Sporen aus der Luft ausgewaschen und gelangen so auf die Oberfläche. Lange Zeit wurde behauptet, dass dieser Depositionsweg die größte Rolle spiele. Tatsächlich jedoch sind Trocken- und Regendeposition, was den Eintrag auf eine Oberfläche betrifft, in etwa gleich (WESTBROOK, in prep.). Dies liegt daran, dass es deutlich mehr trockene als Stunden mit Niederschlag gibt. Bei Sporen, die durch Regen auf die Oberflächen gelangen, ist jedoch ein Auskeimen viel wahrscheinlicher, da die zu besiedelnde Oberfläche feucht ist und somit die Keimung direkt beginnt (WESTBROOK, in prep.). Beim Transport von Sporen auf eine Oberfläche durch Regen können zwei Wege unterschieden werden. Im ersten Weg

fungieren die Sporen als Kondensationskeime in Wolken, was zur Folge hat, dass sie, sobald sie von Wasser umschlossen sind, vor Austrocknung und extremer Strahlung geschützt sind. Dadurch wird ihre Überlebenschance stark erhöht. Dies gilt allerdings nur für hygroskopische Sporen mit einer Größe von 0,1 bis 1µm. Diese Sporen gelangen mit dem kondensierten Wasser aus den Wolken auf die Oberflächen. Der zweite Weg ist die Auswaschung von Sporen in der Luft durch die Regentropfen. Hierbei ist die Effizienz der Auswaschung bei Partikeln mit einer Größe von 20 – 30 µm (große Sporen) sehr groß (CHAMBERLAIN, 1967a). Bei Partikelgrößen zwischen 0,1 und 2,5 µm werden nur noch etwa 50% ausgewaschen. Unterhalb einer Größe von 0,1 µm steigt die Quote erneut auf ca. 90 % an (LUDLAM, 1967).

#### BESIEDLUNG

Nach der Landung auf einer Oberfläche beginnt der Bewuchs derselben, bzw. die Infektion des Wirts, stets mit dem Anhaften der Spore (Adhäsion). Dieser Adhäsionsvorgang läuft in zwei Schritten ab. Der erste Schritt ist die Primäradhäsion. Sie erfolgt sofort nach dem Auftreffen der Spore auf der Oberfläche und ist ein rein physikalischer Prozess. Sie ist relativ schwach, reversibel und beruht auf unspezifischen Kapillar-, van-der-Waals, elektrostatischen und hydrophoben Kräften zwischen Spore und Oberfläche (AMIRI *et al.*, 2005). In einigen Untersuchungen wurde festgestellt, dass ein Einfluss der Hydrophobie der Oberfläche auf die Adhäsion vorliegt (DOSS *et al.*, 1993; MERCURE *et al.*, 1994). So wurde eine stärkere Adhäsion von Sporen auf hydrophoben als auf hydrophilen Oberflächen nachgewiesen. Außerdem konnte nachgewiesen werden, dass die Rauigkeit der Oberfläche ebenfalls einen Einfluss auf die Adhäsion hat (SCHERGE und GORB, 2001). Auf diese Art der Adhäsion wird in Kapitel 4.3 ausführlicher eingegangen.

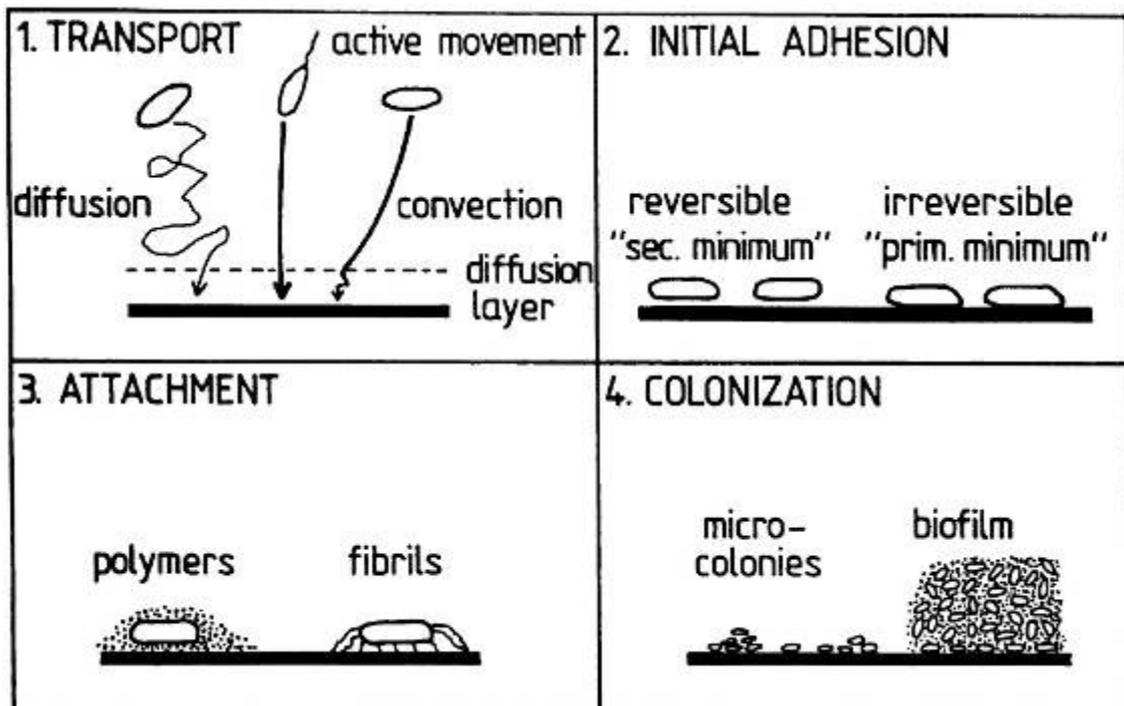
Der zweite Schritt der Adhäsion ist ein aktiver Vorgang, der meist auf der Sezernierung extrazellulärer polymerer Substanzen (EPS), häufig wasserunlösliche Glykoproteine, beruht (TUCKER und TALBOT, 2001). Bei *Blumeria graminis* geschieht dies bereits Sekunden nach Auftreffen auf die pflanzliche Wirtsoberfläche (NIELSEN *et al.*, 2000). Dieser Adhäsionsvorgang wird häufig durch bestimmte äußere Bedingungen initiiert, oft durch das Vorhandensein hoher Luftfeuchte (TUCKER und

TALBOT, 2001). Sporen, die auf diese Weise auf der Oberfläche haften, können von ihr nicht mehr entfernt werden, ohne diese zu zerstören. Es handelt sich also um eine irreversible Adhäsion, die meist direkt der Keimung der Spore vorausgeht.

Ausgehend von dieser Spore beginnt die Keimung und der Bewuchs einer Oberfläche oder die Infektion des Wirts. Zunächst schwillt die Spore durch Wasseraufnahme, dann durch aktive metabolische Prozesse, an. Anschließend wächst aus der Zellwand die erste Hyphe, der Keimschlauch, aus. Ausgehend von dieser Hyphe bildet sich durch weiteres Wachstum und Verzweigung das Myzel (DEACON, 2006).

## BIOFILMBILDUNG

Auf Oberflächen folgt auf dieses reine Wachstum des Pilzes häufig die Bildung eines Biofilms. Biofilme sind die dominante Lebensform von Mikroorganismen, unabhängig vom Ökosystem in dem sie sich befinden (COSTERTON *et al.*, 1995). Es wird sogar vermutet, dass mehr als 99% der auf der Erde lebenden Mikroorganismen in Biofilmen vorkommen (COSTERTON *et al.*, 1987). Unter einem Biofilm versteht man: "... eine aus Mikroorganismen gebildete sessile Gemeinschaft von Zellen, die irreversibel an ein Substrat, eine Grenzfläche oder aneinander gebunden sind, in eine Matrix aus extrazellulärer polymerer Substanz eingebettet sind, die sie selbst produzieren, und die einen geänderten Phänotyp im Bezug auf Wachstumsrate und Gentranskription zeigen" (DONLAN und COSTERTON, 2002). Die Bildung eines Biofilmes ist ein komplexer Vorgang, der von einer Reihe verschiedener Umweltfaktoren beeinflusst wird. Obwohl Biofilme sehr heterogene Systeme darstellen und hinsichtlich ihrer Zusammensetzung und Struktur eine große Variabilität aufweisen, gibt es für die Abfolge der Biofilmbildung ein charakteristisches Schema. VAN LOOSDRECHT *et al.* (1995) geben dabei vier charakteristische Phasen für die Besiedlung einer Oberfläche an (Abbildung 5).



**Abbildung 5:** Verlauf der Biofilmbildung in 4 Phasen nach VAN LOOSDRECHT *et al.* (1995)

Dem ersten Schritt (Transport) folgen Primäradhäsion und irreversible Anheftung der Zellen an die Oberfläche. Die letzte Phase der Biofilmbildung wird als Kolonisation bezeichnet und beschreibt die Ausbildung des „reifen Biofilmes“.

Biofilme bestehen, neben den eigentlichen Mikroorganismen, zu 79-95% aus Wasser, welches in den stark hydratisierten extrazellulären polymeren Substanzen (EPS) gehalten wird. Außerdem aus eingefangenen Partikeln und Ablagerungen, sorbierten Ionen und diversen organischen Molekülen (SCHAULE *et al.*, 1999).

In vielen Bereichen des menschlichen Lebens stellen Biofilme ein Problem dar. So wachsen sie in Trinkwasserleitungen, was eine Kontamination mit Bakterien zur Folge haben kann (BOE-HANSEN *et al.*, 2002), bewachsen medizinische Implantate, was zu Infektionen des Patienten führt (DONLAN und COSTERTON, 2002), beeinträchtigen die Wärmeleitung bei Wärmetauschern, was die Energieeffizienz von Kraftwerken deutlich reduziert (CASANUEVA-ROBLES und BOTT, 2005) und verursachen Biofouling und Biodeterioration natürlicher und technischer Oberflächen (BEECH und SUNNER, 2004; GAYLARDE *et al.*, 2003); (WARSCHEID und BRAAMS, 2000).

## 1.2 Bauschäden durch Pilzbefall

### 1.2.1 Biodeterioration

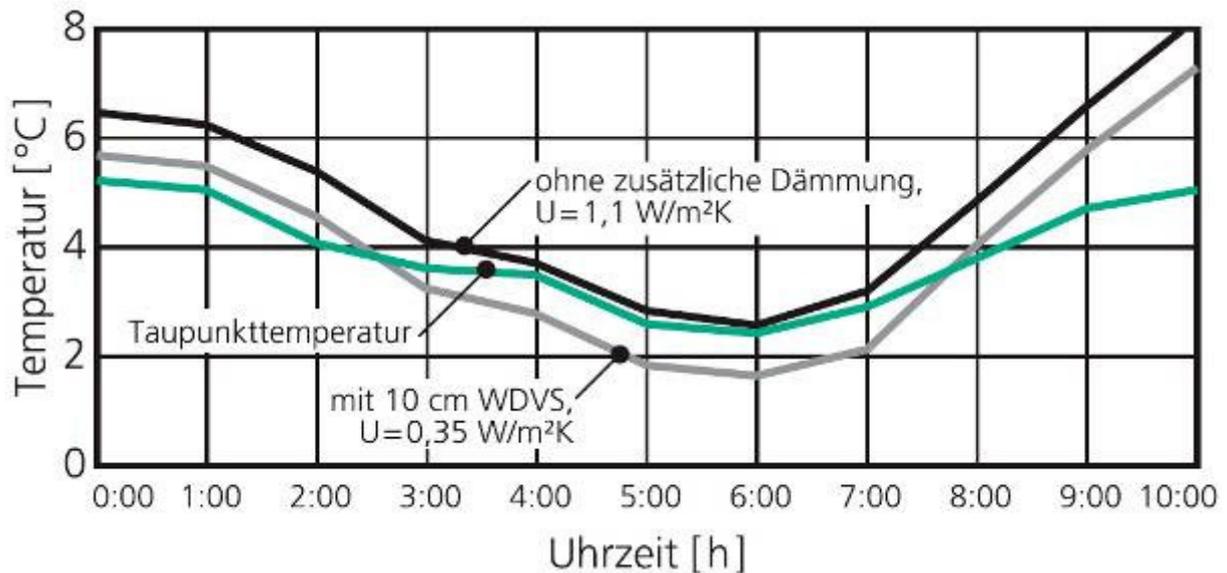
Ein Problem, mit dem die Menschen seit Jahrhunderten konfrontiert sind, ist der Bewuchs von unterschiedlichsten Materialien durch Mikroorganismen. Wenn diese Materialien dabei durch die Mikroorganismen zerstört werden, spricht man von Biodeterioration. Obwohl die Probleme hierdurch schon seit langem bekannt sind, ist der Begriff der Biodeterioration nur etwas mehr als 40 Jahre alt. Als erster definierte HUECK (1965, 1969) den Begriff mit folgender Bedeutung: „any undesirable change in the properties of a material caused by the vital activities of organisms“.

Das Ausmaß des mikrobiellen Anteils z. B. an der Gesteinsverwitterung ist ganz erheblich (ECKHARDT, 1991; LUNDGREN, 1989). Insbesondere zur Besiedlung von Natursteinbauten und den damit einhergehenden Substratschädigungen liegen mittlerweile umfangreiche Erkenntnisse vor (DE LA TORRE *et al.*, 1991; KRUMBEIN *et al.*, 1992; HEITZ *et al.*, 1996; VIDELA, 1996). Biodeterioration betrifft jedoch unterschiedlichste Materialien und alle Bereiche des menschlichen Lebens. So können Mikroorganismen nahezu sämtliche biologische Materialien wie beispielsweise Holz und Baumwolle zersetzen (ARCHER und LEBOW, 2006; GREEN und KUSTER, 1999). Außerdem korrodieren sie Metalle (DEXTER, 1986; GEESSEY, 1991; HEITZ, 1989; HEUBNER, 2000), und zerstören mineralische Werkstoffe, wie Beton (GU *et al.*, 1998; SAND und BOCK, 1991; WIKTOR *et al.*, 2007). Daneben können sie selbst Kunststoffe auflösen (JOHNSON *et al.*, 1993; POMMER, 1995; WESSEL, 1964), Gläser angreifen (MESSAL und GERBER, 1998) und sogar Mineralöl zersetzen (BENTO und GAYLARDE, 2001; LEAHY und COLWELL, 1990).

In den vergangenen 10 Jahren deutlich zugenommen haben durch Mikroorganismen verursachte Bauschäden, die nicht nur als optische Beeinträchtigungen, sondern als echte Baumängel eingestuft werden. Das Ausmaß dieser Schäden schätzte man in neuerer Zeit auf 2 - 4 Mrd. € pro Jahr allein in Deutschland (FLEMMING, 1995).

Eine der Hauptursachen für die Schadenszunahme besteht in der verbesserten Isolierung von Gebäuden im Zuge des Energieeinsparungsgesetzes von 1976. Auf dessen Basis wurde 1977 die erste Wärmeschutzverordnung in Kraft gesetzt, die in den Jahren 1982 und 1994 novelliert und 2002 durch die Energieeinsparverordnung

ersetzt wurde. Diese wiederum wurde 2004 novelliert. Diese Verordnungen hatten eine Wärmedämmung der Außenwände von Gebäuden zur Folge (HEGNER, 2007). Die Isolierung bedingt, dass Außenfassaden von Wohn- und Bürogebäuden nicht mehr von innen „mitgeheizt“ werden, sondern häufig und stark auskühlen. Dabei wird die Taupunkttemperatur auf den Fassadenoberflächen regelmäßig unterschritten (Abbildung 6) und es kommt zur Kondensation von Wasserdampf (SEDLBAUER *et al.*, 2004).



**Abbildung 6:** Tageszeitlicher Verlauf der Oberflächentemperaturen im Vergleich zur Taupunkttemperatur zur Verdeutlichung des Einflusses des Dämmstandards auf die nächtliche Unterkühlung einer nach Westen orientierten wärmedämmten Fassade. Aus SEDLBAUER *et al.* (2004)

Von der erhöhten Feuchtigkeit, die so auf den Oberflächen entsteht, profitieren insbesondere die Mikroorganismen (BLAICH und RASCHLE, 1999; KASTIEN, 1999). Zusammenfassend ist somit festzustellen, dass sich die Lebensbedingungen für Mikroorganismen auf Fassadenoberflächen durch die optimierten Isolierungen deutlich verbessert haben.

### 1.2.2 Schädigungsweise von Pilzen auf Baustoffen

Hauptsächlich vier Mikroorganismengruppen sind an der Schädigung von Baustoffen beteiligt: Bakterien, Blaualgen, Grünalgen und Pilze. Oft ist dabei schwer einzuschätzen, welchen Anteil an der Schädigung jede einzelne Organismengruppe hat. Es lassen sich lediglich Aussagen treffen, die sich auf die Lebensweise der Organismen stützen. So benötigen z. B. Grünalgen und Blaualgen als photoautotrophe Organismen Licht für die Photosynthese. Die heterotrophen Pilze hingegen benötigen in der Regel im Substrat eine Kohlenstoffquelle für ihr Wachstum (GAYLARDE *et al.*, 2003).

Bei Fassadenmaterialien wie Stein, Putz oder Fassadenfarbe, auf die in dieser Arbeit das Hauptaugenmerk gelegt wird, geht man überwiegend von einer Sukzession unterschiedlicher Mikroorganismengruppen aus. Als Primärbesiedler gelten in der Regel phototrophe Mikroorganismen (GAYLARDE und GAYLARDE, 2000; GRANT, 1982) oder Bakterien (O'NEILL, 1988). Die genaue Abfolge der Besiedlung ist jedoch noch nicht untersucht.

Alle auf Fassaden vorkommenden Mikroorganismen tragen mehr oder weniger zur Zerstörung derselben bei. Eine Übersicht über die verschiedenen Schädigungsmechanismen gibt (SAND, 1994). Als diejenigen mit dem größten Zerstörungspotenzial gelten jedoch die Pilze (BRAVERY, 1988). Zunächst stellen sie durch die häufige Schwarzfärbung ihres Myzels und ihrer Sporen eine optische Beeinträchtigung dar, besonders auf hellen Fassadenflächen (PERRICHET, 1987). Die Arten, auf die ein Pilz zerstörerisch auf eine Baustoffoberfläche wirken kann, sind vielfältig. Sie sind sowohl physikalischer als auch chemischer Natur. Ein Beispiel für einen rein mechanischen Zerstörungsmechanismus ist das Eindringen von Pilzhyphen in vorhandene kleine Risse in der Oberfläche. Wie in Kapitel 1.1.2 erwähnt können Pilze dabei Drücke von bis zu 8 MPa aufbauen. Dadurch sind sie in der Lage, die vorhandenen Risse zu vergrößern und so das Material poröser zu machen, was unter anderem dessen Wasseraufnahmefähigkeit verbessert. All dies trägt zu einer Verstärkung physikalischer Effekte wie dem Frost-Tau-Wechsel und dem Kristallisationsdruck von Salzen bei (GAYLARDE *et al.*, 2003). Schlussendlich führt dies zu einer mechanischen Zerstörung des Materials.

Der wichtigste chemische Faktor, der degenerativ auf Baustoffe einwirken kann, ist das Ausscheiden von organischen Säuren (PERRICHET, 1987), z. B. Essig-, Glucon-, Glucuron-, Ameisen-, Oxalessig-, Äpfel-, Bernstein-, Glyoxal- oder Zitronensäure (DANNECKER und SELKE, 1989; ECKHARDT, 1985; GÓMEZ-ALARCÓN *et al.*, 1994; RÖLLEKE, 1999; WESSEL, 1964). Neben diesen einfachen organischen Säuren können auch kompliziertere Moleküle wie Aminosäuren oder Polysaccharide mit ionischen Gruppen ausgeschieden werden (SAND, 1995). Diese Säuren führen, ebenso wie anorganische Säuren, zu Lösungsvorgängen von Mineralbestandteilen (KRUMBEIN und PETERSEN, 1990). Gleichzeitig können viele dieser Säuren Komplexe mit Metallionen bilden und diese so lösen. Dies führt ebenfalls zu korrosiven Effekten, besonders bei mineralischen Werkstoffen (SAND, 1995). Eine Aufstellung der bekannten Schädigungsmechanismen durch Pilze findet sich in Tabelle 3.

**Tabelle 3:** Effekte von Mikroorganismen auf Baustoffe. Verändert nach GAYLARDE *et al.* (2003)

<b>Activity</b>	<b>Effect(s)</b>	<b>Material</b>
Physical presence	Discoloration, Retention of water	All
Hydrolytic enzymes	Breakdown of components; Degradation of short-chain additives	Wood, painted surfaces, polymers, mortar, concrete
Filamentous growth	Disaggregation of material	Stone, concrete, mortar, wood
Acid production	Corrosion	Stone, concrete, mortar
Mobilisation of ions	Weakening and dissolution	Stone, concrete, mortar
Chelation of constituent ions	Weakening and dissolution	Stone, concrete, mortar
Release of polyols ( <i>e.g.</i> glycerol, polysaccharides)	Disruption of layered silicates	Siliceous stone

### **1.2.3 Maßnahmen zum Schutz gegen pilzinduzierte Bauschäden**

Um dem Bewuchs von Baustoffen durch Pilze entgegenzuwirken gibt es vielfältige Möglichkeiten und es wird ständig an neuen Strategien geforscht. In der Literatur werden grundsätzlich 3 verschiedene Arten von Maßnahmen unterschieden: 1. Konstruktive, wie z. B. Dachüberstände, 2. Chemische, hauptsächlich der Einsatz von Bioziden und 3. Bauphysikalische, die z. B. zu Veränderungen der Wasserverfügbarkeit auf der Baustoffoberfläche führen.

Diese Einteilung erscheint jedoch nicht klar und überholt, besonders aufgrund der Entwicklung moderner Baustoffe mit neuartigen Eigenschaften, die sich nicht eindeutig den oben genannten Gruppen zuordnen lassen. Deshalb wird im Rahmen dieser Dissertation eine neue Einteilung vorgeschlagen. Als erste Gruppe bleibt die der konstruktiven Maßnahmen bestehen, da sie eindeutig von den übrigen Gruppen abzugrenzen ist. Auch die zweite Gruppe, die der chemischen Maßnahmen bleibt bestehen und umfasst die Maßnahmen, die durch Änderung der chemischen Formulierung der Baumaterialien (z. B. Erhöhung des pH-Werts) oder den Zusatz von Bioziden das Wachstum von Mikroorganismen erschwert. Als neue und dritte Gruppe wird die der funktionalen Oberflächen eingeführt. Hierunter versteht man neuartige Oberflächen, die ohne den Zusatz giftiger Substanzen das Wachstum von Mikroorganismen auf ihnen erschweren. Hierbei unterscheidet man drei Typen funktionaler Oberflächen: 1. Oberflächen die durch spezielle Materialien die Unterschreitung des Taupunktes verkürzen (z. B. infrarotreflektierende Farben und Phasenwechselmaterialien), 2. Photokatalytische Oberflächen und 3. Superhydrophobe selbstreinigende Oberflächen.

#### **KONSTRUKTIVE MAßNAHMEN**

Wie oben bereits geschildert, ist ein Haupteinflussfaktor für mikrobiellen Bewuchs auf Gebäudeoberflächen die dort verfügbare Feuchtigkeit. Diese Feuchtigkeit kann auf zwei Wegen auf und in die Gebäudefassade gelangen, entweder über die Luft durch Niederschlag, Nebel oder Kondensation oder auf Grund von fehlenden Sperrschichten in der Wand durch den Boden. Konstruktive Maßnahmen an Gebäuden zielen darauf ab, diese verfügbare Feuchtigkeit zu reduzieren. Die aufsteigende Nässe aus dem Boden kann durch den Einbau von Sperrschichten in

das Mauerwerk verhindert werden (BRILL, 1995). Der Feuchtigkeitseintrag von außen kann nie ganz vermieden, höchstens reduziert werden. Hierfür gibt nur die Möglichkeit möglichst großer Dachüberstände, die die darunter liegende Fassade bei Regen trocken halten (NAY und RASCHLE, 2002).

#### CHEMISCHE MAßNAHMEN

Hierunter versteht man vor allem den Einsatz biostatischer oder biozider Substanzen. Dies ist die zurzeit gängigste Methode zur Verzögerung des mikrobiellen Bewuchses von Baustoffen. Derartige Maßnahmen beseitigen zwar nicht die Ursachen des Mikroorganismenbewuchses, können diesen jedoch über einen bestimmten Zeitraum verringern oder sogar verhindern (BRILL, 1995). Der große Nachteil von Bioziden besteht darin, dass sie durch Niederschlagswasser ausgewaschen werden und in den Boden sowie in Oberflächengewässer gelangen. Dort töten sie unspezifisch Zoo- und Phytoplankton ab und können sich sogar in der Nahrungskette anreichern. Selbst im Grundwasser hat man bereits Spuren von öko- und humantoxischen Bioziden nachgewiesen (MENGE, 2002). Die Palette der verwendeten Biozide, die im Fall von Fassadenfarben als Filmkonservierer bezeichnet werden, ist vielfältig. Zurzeit werden mehr als 250 Mikrobizide zur Verhinderung mikrobieller Materialzerstörung angeboten. Sie unterscheiden sich in ihren physikalischen und chemischen Eigenschaften, ihrer Effektivität und ihrem Wirkungsspektrum (PAULUS, 1995). Die enthaltenen Wirkstoffe können in 13 unterschiedliche Gruppen eingeteilt werden, die sich vor allem in ihrer Wirkungsweise auf die Mikroorganismen unterscheiden.

Die Einführung der EU-Biozidrichtlinie (EUROPÄISCHES PARLAMENT, 1998) hat in diesem Bereich bereits massive Auswirkungen gezeigt und wird sie auch in Zukunft noch zeigen. Denn in dieser Richtlinie werden die Zulassungsbedingungen für Biozide, die auch in Fassadenbeschichtungen verwendet werden, deutlich verschärft und die Erfüllung dieser Bedingungen wird alle 10 Jahre überprüft. So dürfen keine Biozide zugelassen werden, die als karzinogen, mutagen, reproduktionstoxisch, sensibilisierend oder bioakkumulierend eingestuft werden. Aktuell zugelassene Biozide werden bis zum Jahre 2010 dahingehend überprüft, ob sie in die Liste der zugelassenen Wirkstoffe aufgenommen werden. Es ist zurzeit davon auszugehen,

dass ab diesem Zeitpunkt viele der aktuell verwendeten Wirkstoffe nicht mehr zugelassen sein werden.

## FUNKTIONALE OBERFLÄCHEN

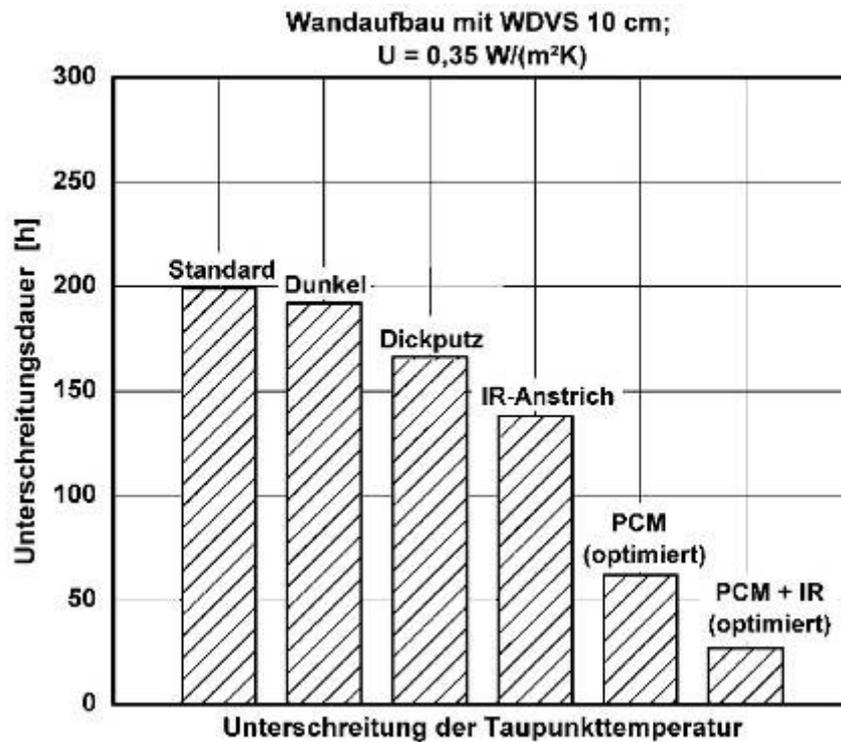
### Materialien zur Verkürzung der Taupunktunterschreitung

Die Beeinflussung der Taupunktunterschreitung geschieht auf unterschiedliche Arten. Dickputze mit einer Dicke von ca. 20 mm sind allein durch ihre größere Masse in der Lage, mehr Wärme zu speichern als herkömmliche Putze (Dicke 5 mm). Das heißt, dass sie tagsüber Wärme speichern und diese in der Nacht abgeben. Dies hat zur Folge, dass die Taupunkttemperatur später unterschritten wird als bei herkömmlichen Putzen. Der Nachteil ist jedoch, dass diese auch bei Erwärmung erst wieder später überschritten wird. Insgesamt lässt sich auf diese Weise die Dauer der Betauung um maximal 20 % reduzieren (SEDLBAUER *et al.*, 2004).

Ein anderer Ansatz ist die Verwendung von Infrarot reflektierenden (IR) Anstrichen. Bei diesen neuartigen Farben wurde der Emissionsgrad für langwellige Strahlung von über 90 % auf etwa 65 % gesenkt. Die verminderte thermische Abstrahlung führt tagsüber zu höheren Maximaltemperaturen und nachts zu verminderter Unterschreitung der Taupunkttemperatur (SEDLBAUER *et al.*, 2004).

Ein weiterer neuartiger Ansatz besteht im Einsatz so genannter Latentwärmespeichermaterialien (PCM = Phase-Change-Materials), die in die Außenfassade eingebaut werden. Diese Materialien, z. B. Paraffin, besitzen einen definierbaren Temperaturbereich des Phasenwechsels von fest nach flüssig und umgekehrt. Wird bei Erwärmung der Schmelzpunkt des PCM erreicht, erfolgt der Phasenwechsel vom festen in den flüssigen Aggregatzustand. Während dieses Übergangs werden große Wärmemengen vom PCM aufgenommen und gespeichert. Beim umgekehrten Vorgang erfolgt Wärmefreisetzung durch den Übergang vom flüssigen in den festen Aggregatzustand unter Wärmeabgabe an die Umgebung. Bei der Anwendung hinsichtlich des Schmelzpunktes optimierter PCM in der Fassade wird bis zu den frühen Morgenstunden die Taupunkttemperaturunterschreitung unterbunden. Anschließend kommt es allerdings zu einer Verzögerung bei der Erwärmung der Oberfläche, da bei der Erwärmung am Morgen der Phasenwechsel von fest nach flüssig erfolgen muss. Insgesamt ist aber eine deutliche Reduzierung des

Tauwasseranfalls gegeben (siehe Abbildung 7). Eine Latentwärmeschicht lässt sich auch mit einer IR-Farbe kombinieren. Erwartungsgemäß wird die Taupunkttemperaturunterschreitung auf diese Weise weiter minimiert, allerdings nur geringfügig, wie aus Abbildung 7 ersichtlich.



**Abbildung 7:** Effekt verschiedener Maßnahmen auf die Dauer der Taupunkttemperaturunterschreitungen im Zeitraum September bis Oktober, aus SEDLBAUER *et al.* (2004)

Auf photokatalytische und superhydrophobe selbstreinigende Oberflächen wird, wegen ihrer großen Bedeutung für die vorliegende Arbeit, in einem gesonderten Kapitel eingegangen.

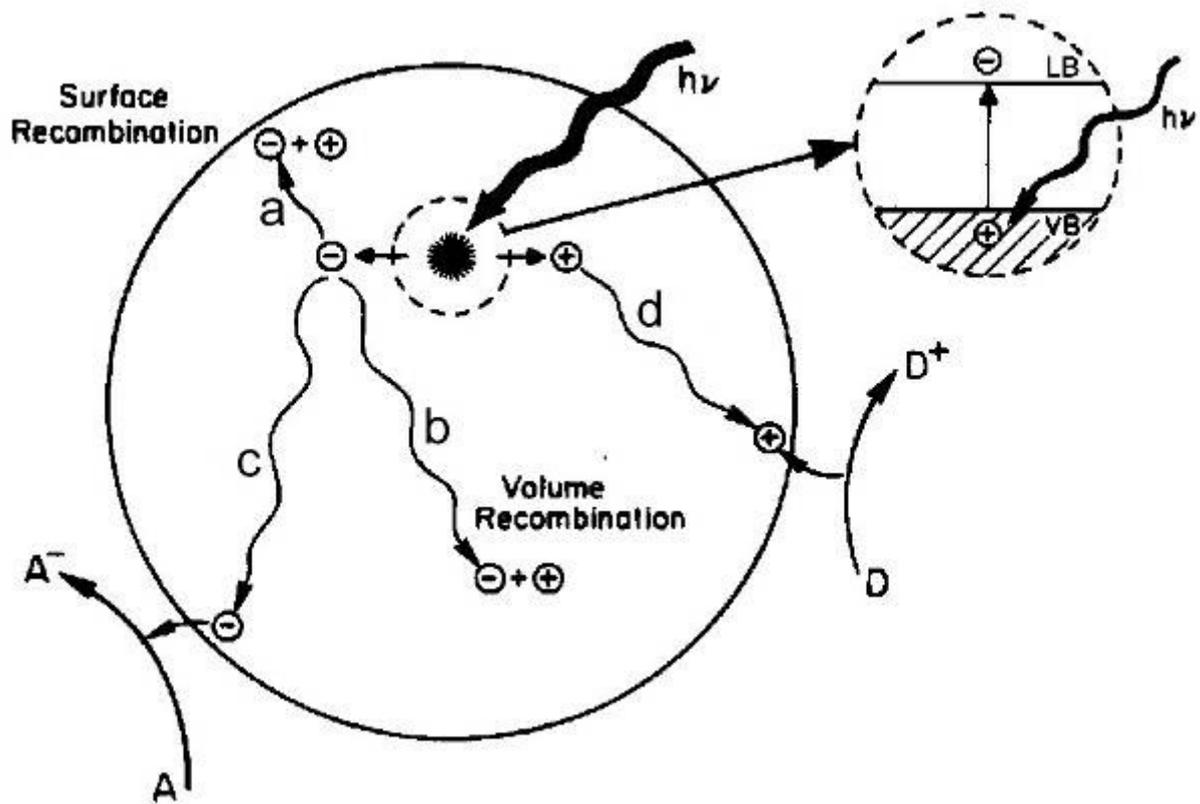
## 1.3 Photokatalytische und superhydrophobe selbstreinigende Oberflächen

Vor allem das Inkrafttreten der EU-Biozidrichtlinie (EUROPÄISCHES PARLAMENT, 1998) hat eine intensive Suche nach Alternativen zu bestehenden Systemen ausgelöst, um den Bewuchs von Baustoffen mit Mikroorganismen zu reduzieren oder sogar zu verhindern. Sehr Erfolg versprechend als Ersatz für biozidausgerüstete Systeme ist der Einsatz von biozidfreien funktionalen Oberflächen. Neben den bereits in Kapitel 1.2.3 erwähnten Systemen sind im Zusammenhang mit der Thematik Bautenschutz besonders photokatalytische Beschichtungen und superhydrophobe selbstreinigende Oberflächen (Lotus-Effect®) interessant, da sie aufgrund entsprechender Funktionalisierung selbstreinigende Eigenschaften aufweisen. Auf diese beiden Oberflächentypen wird in diesem Kapitel ausführlich eingegangen.

### 1.3.1 Photokatalytische Oberflächen

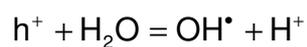
Eine Oberflächentechnologie, die zunehmend an Bedeutung gewinnt, ist die Photokatalyse. Photokatalytische Beschichtungen enthalten Titandioxid in seiner Anatas-Form, welches als Katalysator wirkt. Die photokatalytische Eigenschaft von  $\text{TiO}_2$  sowie die elektrochemischen Vorgänge dabei sind seit langem bekannt (GOODEVE und KITCHENER, 1938). Die atomare Besonderheit von Halbleitern, zu denen auch  $\text{TiO}_2$  gehört, ist, dass sie ein gefülltes Valenzband (VB) und ein leeres Leitungsband (LB) besitzen. Die Energiedifferenz zwischen dem niedrigsten Energiezustand im LB und dem höchsten im VB ist die so genannte Bandlücke, die im Gegensatz zu Isolatoren jedoch relativ klein ist. Sie ist so klein, dass bereits durch geringe Energiezufuhr der Übergang von Elektronen aus dem VB in das LB ermöglicht wird (Abbildung 8). Da bei  $\text{TiO}_2$  die Bandlücke 3,2 eV beträgt reicht hier zum Elektronenübergang die Anregung mit UV-Licht, welches eine Energie  $>3,3$  eV besitzt (LINSEBIGLER *et al.*, 1995). Der Anteil dieses Lichts an der Gesamtintensität des Sonnenlichts ist  $<10\%$ . (LINSEBIGLER *et al.*, 1995). Durch diesen Elektronenübergang entsteht im Leitungsband ein Elektronenüberschuss ( $e^-$ ) und im VB ein so genanntes ‚Loch‘ ( $h^+$ ). Im häufigsten Fall springt das Elektron unter Energieabgabe (Licht oder Wärme) an gleicher Stelle oder an der Oberfläche des Halbleiters wieder in das Valenzband zurück und schließt das entstandene ‚Loch‘

(Abbildung 8) (FOX und DULAY, 1993). Gelegentlich jedoch ‚wandert‘ das ‚Loch‘ bzw. das Elektron an die Halbleiteroberfläche und kann dort befindliche Atome bzw. Moleküle reduzieren oder oxidieren (Abbildung 8) (LINSEBIGLER *et al.*, 1995).



**Abbildung 8:** Schema der Lichtanregung eines Festkörperhalbleiters und Möglichkeiten der anschließenden Rekombination. Rekombination von Elektron und ‚Loch‘ unter Energiefreisetzung an der a) Halbleiteroberfläche oder b) an der Entstehungsstelle. Reduktion bzw. Oxidation von Atomen auf der Halbleiteroberfläche durch c) das freie Elektron oder d) das ‚Loch‘. Verändert nach LINSEBIGLER *et al.* (1995)

Eine mögliche Reaktion unter Gegenwart von Wasser ist die Oxidation von Wasser durch das ‚Loch‘ ( $h^+$ ) zu einem Hydroxylradikal ( $OH^\bullet$ ) und einem Proton ( $H^+$ ):



Eine weitere ist die Reduktion von Sauerstoff ( $O_2$ ) durch das freie Elektron ( $e^-$ ) zu einem Superoxidradikal ( $O_2^-$ ):



Diese beiden Radikale sind ihrerseits sehr potente Oxidations- bzw. Reduktionsmittel, die Mikroorganismen und andere organische Verbindungen auf der Oberfläche dadurch (PARKIN und PALGRAVE, 2004). Dass dies auch für unterschiedlichste Mikroorganismen gilt, haben bereits (MATSUNAGA *et al.*, 1985) bewiesen, indem sie die Überlebensraten von *Saccharomyces cerevisiae*, *Escherichia coli*, *Lactobacillus acidophilus* und *Chlorella vulgaris*, die in einer Suspension mit TiO<sub>2</sub>-Pulver in einem Phosphatpuffer für 60 und 120 min mit einer Halogen-Metallampflampe bestrahlt wurden, ermittelten (Tabelle 4).

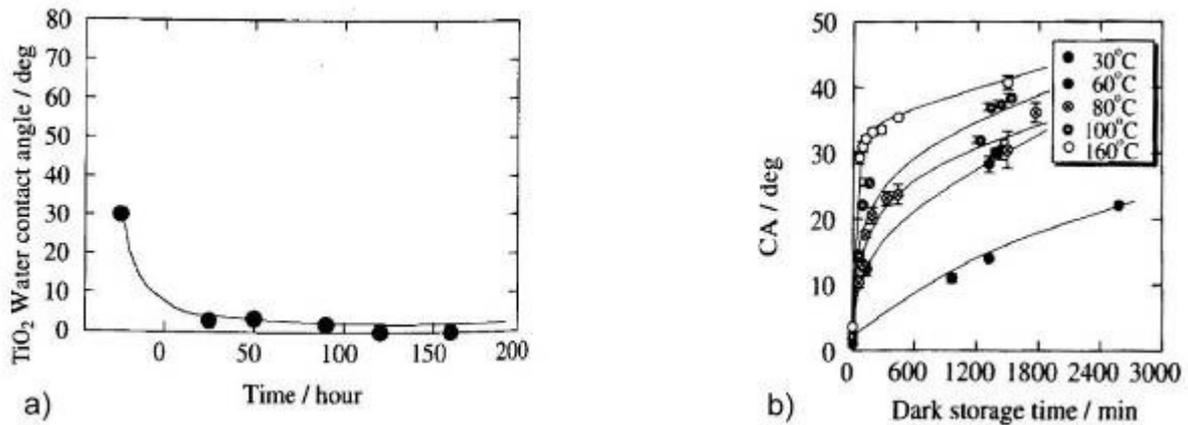
**Tabelle 4:** Überlebensraten unterschiedlicher Mikroorganismen in einer Suspension mit TiO<sub>2</sub> bei Bestrahlung mit einer Halogen-Metallampflampe. Verändert nach MATSUNAGA *et al.* (1985)

<b>Mikroorganismus</b>	<b>Bestrahlungszeit [min]</b>	<b>Überlebensrate [%]</b>
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	60	54
	120	0
<i>Escherichia coli</i>	60	20
	120	0
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	60	0
<i>Chlorella vulgaris</i>	60	85
	120	55

In der Theorie und unter Laborbedingungen erfolgt diese Zersetzung bis hin zu Wasser und Kohlendioxid (JACOBY *et al.*, 1998). Unter Freilandbedingungen hingegen werden die Bruchstücke der organischen Materie vorher durch Regen von der Oberfläche abgewaschen. Dies wird dadurch begünstigt, dass TiO<sub>2</sub>-Oberflächen bei Tageslicht extrem hydrophil werden, wodurch Wasser zwischen organische Partikel und Oberfläche dringen kann (HASHIMOTO *et al.*, 2005).

Durch Lichtanregung erzeugte ‚Löcher‘ gelangen an die Katalysatoroberfläche und oxidieren den im Kristallgitter des Halbleiters gebundenen Sauerstoff. Dadurch entstehen ‚Sauerstofflücken‘ an der Oberfläche des Katalysators, die durch adsorbiertes Wasser gefüllt werden, wodurch nach außen gerichtete Hydroxidgruppen (OH<sup>-</sup>) entstehen, die die Benetzbarkeit der Oberfläche durch Wasser deutlich verbessern (WANG *et al.*, 2003). So reduziert sich der Kontaktwinkel

einer TiO<sub>2</sub>-Oberfläche von ca. 30° bei Dunkelheit auf nahe 0° bei Bestrahlung mit UV-Licht (Abbildung 9a) (HASHIMOTO *et al.*, 2005). Bei Dunkelheit kehrt sich dieser Effekt, in Abhängigkeit von der Temperatur, innerhalb weniger Stunden wieder um (Abbildung 9b)



**Abbildung 9:** a) Veränderung des Kontaktwinkels einer TiO<sub>2</sub> Oberfläche nach Bestrahlung mit UV-Licht. b) Regenerierungsgeschwindigkeit des ursprünglichen Kontaktwinkels einer TiO<sub>2</sub> Oberfläche in Abhängigkeit von der Temperatur. Verändert nach HASHIMOTO *et al.* (2005)

Der Effekt der Photokatalyse wirkt sehr effektiv gegen organische Verschmutzungen, also auch Mikroorganismen. Deshalb wird er bereits seit längerer Zeit, vor allem in Japan, auf diversen technischen Oberflächen eingesetzt. Es wurden die Abdeckgläser von Tunnelbeleuchtungen damit ausgestattet, um die Ablagerungen der Autoabgase zu zersetzen, die bislang innerhalb kurzer Zeit die Lichtausbeute stark reduzierten (FUJISHIMA *et al.*, 1999). Die hauptsächliche Anwendung liegt jedoch in Bereichen, die von Regen erreicht werden, um den oben erwähnten Effekt der Superhydrophilie ausnutzen zu können. Kommerzielle Anwendung findet der Effekt bereits auf Dachziegeln, Fliesen, Glas, Aluminiumfassaden und PVC-Geweben. Im Jahr 2005 wurde am Flughafen von Chubu, Japan, eine 20.000 m<sup>2</sup> große Glasfassade mit photokatalytischen Eigenschaften verbaut (HASHIMOTO *et al.*, 2005). Ebenfalls erhältlich sind eine Innenwandfarbe, die durch Photokatalyse die Raumluft verbessern soll, sowie eine photokatalytische Fassadenfarbe.

Die Photokatalyse hat jedoch einen Nachteil: Sie ist nur effektiv, solange die Menge der pro Zeiteinheit auf die Oberfläche auftreffenden Photonen deutlich größer ist als die der sie verschmutzenden Moleküle (HASHIMOTO *et al.*, 2005). Das heißt, dass die

Photokatalyse an schwach beleuchteten Orten und solchen mit extremer Verschmutzungsneigung nicht wirksam ist.

Der photokatalytische Abbau ist nicht auf organische Substanzen beschränkt, sondern es können auch einige anorganische Substanzen wie beispielsweise Silbernitrat photokatalytisch abgebaut werden. Über die Stoffe, die durch Photokatalyse abgebaut werden können, berichten BHATKHANDI *et al.* (2001) sehr umfassend.

### 1.3.2 Superhydrophobe selbstreinigende Oberflächen (Lotus-Effect®)

Mit dem Markennamen Lotus-Effect® werden selbstreinigende Produkte bezeichnet, die superhydrophobe, das heißt hydrophobe und mikro- bis nanostrukturierte, Oberflächen besitzen. Ein erstes Produkt, das mit dieser Marke gekennzeichnet ist, ist die Fassadenfarbe Lotusan® der STO AG, die seit 1999 kommerziell erhältlich ist.

Funktionelles Vorbild für diese Oberflächen war die Lotusblume (*Nelumbo nucifera* Gaertn., Abbildung 10).

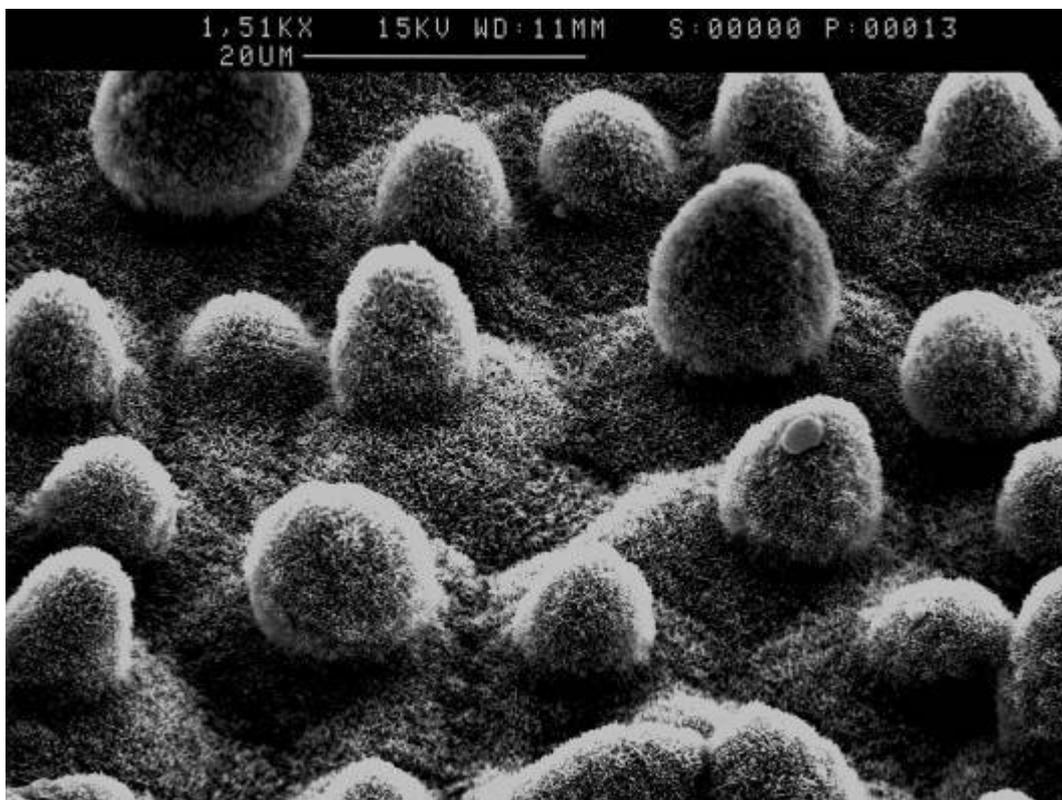


**Abbildung 10:** Die Lotusblume, *Nelumbo nucifera* Gaertn.

Die selbstreinigenden Eigenschaften ihrer Blätter wurden in den 1970er Jahren von Wilhelm Barthlott entdeckt und 1977 erstmals erwähnt (BARTHLOTT und EHLER, 1977). 1995 wurde die technische Herstellung solcher Oberflächen zum Patent angemeldet, welches 1998 erteilt wurde (BARTHLOTT, 1998). NEINHUIS und BARTHLOTT

(1997) untersuchten 200 weitere Pflanzenarten aus den Hauptgruppen der Farne und Samenpflanzen, bei denen sie superhydrophobe Eigenschaften nachweisen konnten. Es kann jedoch davon ausgegangen werden, dass diese Eigenschaft im Pflanzenreich noch weitaus verbreiteter ist.

Die Grundvoraussetzung für diese Art der Selbstreinigung ist, wie oben bereits beschrieben, die extreme Hydrophobie und eine gleichzeitige Strukturierung der Oberfläche, wie sie auch beim Lotusblatt zu finden ist. In Abbildung 11 sind deutlich die Papillen zu sehen, die für die Primärstruktur verantwortlich sind. Auf diesen Papillen befinden sich die röhrenförmigen Wachskristalle, die eine zweite Strukturebene bilden und gleichzeitig für die hydrophobe Chemie der Oberfläche sorgen.



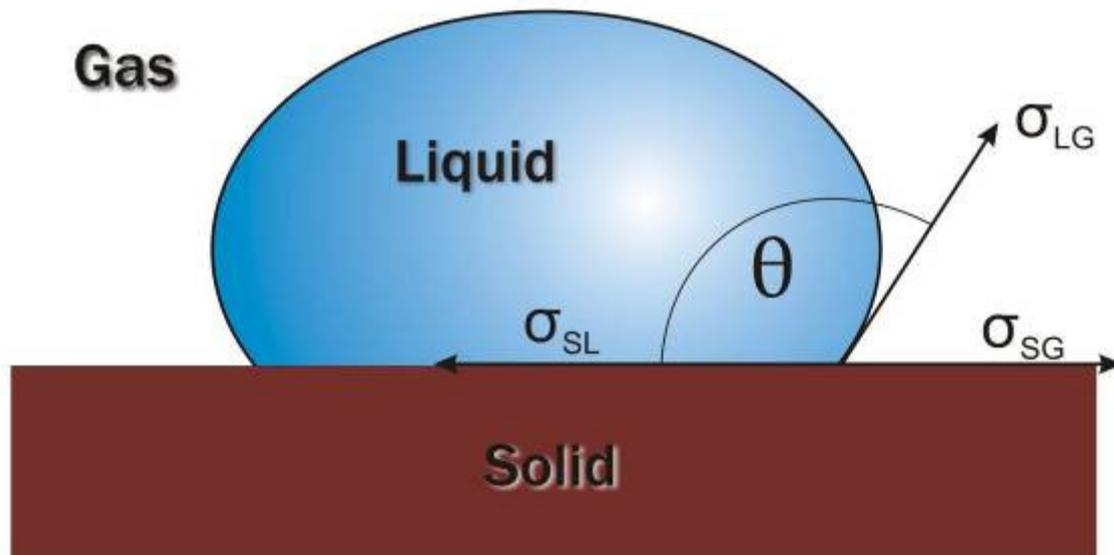
**Abbildung 11:** Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme eines Blattes der Lotuspflanze *Nelumbo nucifera* Gaertn.

Solche Oberflächen sind bereits seit den 1930er Jahren für Forschung und Wirtschaft von Interesse, wurden jedoch zu dieser Zeit lediglich hinsichtlich ihrer Benetzungseigenschaften untersucht (WENZEL, 1936). Die Ergebnisse der damals durchgeführten Forschungen haben jedoch bis heute Bestand und sind Grundlage

zur Erklärung des Effekts der Selbstreinigung. Das solche bewachsenen (hydrophoben) strukturierten Oberflächen bei vielen Pflanzenarten existieren, wurde bereits durch BARTHLOTT und EHLER (1977) erstmals ausführlich beschrieben.

Die Grundlagen der Erforschung von Benetzungsphänomenen wurden von YOUNG (1805) gelegt. Er stellte die Theorie auf, dass ein Tropfen nur dann auf einer Oberfläche spreitet, wenn folgende Ungleichung zutrifft:  $\sigma_{SG} - \sigma_{SL} > \sigma_{LG}$ , wobei  $\sigma_{SG}$  die Grenzflächenenergie zwischen Festkörper und Luft,  $\sigma_{SL}$  die zwischen Festkörper und Wasser und  $\sigma_{LG}$  die zwischen Wasser und Luft ist. Wenn diese Ungleichung nicht erfüllt ist, stellt sich der Gleichgewichtskontaktwinkel  $\theta$  ein, der durch folgende Gleichung bestimmt wird:  $\cos \theta = \frac{\sigma_{SG} - \sigma_{SL}}{\sigma_{LG}}$ . In Abbildung 12 ist diese grundlegende

Berechnung veranschaulicht. Oberflächen mit einem Kontaktwinkel (KW)  $<90^\circ$  werden als hydrophil, solche mit einem KW  $>90^\circ$  als hydrophob bezeichnet. Ab wann Oberflächen als superhydrophob bezeichnet werden, ist umstritten. (LI *et al.*, 2007) legten fest, dass ab einem KW  $>150^\circ$  Oberflächen als superhydrophob zu bezeichnen sind, (NUN *et al.*, 2002) hingegen sprechen ab einem Kontaktwinkel  $>140^\circ$  von Superhydrophobie. Wichtig zu bemerken ist jedoch, dass diese Gleichung ausschließlich zur Berechnung von Kontaktwinkeln auf glatten Oberflächen anwendbar ist.



**Abbildung 12:** Darstellung der Energien die die Einstellung des Gleichgewichtskontaktwinkels  $\theta$  bestimmen. Grenzflächenenergie:  $\sigma_{SG}$ , Festkörper - Luft,  $\sigma_{SL}$  Festkörper – Wasser,  $\sigma_{LG}$  Wasser - Luft

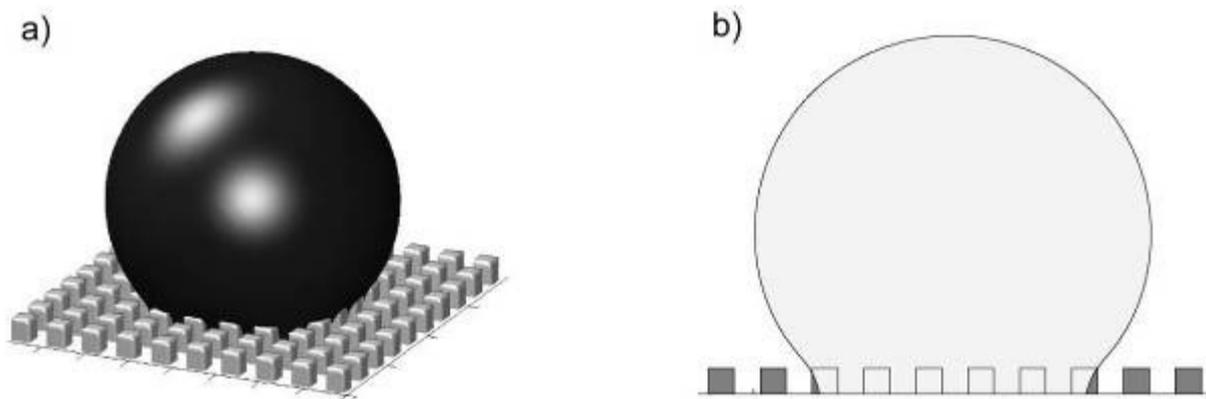
WENZEL (1936) untersuchte als erster systematisch den Einfluss verschiedener Hydrophobierungsmittel auf die Benetzbarkeit unterschiedlicher Oberflächen. Zudem stellte er die Theorie auf, dass die Rauheit einer Oberfläche deren Benetzungseigenschaften verstärkt, d. h. eine hydrophile Oberfläche wird durch Aufrauen hydrophiler und eine hydrophobe hydrophober. Diese Theorie belegte er durch Kontaktwinkelmessungen von unterschiedlichen Wachsen, die in einer Tetrachlormethanolösung ( $\text{CCl}_4$ ) auf eine glatte Oberfläche (Glas) und eine rauere Oberfläche (Papier) aufgebracht wurden. Ein Teil seiner Ergebnisse ist in Tabelle 5 zu sehen.

**Tabelle 5:** Einfluss unterschiedlicher Wachsbeschichtungen auf den Wasserkontaktwinkel. Verändert nach WENZEL (1936)

Beschichtungsmaterial	Wasserkontaktwinkel [°]	
	Glas	Papier
Bienenwachs	125,0	155,2
Paraffin	110,7	152,4
Carnauba Wachs	127,3	153,1

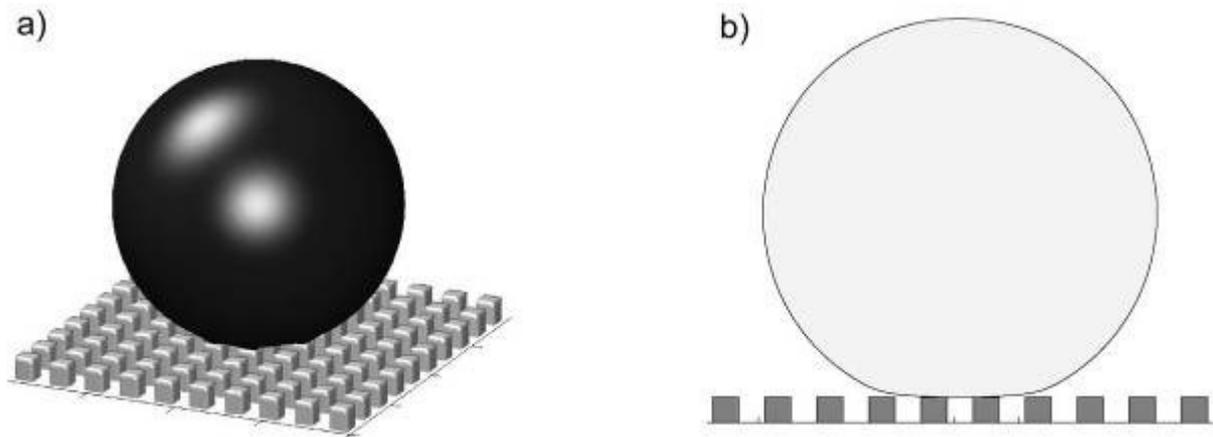
Laut seiner Theorie werden die Zwischenräume der Struktur vollständig benetzt (Abbildung 13) und der Kontaktwinkel von Wasser auf einer rauhen Oberfläche  $\theta$

lässt sich durch folgende Gleichung berechnen:  $\cos\theta = r \cdot \cos\theta_0$ , wobei  $r$  als Rauheitsfaktor definiert ist, der sich aus dem Quotienten von tatsächlicher Oberfläche und deren Projektion (scheinbarer Fläche) ergibt.  $\theta_0$  ist der Kontaktwinkel auf einer entsprechenden glatten Oberfläche (ZHENG *et al.*, 2005). Nach ihm wird dieser Zustand der Benetzung, der auf einer rauhen hydrophilen Oberfläche stets auftritt, jedoch auch bei rauhen hydrophoben Oberflächen eine Rolle spielt, 'Wenzel-Stadium' genannt.



**Abbildung 13:** Grafische Darstellung des Wenzel-Stadiums bei der Benetzung einer strukturierten hydrophoben Oberfläche. a) Aufsicht, b) Querschnitt. Aus DUPUIS und YEOMANS (2005)

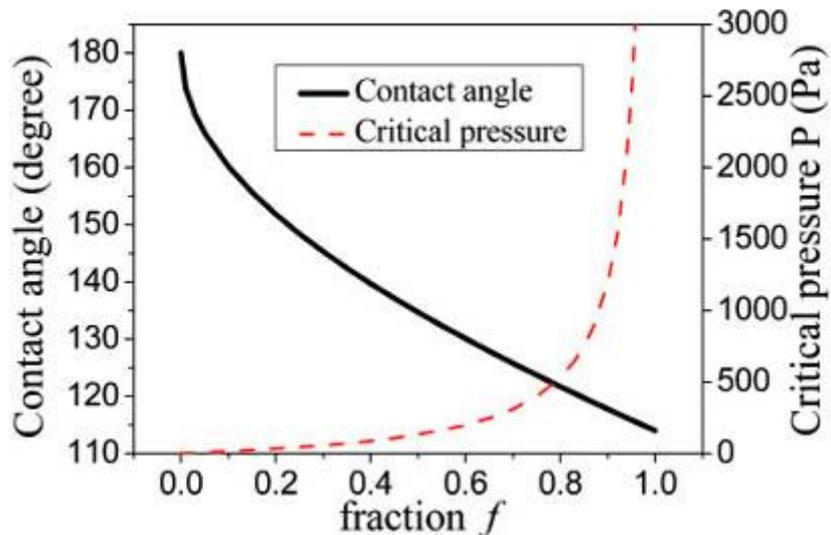
8 Jahre später griffen CASSIE und BAXTER (1944) die von WENZEL aufgestellte Theorie auf und führten ihre eigenen Untersuchungen und Berechnungen zur Benetzung poröser Oberflächen durch. Laut ihrer Theorie werden die Zwischenräume der Strukturen nicht benetzt. Der Tropfen berührt nur die Spitzen der Struktur, wie in Abbildung 14 zu sehen. Entsprechend änderten sie auch die Formel zur Berechnung des Kontaktwinkels:  $\cos\theta = r_f \cdot f \cdot \cos\theta_0 + f - 1$ , wobei  $f$  der Teil der Oberfläche ist, der tatsächlich benetzt ist und  $r_f$  der Rauheitswert der benetzten Fläche. Deshalb wird dieser Benetzungszustand, der bei strukturierten, hydrophoben Oberflächen, die auch als superhydrophob bezeichnet werden, die Regel ist, als 'Cassie-Baxter-Stadium' bezeichnet. Durch die geringe Auflagefläche des Tropfens auf der Oberfläche sind die Adhäsionskräfte (Haftkräfte) zwischen Tropfen und Oberfläche minimiert (HERMINGHAUS, 2000). Dies hat zur Folge, dass superhydrophobe Oberflächen Abrollwinkel von Wassertropfen von  $1^\circ$  erreichen können (MIWA *et al.*, 2000).



**Abbildung 14:** Grafische Darstellung des Cassie-Baxter Stadiums bei der Benetzung einer superhydrophoben Oberfläche. a) Aufsicht, b) Querschnitt. Aus DUPUIS und YEOMANS (2005)

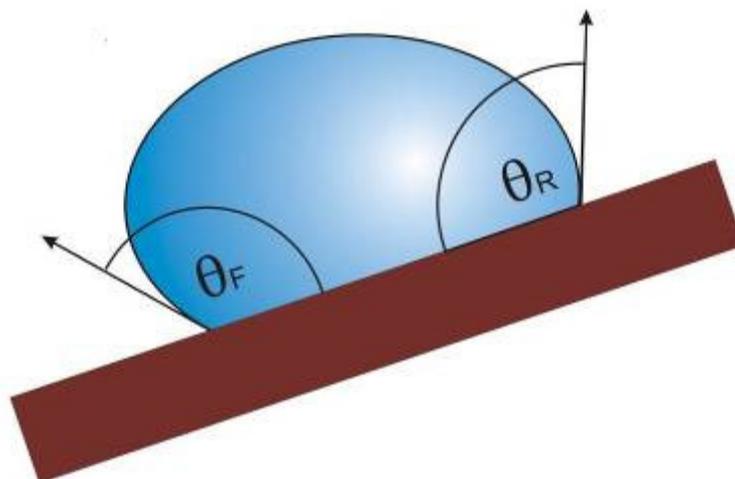
Lange war unklar, welcher Zustand bei superhydrophoben Oberflächen vorherrscht und von welchen Faktoren der jeweilige Zustand abhängt. Neuere Forschungen haben ergeben, dass beide Zustände auf superhydrophoben Oberflächen vorkommen können. Sie zeigten jedoch, dass bis zu einem Rauheitsfaktor  $r$  von 1,7 das Wenzel-Stadium vorherrscht, wogegen ab einem  $r > 1,7$  das Cassie-Baxter-Stadium überwiegt (JOPP *et al.*, 2004).

Grundsätzlich ist jedoch ein Übergang zwischen diesen beiden Zuständen möglich. So lässt sich ein Wechsel vom Cassie-Baxter-Zustand in den Wenzel-Zustand durch Kondensation von Wasser aus der Umgebung oder aus dem Tropfen selbst herbeiführen. Dieses Wasser füllt die ‚Lufttaschen‘ unter dem Tropfen auf. Gleiches geschieht unter starkem Druck (LAFUMA und QUÉRÉ, 2003; PATANKAR, 2004; ZHENG *et al.*, 2005). Hierbei ist der benötigte Druck umso geringer, je geringer die Auflagefläche des Tropfens auf der Oberfläche und damit je höher der Kontaktwinkel ist (Abbildung 15).



**Abbildung 15:** Kritischer Druck  $P$  und Cassie-Baxter-Kontaktwinkel aufgetragen gegen den Anteil von benetzter Fläche an der Gesamtfläche unter dem Tropfen ( $f$ ). Bedingungen: Young'scher Kontaktwinkel  $114^\circ$ , Strukturbreite  $50\mu\text{m}$ , –abstand  $100\mu\text{m}$ . Aus ZHENG *et al.* (2005)

Der Übergang zwischen diesen beiden Stadien ist von immenser praktischer Bedeutung. Zwar ändert sich der statische Kontaktwinkel beim Übergang vom Cassie-Baxter-Stadium in das Wenzel-Stadium kaum, die Hysterese, das heißt die Differenz zwischen Fortschritt ( $\theta_F$ ) - und Rückschreitwinkel ( $\theta_R$ ), (Abbildung 16) ändert sich jedoch dramatisch. Sie ist beim Wenzel-Stadium 10-20 mal größer als beim Cassie-Baxter-Stadium (LAFUMA und QUÉRÉ, 2003).

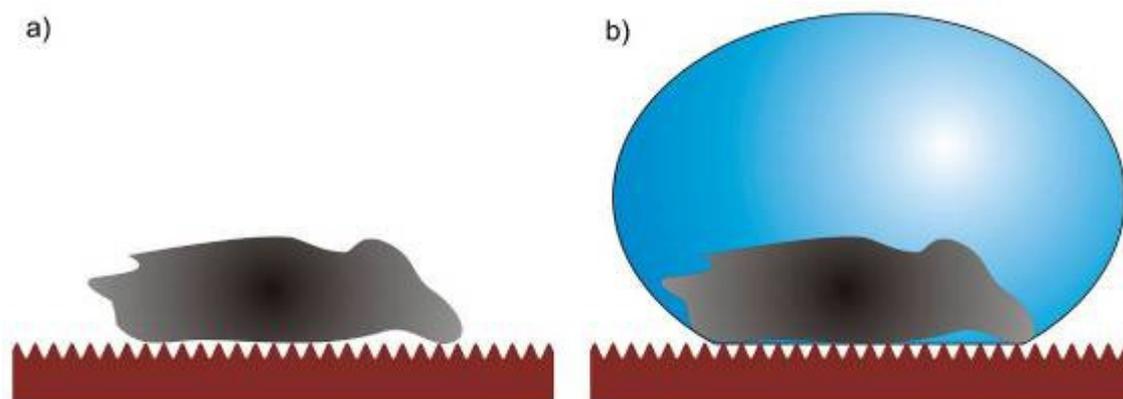


**Abbildung 16:** Fortschrittswinkel ( $\theta_F$ ) und Rückschreitwinkel ( $\theta_R$ ) bei einem Wassertropfen auf einer geneigten Oberfläche

Dies ist ein Zeichen dafür, dass die Adhäsion, d.h. die Haftung des Tropfens an der Oberfläche stark erhöht ist, was soweit gehen kann, dass ein Wassertropfen nicht mehr von einer geneigten Oberfläche abrollt (LAFUMA und QUÉRÉ, 2003).

In neuerer Zeit sind vielfältige Möglichkeiten zur Herstellung superhydrophober Oberflächen vorgestellt worden: Beschichtung einer Oberfläche mit unterschiedlichen Materialien, z. B. Polyacrylnitril Nanofasern (FENG *et al.*, 2002), oder Carbonanotubes (LI *et al.*, 2002; SUN *et al.*, 2003), Aufbringung hydrophober Polymere auf Oberflächen durch verschiedene Verfahren, wie die Lösung mit anschließender Verdunstung des Lösungsmittels (XIE *et al.*, 2004), die Sol-Gel-Methode (TADANAGA *et al.*, 2000; WANG *et al.*, 1997), das Schmelzen und anschließende Erstarren lassen des Polymers (ONDA *et al.*, 1996) oder die Plasmafluorinierung (TEARE *et al.*, 2002; WOODWARD *et al.*, 2003). Bei all diesen Oberflächen handelt es sich jedoch nur um Laborprototypen, die noch nicht großtechnisch hergestellt werden.

Wie bereits oben erwähnt, ist die Superhydrophobie seit langem bekannt, der Effekt der Selbstreinigung solcher Oberflächen wurde jedoch ausführlich erstmals von (BARTHLOTT und NEINHUIS, 1997), basierend auf der Untersuchung unterschiedlicher pflanzlicher Oberflächen, beschrieben. Hier wurde auch ein erster Hinweis auf den Einfluss der Struktur auf den Effekt gegeben, denn die Grundlage von Selbstreinigung und Superhydrophobie ist die selbe. Das heißt, ein Partikel liegt auf einer solchen Oberfläche lediglich auf den Spitzen der Struktur auf (Abbildung 17a), ähnlich einem Wassertropfen im Cassie-Baxter-Stadium.



**Abbildung 17:** Schematische Darstellung der Kontaktfläche eines Partikels a) zu einer mikrostrukturierten Oberfläche und b) zu einem über diese rollenden Wassertropfen

Diese Minimierung der Kontaktfläche zwischen Partikel und Oberfläche hat, wie oben bereits für Wasser geschildert, eine Minimierung der Adhäsionskräfte zwischen Partikel und Oberfläche zur Folge (HANSEN und AUTUMN, 2005). Wird eine solche verschmutzte Oberfläche mit Wasser beregnet, so ist, unabhängig von der Chemie der Partikel, deren Kontaktfläche und damit Adhäsion zum Wassertropfen größer als zur Oberfläche (Abb. 20b). Deshalb werden selbst hydrophobe Partikel zu über 90% bei einfach strukturierten technischen Oberflächen und bis zu 100% bei Repliken einer Lotusblattoberfläche durch Wasser entfernt (FÜRSTNER *et al.*, 2005). Diese Arbeit ist gleichzeitig die einzige wissenschaftliche Untersuchung, die systematisch die Selbstreinigungsfähigkeit technischer superhydrophober Oberflächen analysiert. Bei Pflanzen wurde dies zum ersten Mal systematisch durch NEINHUIS und BARTHLOTT (1998) untersucht.

Die Verschmutzung ihrer Blätter kann für Pflanzen ein Problem sein. So beschreibt schon ELLER (1977), dass Staub auf der Blattoberfläche zur Erhöhung der Temperatur der Blattoberfläche führen kann, was seinerseits die Photosynthese beeinträchtigen und die Transpiration erhöhen kann. Zusätzlich können Staubpartikel die Stomata verstopfen, wodurch sich diese nicht mehr schließen können, was zu einem niedrigeren Diffusionswiderstand führt (FLÜCKIGER *et al.*, 1979; FLÜCKIGER *et al.*, 1977). Außerdem können bestimmte Staubpartikel (z. B. Zementstaub) zu Blattnekrosen führen (CZAJA, 1962, 1966).

Das Hauptproblem für Pflanzen stellt jedoch, wie in Kapitel 1.1.2 beschrieben, die Infektion durch pathogene Pilze dar. Die Vermutung liegt nahe, dass die beschriebene Art der Selbstreinigung auch gegen den Bewuchs mit Mikroorganismen wirksam ist und dies der ausschlaggebende Grund für die Evolvierung der Selbstreinigung bei Pflanzen ist (NEINHUIS und BARTHLOTT, 1998). Bisher wurde jedoch weder bei pflanzlichen, noch bei technischen superhydrophoben selbstreinigenden Oberflächen systematisch deren Einfluss auf die Besiedlung mit Mikroorganismen untersucht, was deshalb ein Schwerpunkt dieser Arbeit ist.

## 2 Ziele

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit sollten insbesondere drei zentrale Fragen geklärt werden:

- 1. Stellen funktionale Oberflächen (Lotus-Effect<sup>®</sup>, Photokatalyse) im Hinblick auf die Verringerung mikrobiellen Bewuchses eine Alternative zu Biozid ausgestatteten Oberflächen dar?**
- 2. Ist es möglich, eine Prüf- und Bewertungsmethode für die Industrie zu entwickeln, mittels derer innerhalb kurzer Zeiträume die Anfälligkeit konventioneller und funktionaler Oberflächen gegenüber Mikroorganismenbewuchs verglichen werden kann?**
- 3. Beeinflussen Struktur und Chemie einer Oberfläche die Adhäsionskräfte von Partikeln und Pilzsporen?**

Die Beantwortung der ersten Frage war vor allem deshalb schwierig, da bislang keine Methode existierte, mit der ein entsprechender Vergleich überhaupt durchgeführt werden konnte. Bislang wurde die Anfälligkeit von Fassadenfarben gegenüber Pilzbefall mittels standardisierter Tests überprüft, die für die Beurteilung funktionaler Beschichtungen völlig ungeeignet sind. So beschreibt beispielsweise die VdL-Richtlinie 06 (VERBAND DER LACKINDUSTRIE 1998) ein Verfahren, bei dem in Petrischalen liegende Probekörper für mehrere Wochen komplett mit Pilzsporensuspensionen bedeckt werden. Bei dem Test geht es ausschließlich um die Beurteilung der fungiziden Wirksamkeit der in den Farben verwendeten Biozide. Die Betrachtung der Funktionsprinzipien von Lotus-Effect<sup>®</sup>- und photokatalytischen Beschichtungen macht hingegen deutlich, dass ein solches Verfahren für die Beurteilung funktionaler Oberflächen völlig ungeeignet sein muss. Bei diesen spielt bewegtes Wasser eine ganz entscheidende Rolle: Auf Lotus-Effect<sup>®</sup>-Oberflächen zur direkten Entfernung organischer und anorganischer Verschmutzungen und auf photokatalytischen Beschichtungen zur Eliminierung oxidierter organischer Substanzen. Natürlicher oder künstlicher Regen ist in einem potenziellen Testverfahren somit ein entscheidender Parameter. Zudem ist für das Funktionieren der Photokatalyse eine bestimmte UV-Intensität notwendig. So musste zunächst Punkt zwei der obigen Liste abgearbeitet werden, bevor sich Frage 1 beantworten ließ.

Weitere Kriterien, die für das Testverfahren formuliert wurden, waren:

- Verwendung von Mikroorganismen, die als Primärbesiedler von Baustoffen bekannt sind
- Simulation natürlicher Transportwege (nasse Deposition, Trockendeposition)
- Berücksichtigung natürlicher Einflussfaktoren (z. B. UV-Strahlung, Temperaturwechsel, Kondensation)
- Erzeugung eines makroskopisch sichtbaren Bewuchses in möglichst kurzer Zeit

Da sämtliche Faktoren innerhalb des Testverfahrens kontrolliert und gesteuert werden sollten, wurde die Entwicklung einer Labormethode angestrebt. Die Beschleunigung von Besiedlungs- und Wachstumsvorgängen unter standardisierten Bedingungen und die Differenzierbarkeit zwischen unterschiedlichen Baustoffproben bereits nach wenigen Wochen sollten zudem dazu beitragen, die Entwicklung neuer innovativer Oberflächen voranzutreiben.

Anhand des so erstellten Testverfahrens sollte die erste Frage, ob funktionale Oberflächen im Hinblick auf die Verringerung mikrobiellen Bewuchses eine Alternative zu Biozid ausgestatteten Oberflächen darstellen, beantwortet werden.

Die dritte Frage konzentrierte sich auf den ersten Schritt im Bewuchs einer Oberfläche mit Mikroorganismen. Denn damit diese eine Oberfläche besiedeln können, müssen sie zunächst auf ihr haften. Die Frage, die im Rahmen dieser Arbeit geklärt werden sollte, war nun, ob die Struktur und die Wasser abweisende Chemie von biologischen und technischen Oberfläche einen Einfluss auf die Adhäsion von Pilzsporen haben. Zum klaren Verständnis der Zusammenhänge wurde zusätzlich ein System mit klar definierten Strukturparametern (technische Partikel und technische Oberflächen) verwendet.

### 3 Material und Methoden, allgemeiner Teil

#### 3.1 Material

Dieser Teil gibt lediglich einen Überblick über die verwendeten Materialien. Details dazu sind dem jeweiligen Versuchskapitel zu entnehmen.

##### 3.1.1 Pilze

Die nachfolgende Tabelle gibt einen Überblick über die Pilzarten, die im Rahmen dieser Dissertation Verwendung fanden, für welche Untersuchungen sie verwendet wurden wo sie bezogen bzw. woher sie isoliert wurden. Weitere Details sind den jeweiligen Untersuchungen zu entnehmen.

**Tabelle 6:** In der vorliegenden Arbeit verwendete Pilzarten mit Katalognummer der Deutschen Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen (DSMZ Nr.).

Taxon	DSM Nr.	Synonyme	Untersuchung
<i>Penicillium chrysogenum</i> Thom	Freiland-isolat	<i>Penicillium aromaticum</i> f. <i>microsporum</i> Romankova, <i>Penicillium camerunense</i> R. Heim, <i>Penicillium harmonense</i> Baghd., <i>Penicillium meleagrinum</i> Biourge, <i>Penicillium notatum</i> Westling	4.1 & 4.2
<i>Cladosporium cladosporioides</i> (Fresen.) G.A. de Vries	62121	<i>Hormodendrum cladosporioides</i> (Fresen.) Sacc., <i>Monilia humicola</i> Oudem., <i>Penicillium cladosporioides</i> Fresen.	4.2
<i>Pyricularia oryzae</i> Cavara	1597	<i>Magnaporthe grisea</i> (T.T. Hebert) M.E. Barr, <i>Ceratospaeria grisea</i> T.T. Hebert <i>Dactylaria grisea</i> (Cooke) Shirai, <i>Dactylaria oryzae</i> (Cavara) Sawada, <i>Phragmoportha grisea</i> (T.T. Hebert) M. Monod, <i>Pyricularia grisea</i> Sacc., <i>Pyricularia grisea</i> (Cooke) Sacc., <i>Trichothecium griseum</i> Cooke, <i>Trichothecium griseum</i> Speg.	4.3
<i>Alternaria alternata</i> (Fr.) Keissl.	62006	<i>Alternaria fasciculata</i> (Cooke & Ellis) L.R. Jones & Grout, <i>Alternaria rugosa</i> McAlpine, <i>Alternaria tenuis</i> Nees, <i>Macrosporium fasciculatum</i> Cooke & Ellis, <i>Torula alternata</i> Fr.,	4.3

### 3.1.2 Pflanzliche Oberflächen

Die nachfolgende Tabelle gibt einen Überblick über die pflanzlichen Oberflächen, die im Rahmen dieser Dissertation Verwendung fanden, für welche Untersuchungen sie verwendet wurden und wo sie kultiviert wurden. Weitere Details sind den jeweiligen Untersuchungen zu entnehmen.

**Tabelle 7:** In der vorliegenden Arbeit verwendete pflanzliche Proben

Wiss. Name	Dt. Name	Sorte	Kultort	Untersuchung
<i>Oryza sativa</i> var. <i>indica</i> L.	Reis	---	Botanische Gärten der Universität Bonn	4.3
<i>Beta vulgaris</i> subsp. <i>vulgaris</i> L.	Zuckerrübe	Alabama	Botanische Gärten der Universität Bonn	4.3

### 3.1.3 Technische Oberflächen

Die nachfolgenden Tabellen geben einen Überblick über die technischen Oberflächen, die im Rahmen dieser Dissertation Verwendung fanden, für welche Untersuchungen sie verwendet wurden und wer sie hergestellt hat. Weitere Details sind den jeweiligen Untersuchungen zu entnehmen.

**Tabelle 8:** In der vorliegenden Arbeit verwendete Fassadenfarbenproben

Fassadenfarben			
Probenbezeichnung	Bemerkung	Hersteller	Untersuchung
Dispersion	Handelsübliche Dispersionsfarbe	Sto AG	4.2
Silikat	Handelsübliche Silikatfarbe	Sto AG	4.2
Silikonharz	Handelsübliche Silikonharzfarbe	Sto AG	4.2
Lotus-Effect	Superhydrophobe selbstreinigende Fassadenfarbe	Sto AG	4.2
Photokat.	Prototyp einer photokatalytischen Fassadenfarbe	Sto AG	4.2

**Tabelle 9:** In der vorliegenden Arbeit verwendete Dachziegelproben

<b>Dachziegel</b>			
<b>Probenbezeichnung</b>	<b>Bemerkung</b>	<b>Hersteller</b>	<b>Untersuchung</b>
Standard rot	Handelsüblicher Tondachziegel	Erlus AG	4.2
Standard schwarz	Handelsüblicher Tondachziegel	Erlus AG	4.2
Lotus-Effect	Prototyp eines superhydrophoben selbstreinigenden Tondachziegels	Erlus AG	4.2

**Tabelle 10:** In der vorliegenden Arbeit verwendete sonstige technische Proben

<b>Sonstige Oberflächen</b>			
<b>Probenbezeichnung</b>	<b>Bemerkung</b>	<b>Hersteller</b>	<b>Untersuchung</b>
Pol. Sil.	Polierter Silizium-wafer, 99.9999% rein	MaTeck GmbH	4.3
Struk. Sil.	Geätzter Silizium-wafer	Fraunhofer Institut für Siliziumtechnologie	4.3

## 3.2 Methoden

In diesem Teil werden nur die Methoden beschrieben, die bei mindestens zwei Versuchsteilen Anwendung fanden. Methoden die nur in einem Versuchsteil angewendet wurden, sind in dem entsprechenden Kapitel beschrieben.

### 3.2.1 Rasterelektronenmikroskopie (REM)

#### PROBENVORBEREITUNG

Um Proben im REM untersuchen zu können, werden diese in der Regel leitfähig gemacht. Dies geschieht in der Regel durch das Bedampfen mit einer wenige Nanometer dicken Goldschicht. Für die hier vorgestellten Untersuchungen wurden pflanzliche und technische Proben unterschiedlich vorbereitet.

Die pflanzlichen Proben wurden in ca. 4 x 4 mm große Stücke geschnitten. Anschließend wurden sie einer Glycerinsubstitution unterzogen (ENSİKAT und BARTHLOTT, 1993), in deren Verlauf das enthaltene Wasser durch weniger flüchtiges

Glyzerin ersetzt wird. Anschließend wurden sie, wie auch die technischen Proben, die keiner Vorbehandlung bedurften, auf Aluminiumprobehaltern mit doppelseitigem Klebeband (tesa® Doppelband, tesa AG, Hamburg) fixiert und mit Leitkohle (Leit-C nach GÖCKE, Plano GmbH, Wetzlar) leitend mit diesen verbunden. Danach wurden die Proben mit einer Goldschicht bedampft. Diese Bedampfung erfolgte mit einem Sputter Balzer (Union SCD 040, Balzer-Pfeifer GmbH, Asslar). Der Sputterstrom betrug 65 mA, die Beschichtungsdauer 30 Sekunden.

## MIKROSKOPIE

Für die Oberflächencharakterisierung wurde das Rasterelektronenmikroskop LEO 1450 (Carl Zeiss AG, Oberkochen) verwendet. Die Proben wurden standardmäßig bei 15 kV Beschleunigungsspannung betrachtet und dokumentiert. Als Kathode wurde eine Wolframkathode verwendet.

### **3.2.2 Kontaktwinkelmessung**

Von allen in die Untersuchungen einbezogenen biologischen und technischen Oberflächen wurde die Benetzbarkeit ermittelt. Als Maß für die Benetzbarkeit wurde der Kontaktwinkel von Wasser bestimmt. Wie bereits in Kapitel 1.3.2 erwähnt, gelten Oberflächen mit Kontaktwinkeln  $<90^\circ$  als benetzbar (hydrophil), Oberflächen mit Kontaktwinkeln  $>90^\circ$  dagegen als unbenetzbar (hydrophob). Selbstreinigende Eigenschaften sind definitionsgemäß ab Kontaktwinkeln  $>140^\circ$  zu erwarten (NUN *et al.*, 2002).

Die Kontaktwinkelbestimmung erfolgte mit dem Kontaktwinkelmessgerät OCA 30 (Dataphysics Instruments GmbH, Filderstadt). Je nach Oberfläche wurden Tropfenvolumina von 5-15  $\mu\text{l}$  Aqua dest. verwendet. Die Messungen wurden bei Raumtemperatur durchgeführt. Für die Auswertung wurde die „sessile drop“ Funktion eingesetzt und der Kontaktwinkel mittels des Software integrierten „Young-Laplace-Fitting“ ermittelt. Von jeder Oberfläche wurden 10 bzw. 20 Kontaktwinkel an verschiedenen Stellen gemessen und daraus das arithmetische Mittel berechnet.

### 3.2.3 Fluoreszenzfärbung

Fluorochrome sind Farbstoffe, die im Bereich des sichtbaren Lichts fluoreszieren, wenn sie durch UV- oder sichtbares Licht angeregt werden. Sie werden inzwischen standardmäßig in Medizin, Biologie und Industrie zur Färbung verwendet. Dabei werden sie entweder von Zellorganellen absorbiert oder binden an spezifische Molekülreste in oder auf der Zelle. Auch in der Mykologie wird von diesen Farbstoffen intensiv Gebrauch gemacht, z. B. BUTT *et al.* (1989).

Der in dieser Arbeit verwendete Fluoreszenzfarbstoff war Calcofluor white M2R (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, München). Zu weiteren Details zu diesem Farbstoff siehe Kapitel 4.1.1.

Calcofluor white wurde verwendet, um das Pilzwachstum auf den Proben sichtbar zu machen. Hierfür wurde eine 0,1%ige Calcofluorlösung mit Aqua dest. hergestellt, da sich diese Konzentration in bisherigen Untersuchungen als die sinnvollste gezeigt hat (BUTT *et al.*, 1989; MONHEIT *et al.*, 1984; ROHRINGER *et al.*, 1977). Mit dieser Lösung wurden alle Proben nach Abschluss des Versuchs mit einer Airbrushpistole (master-class, Revell GmbH, Bünde) gleichmäßig solange besprüht, bis die gesamte Probe mit der Lösung benetzt war. Anschließend wurden alle Proben für 5 min bei Raumtemperatur waagrecht gelagert, um den Farbstoff an das Myzel binden zu lassen. MONHEIT *et al.* (1984) konnten zeigen, dass bereits 1 min ausreichend für die Färbung ist. Da in dieser Untersuchung jedoch nur mikroskopische Gewebeschnitte gefärbt wurden, wurde die Färbezeit hier verlängert. Um überschüssigen, nicht gebundenen Farbstoff zu entfernen, wurden alle Proben im 45°-Winkel mit je 50 ml Aqua dest. abgewaschen. Dazu wurde die in Kapitel 4.2.3 beschriebene manuelle Beregnungsanlage verwendet. Nach einer erneuten Trockenphase von 30 min. wurden die Proben in einer UV-Kammer (UV-Chamber II, CAMAG, Muttenz, Schweiz) bei abgedunkelter Umgebung mit UV-Licht (366nm) bestrahlt und die Fluoreszenz mittels digitaler Fotokamera (Nikon Coolpix 4500, Nikon Corp., Tokio, Japan) dokumentiert.

Der Bewuchs wurde anhand dieser Digitalaufnahmen mit unterschiedlichen Methoden, die in den Kapiteln 4.1 und 4.2 beschrieben sind, quantitativ ausgewertet.

### 3.2.4 Statistische Auswertung

Die statistischen Analysen der ermittelten Daten wurden sowohl mit explorativer als auch mit konfirmatorischer Zielsetzung durchgeführt (SACHS und HEDDRICH, 2006). Als Hauptinstrument bei der Prüfung von Hypothesen diente die Varianzanalyse, die als eine der fundamentalen Methoden zur Auswertung biologischer und dabei insbesondere experimentell ermittelter Daten anzusehen ist (SOKAL und ROHLF, 1998). Die für die Durchführung der ANOVA notwendigen Voraussetzungen der Normalverteilung und Varianzhomogenität (Homoskedastizität) wurden mittels Kolmogoroff-Smirnoff- bzw. Levene-Test überprüft. Verletzungen der Voraussetzungen wurden weitestgehend durch verschiedene Datentransformationen, wie die Quadratwurzel-, LOG-, Doppel-LOG- und Arcussinus-Quadratwurzeltransformation, vermieden. Für multiple Mittelwertvergleiche wurde der Tukey-HSD-Test verwendet, der als ungeplanter Mittelwertvergleich zwar grundsätzlich nur für den balancierten Fall, d.h. gleiches n, geeignet ist (SOKAL und ROHLF, 1998), bei einzelnen fehlenden Messwerten wegen der automatischen Bildung des harmonischen Mittels durch das Statistikprogramm dennoch angewendet werden kann.

Falls sich selbst durch Datentransformation keine Homoskedastizität oder Normalverteilung herstellen ließ, wurde für die Varianzanalyse der nicht-parametrische Test Kruskal-Wallis-H verwendet (KÖHLER *et al.*, 2002). Der darauf folgende Post-Hoc-Test wurde bei gleichem N mit dem Nemenyi- und bei unterschiedlichem N mit dem Dunn-Test durchgeführt. Hierfür wurde ein für MS-Excel geschriebenes Makro verwendet (Edwin Martens, Zentrum für Biostatistik, Universität Utrecht, Niederlande).

Die Abstufung ermittelter Signifikanzniveaus sowie deren Benennung im Text fanden in folgender, allgemein üblicher Weise statt:

ns:	$p > 0,05$	„nicht signifikant“
*	$0,05 \geq p > 0,01$	„signifikant“
**:	$0,01 \geq p > 0,001$	„hoch signifikant“
***:	$p \leq 0,001$	„höchst signifikant“

Die statistischen Analysen wurden stets mit dem Programm SPSS 14 (SPSS Inc., Chicago, USA) durchgeführt. Bei der grafischen Darstellung der Ergebnisse fand SigmaPlot 10.0 (Systat Software Inc., San Jose, USA) Verwendung.

## 4 Experimenteller Teil

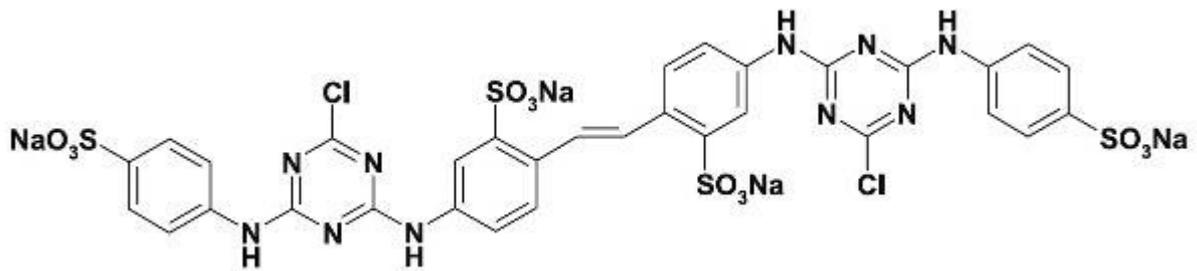
### 4.1 Untersuchungen zum Einfluss der Calcofluorfärbung auf das Pilzwachstum

#### 4.1.1 Einleitung

Zur Visualisierung von Pilzmyzel auf Oberflächen oder in Pflanzengewebe werden unterschiedliche Farbstoffe verwendet. Eine wichtige und häufig verwendete Gruppe von Farbstoffen sind Fluoreszenzfarbstoffe (Fluorochrome). Diese binden an die Zelloberfläche oder akkumulieren in Zellorganellen (DEACON, 2006). Bei Anregung mit UV- oder sichtbarem Licht einer bestimmten Wellenlänge fluoreszieren sie im Bereich des sichtbaren Lichts mit einer bestimmten Farbe (BUTT *et al.*, 1989).

Einen Sonderfall bei den Fluorochromen bilden die optischen Aufheller. Diese wurden ursprünglich entwickelt, um das Vergilben von Textilien und Papier zu beseitigen. Nach längerer Benutzung oder bei Aussetzung intensiven Sonnenlichts, vergilben Textilien und Papier mit der Zeit. Dies bedeutet, dass sie vermehrt den blauen Anteil des sichtbaren Spektrums des Sonnenlichts absorbieren und so die Komplementärfarbe gelb verstärkt hervortritt. Dieser gelbe Farbton wird durch optische Aufheller dadurch ausgeglichen, dass diese an die Textil- oder Papierfaser binden und unsichtbares UV-Licht durch Fluoreszenz in sichtbares Licht im kurzwelligen Bereich (blau) umwandeln. Sie finden sich mit einem Anteil von 0,1 – 0,3% in fast allen Waschmitteln (FALBE und REGITZ, 1998). Chemisch gesehen handelt es sich bei diesen Stoffen meist um Stilben- und Benzidinabkömmlinge sowie Derivate heterozyklischer Verbindungen (BARTELS *et al.*, 1999).

DARKEN (1961) beschreibt erstmals die Verwendung optischer Aufheller zur Anfärbung biologischer Proben. Sie testete unterschiedliche Typen von Aufhellern und schlug die Verwendung von Diaminostilbenfarbstoffen vor, da diese besonders effektiv an die pflanzliche und pilzliche Zellwand binden und intensiv leuchten. Calcofluor white M2R (CFW) ist ein solcher Diaminostilbenfarbstoff, dessen Strukturformel in Abbildung 18 zu sehen ist.



**Abbildung 18:** Strukturformel von Calcofluor white M2R in der optisch aktiven trans-Konfiguration. Aus SCHROEDER *et al.* (2006)

MAEDA und ISHIDA (1967) konnten erstmals nachweisen, dass CFW zwar an  $\beta$ -glykosidisch verknüpfte Polysaccharide wie Zellulose binden kann, nicht jedoch an  $\alpha$ -glykosidisch verknüpfte wie Stärke (Tabelle 11). Deshalb ist CFW in der Medizin unverzichtbar, denn es wird häufig zur Anfärbung von Pilzmyzel in menschlichem Gewebe und damit zum Nachweis einer Mykose verwendet, da es zwar an das Chitin der Pilzzellwand, nicht aber an die menschlichen Zellen bindet (SCHROEDER *et al.*, 2006).

**Tabelle 11:** Fluoreszenzeigenschaften verschiedener Polysaccharide nach der Färbung mit Calcofluor white M2R. Verändert nach MAEDA und ISHIDA (1967)

Polysaccharid	Struktur	Fluoreszenz (UV)
Stärke	$[\text{glc-}\alpha(1\rightarrow4)\text{-glc}]_n$	-
Glykogen	$[\text{glc-}\alpha(1\rightarrow4)\text{-glc}]_n$ und $[\text{glc-}\alpha(1\rightarrow6)\text{-glc}]$ Verzweigungen	-
Zellulose	$[\text{glc-}\beta(1\rightarrow4)\text{-glc}]_n$	+
Chitin	$\begin{array}{c} \text{HN-Ac} \quad \text{HN-Ac} \\   \quad \quad   \\ [\text{glc-}\beta(1\rightarrow4)\text{-glc}] \end{array}$	+

CFW kann in zwei Konfigurationen vorliegen, der optisch aktiven trans- (Abbildung 18) und der inaktiven cis-Konfiguration (SCHROEDER *et al.*, 2006). Die Bindung des Farbstoffes erfolgt über einen sehr starken Komplex mit dem Polysaccharid (MAEDA und ISHIDA, 1967). Wird der ungebundene Farbstoff mit UV-Licht bestrahlt, so bewirkt dies die irreversible Isomerisierung in die optisch inaktive cis-Konfiguration. Beim gebundenen Farbstoff bleibt dies aufgrund der Stabilisierung durch den Komplex aus (RÜCHEL *et al.*, 2004). Die optimale Wellenlänge zur Anregung der Fluoreszenz liegt

bei 347nm. Die maximale Intensität in der Emission erfolgt bei einer Wellenlänge von 450nm (HOCH *et al.*, 2005).

Dass CFW lediglich an die Zellwand bindet und nicht in die Zelle eindringt, erweist sich als weiterer Vorteil für seine Anwendung in der Biologie. Denn dadurch wird die Zelle nicht abgetötet, so dass CFW, zumindest in niedrigen Konzentrationen, als Vitalfarbstoff verwendet werden kann (HOCH *et al.*, 2005; THRANE *et al.*, 1999).

Allerdings hat CFW einen Einfluss auf physiologische Prozesse der gefärbten Organismen. Bereits HUGHES und MCCULLY (1975) stellten fest, dass bei mit 0,1%iger CFW-Lösung gefärbten Maiskeimlingen das Wurzelwachstum um über die Hälfte gegenüber ungefärbten Keimlingen reduziert wurde. Dies könnte auf den von HAIGLER *et al.* (1980) beschriebenen Effekt von CFW auf die Kristallisation von Zellulosemikrofibrillen zurückzuführen sein. Auch ein Einfluss auf die Pilzphysiologie wurde bereits mehrfach beschrieben (BARTNICKI-GARCIA *et al.*, 1994; ELORZA *et al.*, 1983; RONCERO und DURAN, 1985).

#### **4.1.2 Ziele**

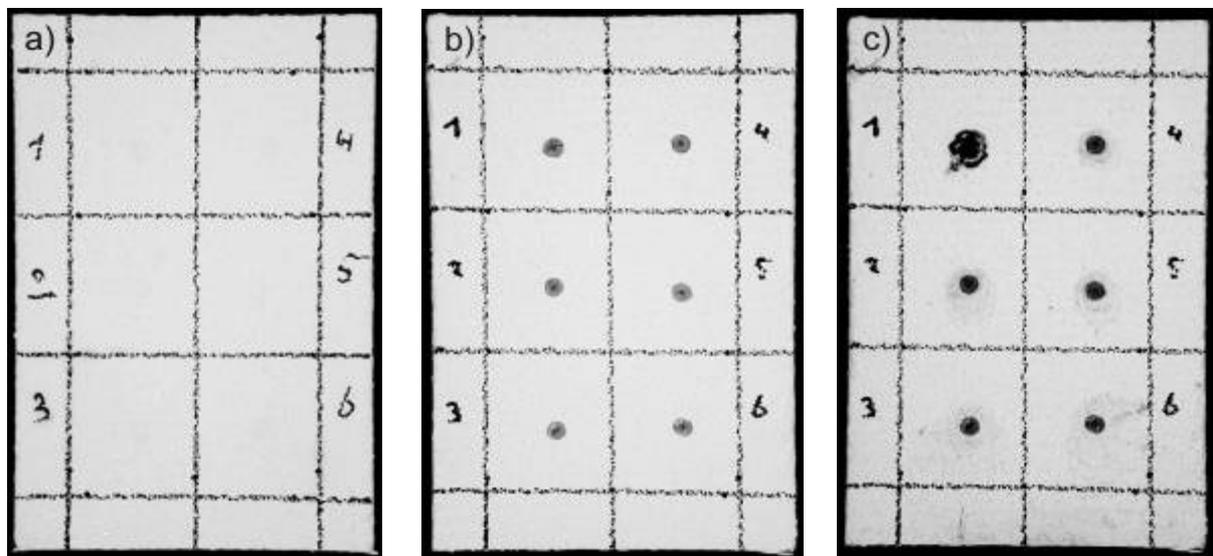
Im Rahmen der vorliegenden Arbeit sollten Pilze auf Baustoffoberflächen im laufenden Versuch mit CFW angefärbt werden, um die Zunahme des Bewuchses über die Zeit zu dokumentieren. Es war deshalb von großer Bedeutung festzustellen, ob die wöchentliche Färbung mit CFW das Pilzwachstum beeinflusst, was das Ziel dieser Untersuchung war.

#### **4.1.3 Material und Methoden**

Als Testorganismus wurde in dieser Untersuchung der Pilz *Penicillium chrysogenum* verwendet. Hierbei handelte es sich um einen aus dem Freiland isolierten Stamm (Details siehe Kapitel 4.2.3). Dieser wurde bei 25°C auf Potato-Dextrose Agar in Petrischalen vermehrt und zur Sporulation gebracht. Um Sporen zu gewinnen, wurden die Petrischalen mit einer 1,5%igen Dextroselösung geflutet. Diese sollte gleichzeitig für ein schnelleres Anwachsen des Pilzes auf den Testoberflächen sorgen. Unter leichtem Schaben auf der Agaroberfläche mit einer Impföse wurde so eine Sporensuspension hergestellt. Deren Konzentration wurde mittels Thoma-

Zählkammer (Carl Roth GmbH, Karlsruhe) unter dem Lichtmikroskop bestimmt, sie betrug 43 Mio. Sporen pro ml.

Als Testoberflächen fanden Zementfaserplatten Verwendung, die mit einer handelsüblichen Silikatfarbe (siehe Kapitel 3.1.3) beschichtet waren. Auf diesen Oberflächen hatte sich das Wachstum des verwendeten Pilzes in Vorversuchen als besonders gut herausgestellt. Jeder Probekörper wurde in 6 4x4 cm große Felder unterteilt, wobei ein ca. 1cm breiter Rand freigelassen wurde, um unerwünschte Effekte durch Berühren der Proben o. ä. zu vermeiden (Abbildung 19a). Die 6 Felder jedes Probekörpers wurden als Parallelen betrachtet.



**Abbildung 19:** In der Untersuchung verwendeter Probekörper: a) im Ursprungszustand, b) mit Pilzsporensuspension beimpft, c) nach 6-wöchigem Wachstum

Anschließend wurde in die Mitte eines jeden Feldes 15 µl Sporensuspension mittels Mikropipette (Eppendorf Research 100, Eppendorf AG, Hamburg) aufgetragen (Abbildung 19b). Anschließend wurden die Proben bei 100% rel. Luftfeuchte in Kunststoffboxen (Abbildung 24) bei 15°C waagrecht gelagert und einmal täglich in diesen Boxen mittels Ultraschallvernebler (Fakir LB-10, Fakir-Hausgeräte GmbH, Vaihingen/Enz) für 7 min mit Aqua dest. benebelt.

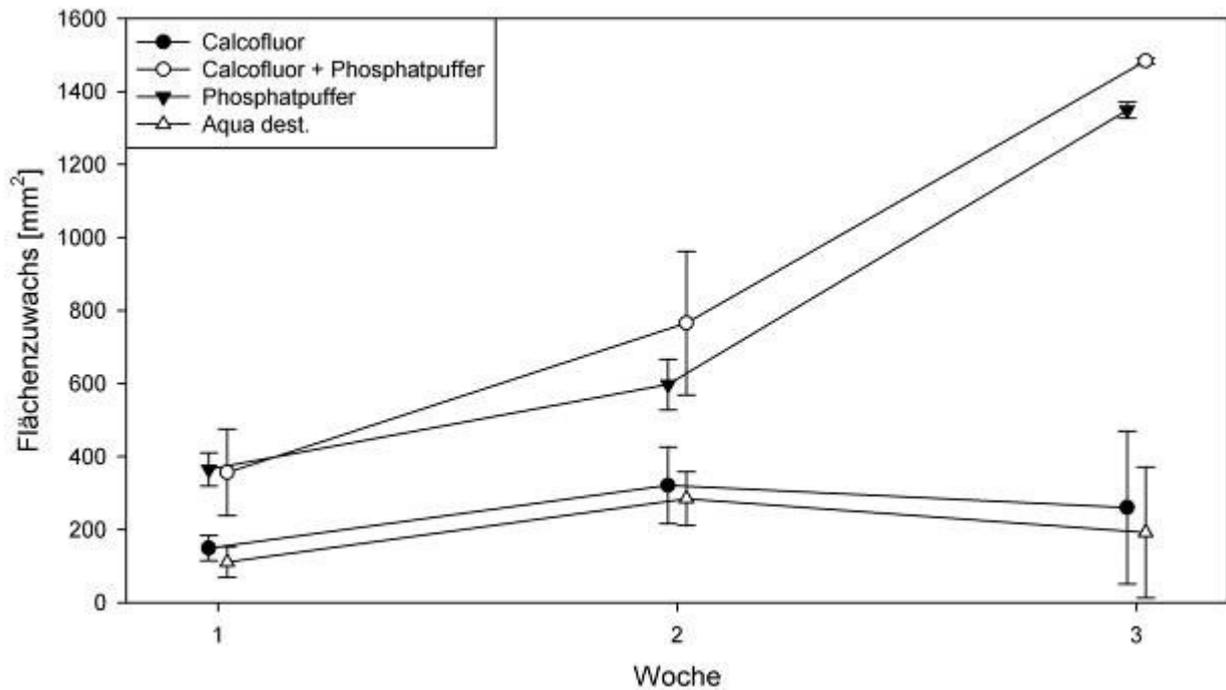
Es wurden 4 Versuchsvarianten analysiert (Tabelle 12).

**Tabelle 12:** Untersuchungsvarianten. CFW = Calcofluor white

<b>Variante 1</b>	<b>Variante 2</b>	<b>Variante 3</b>	<b>Variante 4</b>
0,1% CFW in Aqua dest.	0,1% CFW in Phosphatpuffer (pH 9)	Phosphatpuffer (pH 9)	Aqua dest.

Bei dem hier verwendeten Puffer handelte es sich um eine Mischung aus Dinatriumhydrogenphosphat ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ) und Kaliumdihydrogenphosphat ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) im Mischungsverhältnis von 1,3 : 1. Der Puffer hatte einen pH-Wert von 9. Mit diesen unterschiedlichen Substanzen wurden die Proben wie in Kapitel 3.2.3 beschrieben, einmal wöchentlich behandelt. Während der Versuchsdauer von 3 Wochen wurden die Proben einmal pro Woche unter einer Stereolupe analysiert. Dabei wurde mittels Messokular die Flächenbelegung innerhalb jedes Kästchens bestimmt und durch eine Eichung mit Millimeterpapier in  $\text{mm}^2$  umgerechnet. Die über den gesamten Versuchszeitraum ermittelten Werte wurden statistisch ausgewertet. Durch LOG-Transformation der Daten ließ sich Normalverteilung herstellen, jedoch keine Varianzhomogenität. Deshalb wurde als Post-Hoc-Test für die einseitige ANOVA der Games-Howell Test verwendet, der speziell für heterogene Varianzen geeignet ist.

#### 4.1.4 Ergebnisse



**Abbildung 20:** Flächenzuwachs von *Penicillium chrysogenum* über 3 Wochen bei Behandlung mit 4 unterschiedlichen Lösungen. Dargestellt sind die Mittelwerte aus 6 Parallelen mit 95%-Konfidenzintervallen

**Tabelle 13:** Unterschiede zwischen den vier Behandlungsvarianten hinsichtlich des Flächenzuwachses von *Penicillium chrysogenum* über den Versuchszeitraum von 3 Wochen. Signifikanzniveaus nach einfaktorieller Varianzanalyse.

	Aqua dest.	Phosphatpuffer	0,1% CFW in Phosphatpuffer
0,1% CFW in Aqua dest.	n.s.	***	***
0,1% CFW in Phosphatpuffer	***	n.s.	
Phosphatpuffer	***		

Die Varianzanalyse zeigte, dass über den Versuchszeitraum von 3 Wochen die mit Phosphatpuffer behandelten Proben im Bewuchs mit *Penicillium chrysogenum* höchst signifikant unterschiedlich sind von der mit Calcofluorlösung und der mit Aqua dest. behandelten Probe. Die Proben, die mit Phosphatpufferlösungen behandelt wurden, waren im Bewuchs nicht signifikant voneinander verschieden. Ebenso wenig

unterschieden sich die Proben, die mit reiner Calcofluorlösung und mit Aqua dest. behandelt wurden, voneinander (Tabelle 13).

Bereits in der ersten Woche nach Behandlungsbeginn zeigten die mit Phosphatpuffer und Calcofluor + Phosphatpuffer behandelten Proben ein signifikant stärkeres Wachstum als die mit reinem Calcofluor und die mit Aqua dest. behandelten. Dieser Unterschied wurde in den darauf folgenden Wochen sogar noch größer (Abbildung 20). Zwischen den Proben, deren Behandlungsvarianten Phosphatpuffer enthielten, ergab sich erst in der dritten Woche ein signifikanter Unterschied. Der Bewuchs der Proben, die mit reinem Calcofluor oder mit Aqua dest. behandelt wurden, unterschied sich während des gesamten Untersuchungszeitraums nicht signifikant voneinander.

#### 4.1.5 Diskussion

##### Calcofluor

Bereits mehrfach wurde nachgewiesen, dass CFW bei Pilzen und anderen Mikroorganismen einen Einfluss auf die Chitinsynthese und -anordnung hat (BARTNICKI-GARCIA *et al.*, 1994; ELORZA *et al.*, 1983; HERTH, 1980; RONCERO und DURAN, 1985; SELITRENNIMOFF, 1984; VERMEULEN und WESSELS, 1986). In dieser Untersuchung jedoch zeigte die Behandlung mit 0,1%iger Calcofluorlösung gegenüber der nur mit Aqua dest. behandelten Probe kein signifikant unterschiedliches Wachstum.

RONCERO und DURAN (1985) konnten nach Färbung unterschiedlicher Pilzkulturen auf Agar mit einer 2%igen CFW-Lösung eine vollständige Inhibition des Wachstums feststellen. Flüssigkulturen der Hefe *Geotrichum lactis* zeigten bereits bei einer CFW-Konzentration von 0,008% keinerlei Wachstum mehr. Gleichzeitig konnten sie jedoch zeigen, dass CFW die Chitinpolymerisierung steigert, um den Faktor 2 bei *Saccharomyces cerevisiae* und den Faktor 30 bei *Geotrichum lactis*. BARTNICKI-GARCIA *et al.* (1994) hingegen wiesen in vitro ab einer Calcofluorkonzentration von 0,2 mg/ml (208 µM) eine vollständige Hemmung der Chitinsynthetase und damit der Chitinsynthese nach, in der vorliegenden Untersuchung wurde eine Konzentration von 1mg/ml verwendet. Diese unterschiedlichen Ergebnisse werden darauf zurückgeführt, dass in vitro CFW direkten Kontakt zur Innen- und Außenseite der Chitinsynthetase bekommt, die sich normalerweise im Protoplasten befindet, in den

CFW nicht eindringen kann, weshalb es in vivo nur mit der Außenseite in Kontakt steht. Die Inhibition der Chitinsynthetase könnte also mit dem Kontakt von CFW zur Innenseite zusammenhängen (RONCERO und DURAN, 1985). Bei ausschließlichem Kontakt zur Außenseite hingegen wirkt CFW aktivierend auf die Chitinsynthese.

Entscheidend ist jedoch dabei, dass die Kristallisation des Chitins zu Chitinfasern, die ein Selbstorganisationsprozess ist, durch CFW gehemmt wird. Es wird vermutet, dass der über Wasserstoffbrückenbindungen an die Polysaccharide gebundene Farbstoff die Ausbildung von Wasserstoffbrückenbindungen zwischen den Polysaccharidmolekülen, die zur Bildung von Chitinfasern führen würde, verhindert (HERTH, 1980). Dadurch kann es zur Instabilität der Zellwand und sogar zur Lyse der Zelle kommen (RONCERO und DURAN, 1985).

Zu beachten ist bei diesen Untersuchungen jedoch, dass das Wachstum der Organismen über einen längeren Zeitraum in einer CFW-Lösung stattgefunden hat. Dies hat zur Folge, dass stets ungebundener Farbstoff zur Verfügung steht, der an neu gebildetes Chitin binden kann und dadurch die Chitinfaserbildung negativ beeinflussen kann. Dafür spricht auch, dass Kulturen, die in einer CFW-Lösung gewachsen sind, wieder zu ihrem normalen Wachstum zurückkehren, wenn man sie aus der Farbstofflösung entnimmt (RONCERO und DURAN, 1985). Damit ließe sich begründen, dass trotz der vielfältigen Einflüsse von CFW auf das Pilzwachstum in der vorliegenden Untersuchung kein Einfluss festgestellt werden konnte. Denn hier wurde die Probe nur einmal wöchentlich mit dem Farbstoff besprüht und anschließend abgewaschen. Dies heißt aber, dass er zwar zu diesem Zeitpunkt an vorhandenes Chitin binden konnte, jedoch durch das anschließende Abwaschen keiner, oder kaum noch, ungebundener Farbstoff vorlag, der die zukünftige Bildung der Chitinfasern beeinflussen konnte.

#### Phosphatpuffer

Die Proben, die einmal wöchentlich mit den phosphatpufferhaltigen Lösungen behandelt wurden, zeigten über den gesamten Zeitraum ein signifikant stärkeres Wachstum als die anderen Proben.

Phosphat, ist ein wichtiger mineralischer Nährstoff, der für die Produktion von Nukleinsäuren, ATP, Membranphospholipiden usw. benötigt wird. Phosphat ist in der

Umwelt oft schlecht verfügbar. Pilze sind zwar in der Lage, durch die Sezernierung von Phosphatasen organische Phosphate zu spalten oder durch Senkung des pHs durch Freisetzung von organischen Säuren selbst anorganische Phosphate löslich zu machen, dennoch ist Phosphat oft ein Mangelnährstoff (DEACON, 2006). Deshalb ist es nicht unerwartet, dass das durch den Phosphatpuffer zugeführte Phosphat das Wachstum von *Penicillium chrysogenum* beschleunigte. Obwohl der Puffer nach dem Besprühen der Proben wieder von diesen abgewaschen wurde, könnte er das Wachstum beschleunigt haben. Denn zum einen ist möglicherweise nicht der gesamte Puffer abgewaschen worden, so dass Reste auf der Probe zurückblieben, zum anderen sind Pilze in der Lage, Phosphate als Polyphosphate in ihren Vakuolen zu speichern und später zu nutzen (DEACON, 2006). Dies könnte bereits während der kurzen Einwirkzeit von 10 min geschehen sein.

Dass der Flächenzuwachs der Variante Calcofluor + Phosphatpuffer in der dritten Woche signifikant höher liegt als der der Variante Phosphatpuffer muss nicht am tatsächlich stärkeren Wachstum liegen. Denn bei beiden Varianten waren bei allen Parallelen dieser beiden Varianten die Probefelder komplett bewachsen. Lediglich weil vor Beginn der Behandlung die Felder der Variante Calcofluor + Phosphatpuffer weniger bewachsen waren, ergibt sich somit ein insgesamt größerer Flächenzuwachs dieser Variante.

Insgesamt konnte in dieser Untersuchung gezeigt werden, dass bei der hier vorgestellten Anwendung CFW keinen signifikanten Einfluss auf das Pilzwachstum hat. Somit eignet sich diese Art der Anfärbung von Pilzbewuchs dazu, die Änderung im Bewuchs während eines laufenden Versuchs zu dokumentieren.

## 4.2 Untersuchungen zum Wachstum von *Penicillium chrysogenum* und *Cladosporium cladosporioides* auf technischen Materialien

### 4.2.1 Einleitung

Pilzbewuchs technischer Oberflächen, insbesondere von Baumaterialien aller Art, stellt ein Problem dar, welches zunehmend an Bedeutung gewinnt (BÜCHLI und RASCHLE, 2006). Um diesem Problem zu begegnen war bisher der Einsatz von Bioziden die bevorzugte Methode (PAULUS, 1995). Durch die EU-Biozidrichtlinie (98/8/EG) (EUROPÄISCHES PARLAMENT, 1998) ist die Auswahl an Bioziden schon deutlich beschränkt und wird weiter eingeschränkt werden. Deshalb findet seit einiger Zeit eine intensive Suche nach alternativen Möglichkeiten zur Reduzierung oder Vermeidung mikrobiellen Bewuchses auf Baustoffen statt. Sehr viel versprechend erscheint hier der Einsatz neu entwickelter funktionaler Oberflächen. Am weitesten vorangeschritten ist die Entwicklung von photokatalytischen Oberflächen und superhydrophoben, selbstreinigenden Oberflächen (Lotus-Effect®). Ein Problem ist jedoch bei beiden Oberflächentypen die Art und Weise, auf die deren Wirksamkeit getestet werden kann. Für photokatalytische Oberflächen gibt es Labortestverfahren, die die photokatalytische Aktivität einer Oberfläche überprüfen. Dies geschieht meist gegenüber Methylenblau (MAZURKEVICH und KOBASA, 2001; QI *et al.*, 2006; SUPSAKULCHAI *et al.*, 2003; WANG *et al.*, 2002) oder Fettsäuren wie Stearinsäure (PAZ *et al.*, 1995) oder Palmitinsäure (PUZENAT und PICHAT, 2003; ROMÉAS *et al.*, 1999). Für superhydrophobe selbstreinigende Oberflächen existieren solche Tests nicht. Erste Vorschläge hierfür, was die Effizienz bei Verschmutzung mit nicht biologischen Partikeln betrifft, machen NEINHUIS und BARTHLOTT (1998) und FÜRSTNER *et al.* (2005). Bisher gibt es zu superhydrophoben, selbstreinigenden Oberflächen nur wenige wissenschaftliche Untersuchungen, die eine quantitative Aussage über die Wirksamkeit solcher Oberflächen gegenüber dem Mikroorganismenbewuchs zulassen. Bei photokatalytischen Oberflächen ist hierzu mehr bekannt (MACHIDA *et al.*, 2005; MCCULLAGH *et al.*, 2007; QI *et al.*, 2006; WOLFRUM *et al.*, 2002).

Um Aussagen über das tatsächliche Verhalten von Materialien unter realen Umweltbedingungen machen zu können, werden die Oberflächen im Allgemeinen im Freiland für einen langen Zeitraum ausgelagert. Die ist zwar die realitätsnaheste

Methode, sie nimmt jedoch sehr viel Zeit in Anspruch (einige Monate bis mehrere Jahre). Dies widerspricht im Besonderen den immer kürzer werdenden Entwicklungszeiträumen neuer Produkte. Deshalb ist der Druck sehr groß, ein zeitlich verkürztes Labortestverfahren zu entwickeln, welches eine Aussage über die dauerhafte Wirksamkeit gegenüber dem Mikroorganismenbewuchs im Freiland zulässt.

#### **4.2.2 Ziele**

Ziel dieser Versuchsreihe war es zunächst, die ideale Einstellung Parameter für ein Testverfahren zu ermitteln, unter denen es bei technischen Materialien zu einem Bewuchs mit Pilzen unter kontrollierten Bedingungen kommt. Dazu gehören u. a. Luftfeuchte, Temperatur, UV-Intensität, Mindestdauer und Applikationsmethode der Pilzsporen. Weiterhin sollte aufgeklärt werden, ob anhand der hier vorgestellten Testverfahren Unterschiede im Bewuchs unterschiedlicher Baustoffe feststellbar sind, die durch die Funktionalität derselben zu erklären sind.

#### **4.2.3 Material und Methoden**

##### VERWENDETE PILZTAXA

Aus der Literatur ist eine Vielzahl von Pilzarten bekannt, die Baustoffe besiedeln und somit zu deren Zerstörung beitragen können. Die wichtigsten Arten, die laut DEUTSCHES INSTITUT FÜR NORMUNG (1999) häufig auf Baustoffen anzutreffen sind, gehören folgenden Gattungen an: *Alternaria*, *Aspergillus*, *Aureobasidium*, *Cladosporium* und *Penicillium*. Aus diesen Gattungen wurden zu Arbeitsbeginn 19 Arten in 45 Stämmen bei verschiedenen Sammlungen bestellt. Da zum einen die Anzahl der verwendeten Pilzarten in einem Testverfahren sehr begrenzt ist, zum anderen nicht alle erwähnten Pilzarten auf den Testoberflächen wachsen, wurde in einem ersten Schritt durch Vorversuche diese Anzahl auf zwölf Arten aus sieben Gattungen reduziert.

Aus der Literatur ist ebenfalls bekannt, dass die Fähigkeit von Schimmelpilzen, auf Oberflächen zu wachsen, die keine idealen Lebensbedingungen bieten, durch lange Kultur auf Agar beeinträchtigt werden kann (BUTT *et al.*, 2006). Um dem Rechnung

zu tragen, wurden parallel eigene Pilzproben von Baustoffoberflächen entnommen. Diese Proben wurden kultiviert, einzelne Kolonien wurden isoliert und zur Bestimmung an das Centraalbureau voor Schimmelcultures (Utrecht, Niederlande) gesandt. Der dominant vorkommende Pilz wurde als *Penicillium chrysogenum* Thom bestimmt. In zusätzlichen Wachstumsversuchen erwies sich dieser Pilz ebenfalls als sehr gut geeignet, da er in der Lage war, unterschiedlichste technische Oberflächen zu besiedeln.

In weiteren Experimenten zur Wachstumsfähigkeit verschiedener Pilzarten auf technischen Oberflächen stellte sich noch eine zusätzliche Pilzart als besonders guter Baustoffbesiedler heraus: *Cladosporium cladosporioides* Fresen. Diese Art wurde als vakuumgetrocknete Kultur (DSM Nr. 62121) von der Deutschen Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH, Braunschweig, bezogen und war in der Lage, nahezu alle verwendeten technischen Materialien in relativ kurzer Zeit zu bewachsen. Mit *Penicillium chrysogenum* und *Cladosporium cladosporioides* wurden alle darauf folgenden Untersuchungen durchgeführt.

#### KULTIVIERUNG DER PILZE UND GEWINNUNG DER SPORENSUSPENSION

Die verwendeten Pilzarten wurden als Stammkulturen in geschlossenen Petrischalen auf Potato-Dextrose Agar bei 5°C im Kühlbrutschrank (IPP 200, Memmert GmbH, Schwabach) kultiviert und alle 3 Monate unter sterilen Bedingungen auf neuen Agar überimpft. Um Sporenmaterial für die Untersuchungen zu gewinnen, wurde Sporenmaterial aus einer Stammkultur auf frisch angesetzten Nährboden gebracht und 7 bis 14 Tage in einem Brutschrank (UM300, Memmert GmbH, Schwabach) bei 25°C bis zur guten Sporulation bebrütet.

Zur Gewinnung der Sporensuspension wurden die Petrischalen dieser sporulierenden Gebrauchskulturen mit 5-10ml sterilem demineralisiertem Wasser versetzt und die Sporen unter Zuhilfenahme einer Impföse oder eines Spatels sorgfältig von der Unterlage (Agar) abgewaschen und durch ein steriles Sieb filtriert. Um stets die gleiche Sporenkonzentration (12,5 Mio. Sporen pro ml bei Teilversuch 1 und 2 und 2,5 Mio. bei Teilversuch 4) zu erreichen, wurden die Sporen in einer Thoma-Zählkammer (Carl Roth GmbH, Karlsruhe) ausgezählt und die Suspension gegebenenfalls verdünnt.

Die Sporengewinnung für Teilversuch 3 verlief anders. Hier wurden die bewachsenen Kulturpetrischalen geöffnet um den Agar eintrocknen zu lassen. Anschließend wurden durch leichtes Klopfen auf die umgedrehten Petrischalen die Sporen gelöst und mit einem Blatt Papier aufgefangen.

#### PROBEKÖRPER

Für die Experimente in diesem Kapitel wurden Proben von Fassadenbeschichtungen der STO AG, Stühlingen und Dachziegelproben der Erlus Baustoffwerke AG, Neufahrn verwendet. Eine genaue Aufstellung aller Proben findet sich in Kapitel 3.1.2, Tabelle 8. Die Fassadenfarben wurden vom Hersteller auf Styroporplatten mit einer Größe von ca. 10x15cm aufgestrichen geliefert. Die Dachziegelproben waren Ausschnitte aus industriell gefertigten Dachziegeln mit unterschiedlichen Beschichtungen. Sie hatten eine Größe von ca. 8x15cm.

#### KONTAKTWINKELMESSUNG

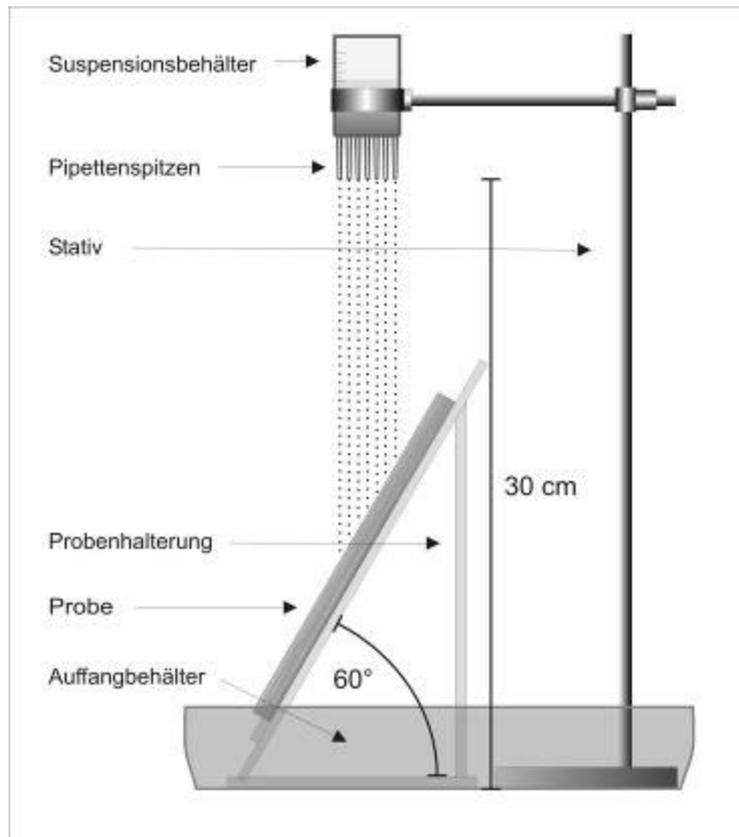
Die Kontaktwinkel der unterschiedlichen Probekörper wurden, wie in Kapitel 3.2.2 beschrieben, bestimmt.

#### INOKULATION DER PROBEN

##### Nassinokulation:

Die verwendete Sporensuspension wurde, wie in diesem Kapitel im Punkt ‚Kultivierung der Pilze und Gewinnung der Sporensuspension‘ beschrieben, hergestellt und die Sporenkonzentration bestimmt.

Für die Inokulation wurden die Probekörper in einer Halterung im Winkel von 60° gelegt. Oberhalb der Probe befand sich ein Reservoir, welches mit 50ml Sporensuspension gefüllt wurde. Aus diesem regnete die Suspension aus einer Höhe von 30 cm über der Unterkante der Probekörper auf diese herab (Abbildung 21). Während des Inokulationsvorgangs wurden die Probekörper langsam und gleichmäßig hin und her bewegt, um eine möglichst gleichmäßige Inokulation zu erreichen. Anschließend konnte die Suspension auf der waagrecht liegenden Probe ca. 5 min antrocknen, bevor diese in die Kunststoffbox zurückgestellt wurde.

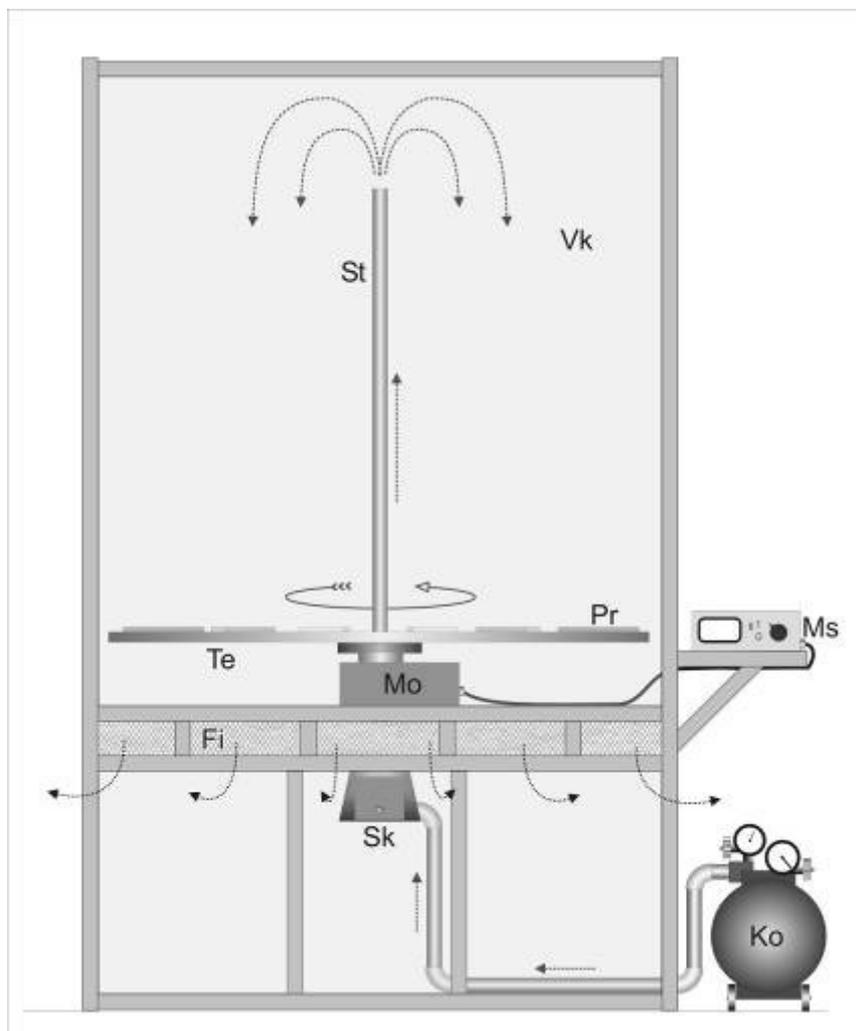


**Abbildung 21:** Schematische Darstellung des Aufbaus zur Nass-Inokulation von Probekörpern. Aus GERMAN, Z. (2007)

#### Trockeninokulation:

Die Trockeninokulation wurde mit reinen Pilzsporen durchgeführt, die vorher über einen Zeitraum von 24 Stunden bei Raumtemperatur luftgetrocknet wurden. Für die anschließende Verstäubung wurden 250 mg Sporenmaterial verwendet, was ca. 12,5 Mrd. Sporen entsprach. Die Inokulation erfolgte in einer speziell für diesen Zweck aus Plexiglas angefertigten Verstäubungskammer (Abbildung 22). In dieser Kammer lagen die Probekörper auf einem langsam rotierenden Teller, dessen Bewegung eine gleichmäßige Deposition des verstäubten Materials gewährleisten sollte. Die Rotationsgeschwindigkeit ließ sich durch ein Steuergerät einstellen, wurde aber für alle Versuche gleich belassen. Das Verstäubungsgut wurde in eine kleine Kammer unterhalb des Tellers gefüllt, anschließend wurde mit einem Kompressor ein Druck von 3 bar aufgebaut. Durch vorsichtiges Aufdrehen eines Ventils am Kompressor wurde Luft in die kleine Kammer mit dem Verstäubungsgut eingelassen. Die Pilzsporen gelangten durch den entstehenden Überdruck durch ein Steigrohr nach

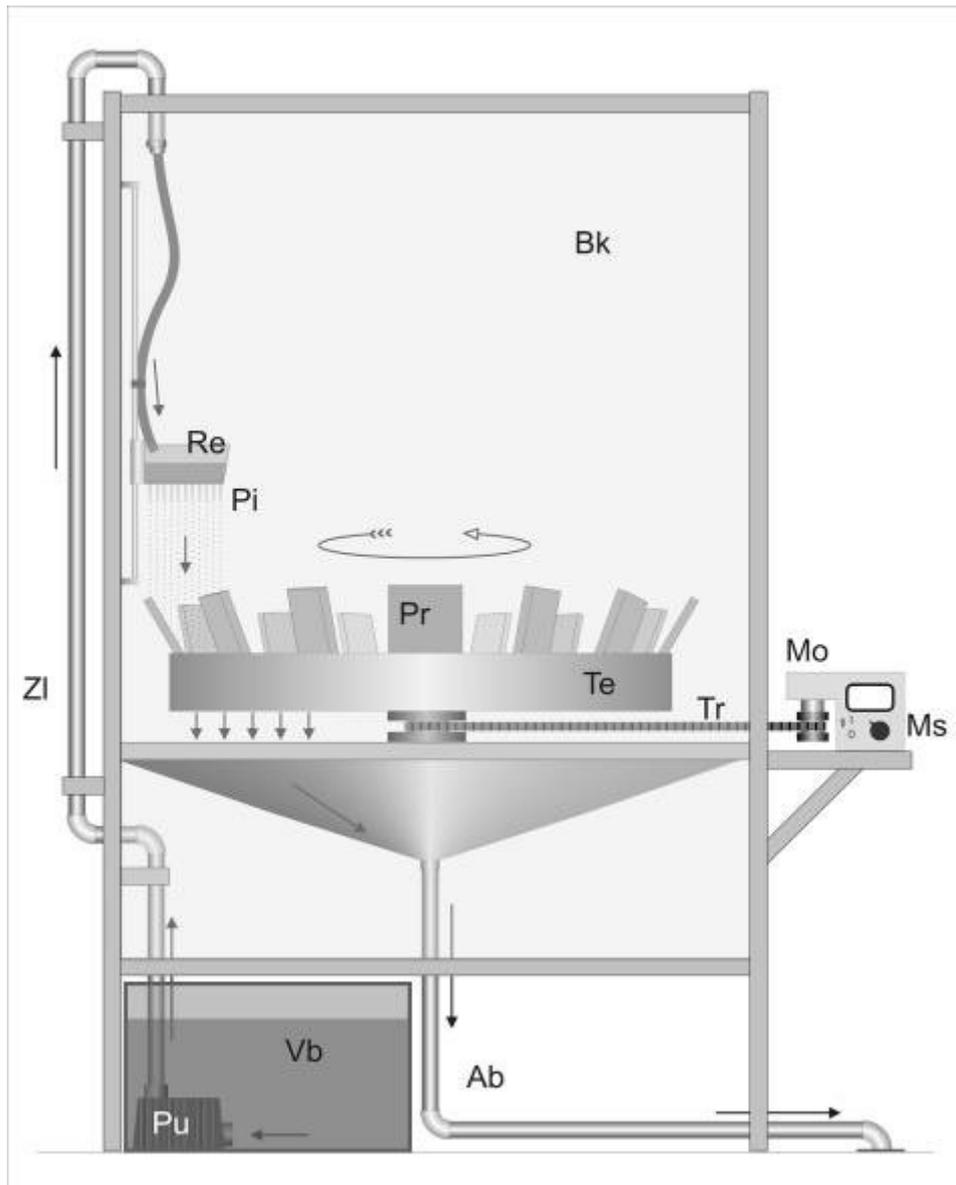
oben und schwebten von der Decke der Kammer langsam herab auf die Probekörper. Für den Depositionsvorgang wurden die Probekörper 5 Stunden in der Kammer belassen. Die ansonsten abgedichtete Kammer besaß rundherum einen ca. 10 cm breiten Bereich, der nicht aus Plexiglas bestand, sondern aus einem Metallgitter mit eingepassten Filtermatten, um den Überdruck aus der Kammer entweichen zu lassen, ohne die Umgebung mit Pilzsporen zu kontaminieren. Durch die Verwendung eines Steigrohrs und Arbeit mit geringen Drücken konnte sichergestellt werden, dass keine größeren Konglomerate auf die Probekörper gelangten, da diese aufgrund ihres höheren Gewichtes nicht die Höhe der Austrittsöffnung erreichen.



**Abbildung 22:** Schematische Darstellung der Verstäubungskammer. Vk = Verstäubungskammer, St = Steigrohr, Pr = Probekörper, Te = rotierender Teller, Mo = Motor, Ms = Motorsteuerung, Fi = Filter, Sk = Sporenkammer, Ko = Kompressor. Aus CERMANN, Z. (2007)

## BEREGNUNG

Die Beregnung der Probekörper erfolgte einmal wöchentlich in einer aus Aluminiumprofilen und PVC-Platten selbst konstruierten Beregnungskammer (Abbildung 23). In dieser konnten bis zu 12 Probekörper gleichzeitig beregnet werden. Die Probekörper wurden auf einem großen, perforierten Kunststoffdrehteller im Winkel von  $60^\circ$  aufgestellt. Dieser Teller wurde von einem außerhalb der Kammer befindlichen Motor über einen Treibriemen angetrieben. Die Geschwindigkeit ließ sich mittels Motorsteuerung einstellen, wurde aber für alle Versuche gleich eingestellt. Für den Beregnungsvorgang wurde demineralisiertes Wasser durch eine Pumpe aus einem Vorratsbehälter über eine Zuleitung in ein höhenverstellbares kleineres Reservoir gepumpt. An der Unterseite dieses Reservoirs waren Pipettenspitzen zur besseren Verteilung des Gießwassers angeklebt. Bei einer Standardberegnung betrug der Abstand zwischen Probenoberkante und Gießgefäß 25 cm. Alle Probekörper wurden 3-mal unter dem Reservoir vorbeigedreht. Dabei wurde die Geschwindigkeit des Drehtellers so eingestellt, dass auf jeden Probekörper während dieser Zeit ca. 50 ml demineralisiertes Wasser fielen. Das überschüssige Wasser lief durch den perforierten Teller in einen Abfluss und aus der Kammer.

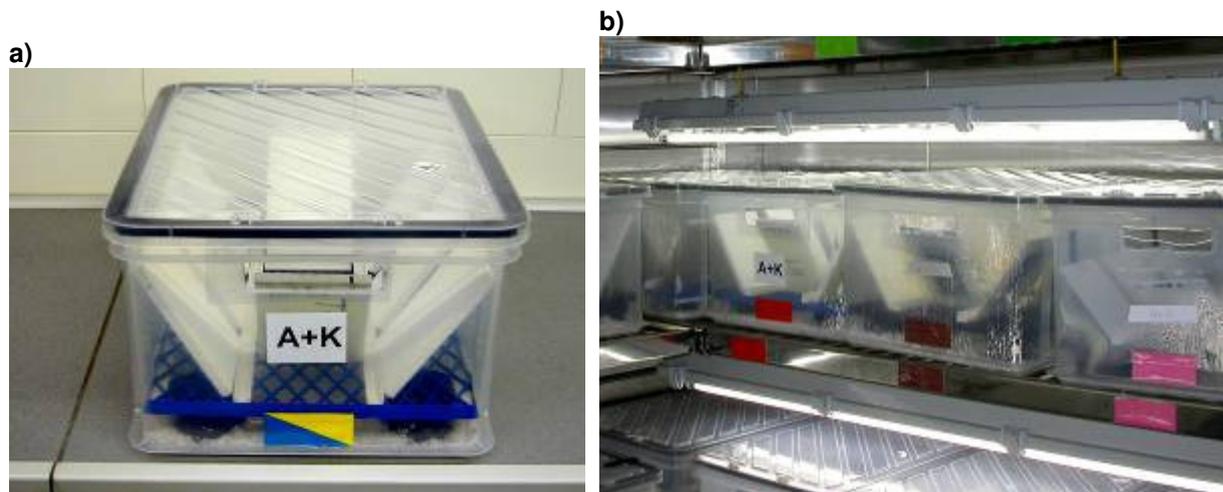


**Abbildung 23:** Schematische Darstellung der Beregnungskammer. Bk = Beregnungskammer, Re = Reservoir, Pi = Pipettenspitzen, Pr = Probekörper, Te = rotierender Teller, Tr = Treibriemen, Mo = Motor, Ms = Motorsteuerung, Zl = Zuleitung, Vb = Vorratsbehälter, Pu = Pumpe, Ab = Abfluss. Aus GERMAN, Z. (2007)

#### PROBENLAGERUNG IN DER KLIMAKAMMER

Je 8 Probekörper zusammen wurden in der Klimaprüfzelle (Feutron Klimasimulation GmbH, Langenwetzendorf) in transparenten, UV-durchlässigen, abgedichteten Kunststoffboxen (Curver GmbH, Neu-Isenburg) aufbewahrt (Abbildung 24). Die geschlossenen Boxen dienen zum einen zur Erhöhung der Luftfeuchtigkeit und damit zur Optimierung der Wachstumsbedingungen für Pilze und Algen. Zum anderen verhindern sie mögliche Fremdkontaminationen der Probekörper.

In den Boxen wurden die Probekörper im Winkel von 60° aufgestellt. Am Boden jeder Box wurde eine Schicht des hochporösen Substrats Perlite (Knauf Perlite GmbH, Dortmund) ausgebracht, von der die Probekörper durch einen Gitterboden getrennt waren. Das Perlit wurde mit demineralisiertem Wasser gesättigt, diente so als Wasserspeicher und bewirkte eine konstant hohe Luftfeuchte. Nach Testmessungen mit einem Aspirationspsychrometer betrug die relative Feuchte in den Boxen bereits 15 Minuten nach Schließung des Deckels wieder 100%.



**Abbildung 24:** Lagerung der Proben während der Untersuchungen. a) Einzelne Kunststoffbox mit Proben b) Anordnung der Kunststoffboxen in der Klimakammer

Die Bedingungen unter denen die Plastikboxen mit den Probekörpern aufbewahrt wurden, sind Tabelle 14 zu entnehmen. Hierzu ist zu bemerken, dass parallel zu diesen Untersuchungen Experimente mit Algen stattfanden. Da diese an die Umweltbedingungen z. T. andere Anforderungen stellen als die Pilze, musste hier stets ein Kompromiss gefunden werden, der sich in den eingestellten Bedingungen in der Klimakammer widerspiegelt.

**Tabelle 14:** Zusammenstellung der abiotischen Parameter in der Klimakammer während der unterschiedlichen Teilversuche.

Teilversuche	Einstellungen Klimakammer			Verhältnisse in den Kunststoffboxen		
	Temp.	Beleuchtungswechsel	Rel. H.	Rel. H.	Beleuchtungsint.	UV-Intensität
1. Teilversuch Nassinokulation <i>Penicillium chrysogenum</i> ,	20 °C	12h hell/12h dunkel	70%	100%	4000 Lux	10 µW/cm <sup>2</sup>
2. Teilversuch Nassinokulation <i>Penicillium chrysogenum</i> , variiert	15 °C	12h hell/12h dunkel	70%	100%	1300 Lux	200 µW/cm <sup>2</sup>
3. Teilversuch Trockeninokulation <i>Penicillium chrysogenum</i>	15 °C	12h hell/12h dunkel	70%	100%	1300 Lux	200 µW/cm <sup>2</sup>
4. Teilversuch Nassinokulation <i>Cladosporium cladosporioides</i>	20 °C	12h hell/12h dunkel	70%	100%	4000 Lux	10 µW/cm <sup>2</sup>

Sowohl Beleuchtungs- als auch Temperaturbedingungen wurden zwischen den einzelnen Teilversuchen geändert. Die Änderung der Beleuchtungsstärke hatte zwei Gründe. Zum einen wurden die Algen, die sich parallel zu den Untersuchungen mit Pilzen in der Klimakammer befanden, durch die hohe Lichtintensität geschädigt. Zum anderen wurde ab Teilversuch 2 die UV-Intensität erhöht, um den Effekt der photokatalytischen Proben zu verstärken. Die Temperatur wurde von 20 °C auf 17 °C gesenkt, da vermutet wurde, dass dies dem Wachstum der Algen zuträglich sei.

Insgesamt wurden die Einstellungen möglichst so gewählt, dass sie den idealen Wachstumsbedingungen für die gewählten Mikroorganismen entsprachen. Für *Penicillium chrysogenum* hätten sie bei 23-25 °C und einer Luftfeuchte von >90% gelegen (DEACON, 2006).

## AUSWERTUNGSMETHODEN

Zur Auswertung des Bewuchses der Proben mit dem jeweiligen Pilz sollte eine möglichst einfache, gleichzeitig aber den gesamten Bewuchs umfassende Auswertungsmethode verwendet werden. Im Laufe der Versuche wurden unterschiedliche Methoden angewendet, da sich zum Teil erst im Verlauf eines Versuches herausstellte, dass eine Methode zu kompliziert oder zu ungenau war, oder nicht den gesamten Bewuchs erfasste. Tabelle 15 gibt eine Übersicht über die angewandten Methoden und die Untersuchungen, für die sie verwendet wurden. Im Einzelnen werden die Methoden weiter unten beschrieben.

**Tabelle 15:** Analysemethoden des Pilzbewuchses der Proben und ihre Zuordnung zu den verschiedenen Versuchsteilen

Versuch	Auswertungsmethode	
	Dachziegel	Fassadenfarben
1. Teilversuch	Calcofluor/ScionImage	Calcofluor/ScionImage
2. Teilversuch	Calcofluor/ScionImage	Calcofluor/ScionImage
3. Teilversuch	---	Scans/ScionImage
4. Teilversuch	Bonitur	Bonitur

### Fluoreszenzfärbung

Die Proben der Teilversuche 1 und 2 wurden nach Abschluss der Untersuchungen mit Calcofluor white M2R fluoreszenzgefärbt und der Bewuchs wurde in einer UV-Kammer photographisch dokumentiert Für Details siehe Kapitel 3.2. Die quantitative Auswertung erfolgte mittels digitaler Bildbearbeitung.

### Digitale Bilderfassung und -auswertung

Alle ermittelten Daten, bis auf die per Bonitur ausgewerteten, wurden digital erfasst. Entweder mittels Digitalfotografie (Nikon Coolpix 4500, Nikon Corp., Tokio, Japan) oder durch das Einscannen (Canoscan 4200F, Canon Inc., Tokio, Japan) der Proben. Um vergleichbare Werte zu erhalten, blieben bei beiden Methoden die jeweiligen Einstellungen für alle Proben gleich. Das heißt, dass bei der Digitalkamera Belichtungszeit, Blende und Fokus stets gleich eingestellt waren. Beim Einscannen

der Proben wurden die Scannereinstellungen wie Farb-, Kontrast-, Helligkeits- und Auflösungseinstellung stets gleich gewählt. Diese digitalen Aufnahmen wurden im Bildbearbeitungsprogramm Photoshop 6.0 (Adobe Systems Inc., San Jose, USA) so zugeschnitten, dass ca. 0,5cm des Probenrandes entfernt wurden, um Randeffekte, z. B. durch das Anfassen der Proben, auszuschließen.

Zur Ermittlung der prozentualen Flächenbelegung wurden diese zugeschnittenen Bilder in die Software ScionImage 4.0 (Scion Corporation, Frederick, USA) importiert. Dort wurden die Bilder in reine Schwarzweißaufnahmen umgewandelt. Dafür musste ein Schwellenwert definiert werden. Dieser legt fest, welche Pixel als schwarz und welche als weiß dargestellt werden. Dieser Wert wurde für alle Proben gleich festgelegt. Anschließend berechnete das Programm die Zahl der schwarzen Pixel. Durch die Größe des Bildes war die Gesamtzahl der Pixel vorgegeben. So konnte der prozentuale Anteil der schwarzen Pixel an der Gesamtpixelzahl berechnet werden. Dieser Wert entsprach dem prozentualen Bewuchs der Probe durch den Pilz. Bei den mit Calcofluor gefärbten Proben mussten die Aufnahmen zunächst invertiert werden, da hier der Pilz durch die Färbung weiß leuchtete. Anschließend erfolgte die Auswertung wie oben beschrieben.

#### Sichtbonitur

Um auch große Probenflächen und -mengen einfach und schnell auswerten zu können wurde eine Boniturskala zur visuellen Einschätzung des Pilzbewuchses entwickelt (Tabelle 16). Besonders häufig verwendet werden solche Sichtbonituren im landwirtschaftlichen Bereich oder für Vegetationsaufnahmen (DIERSCHKE, 1994). Die hier erstellte Skala orientierte sich an vorhandenen Bonituren aus diesem Gebiet. Im Bereich geringeren Bewuchses wurde die Klassenbreite kleiner gewählt, um dort Differenzierungen zuzulassen. Ab einem Bewuchs von 25% betrug die Klassenbreite einheitlich 25%.

Die Auswertung erfolgte nach Beendigung der Versuche mit dem bloßen Auge durch 2 Personen gleichzeitig und für alle Proben in derselben Umgebung, um subjektive Einflüsse und solche durch unterschiedliche Lichtverhältnisse auszuschließen.

Für die statistischen Berechnungen wurde jeweils der Klassenmittelwert der ermittelten Boniturklasse verwendet.

**Tabelle 16:** Boniturskala zur Sichtbonitierung des Probenbewuchses

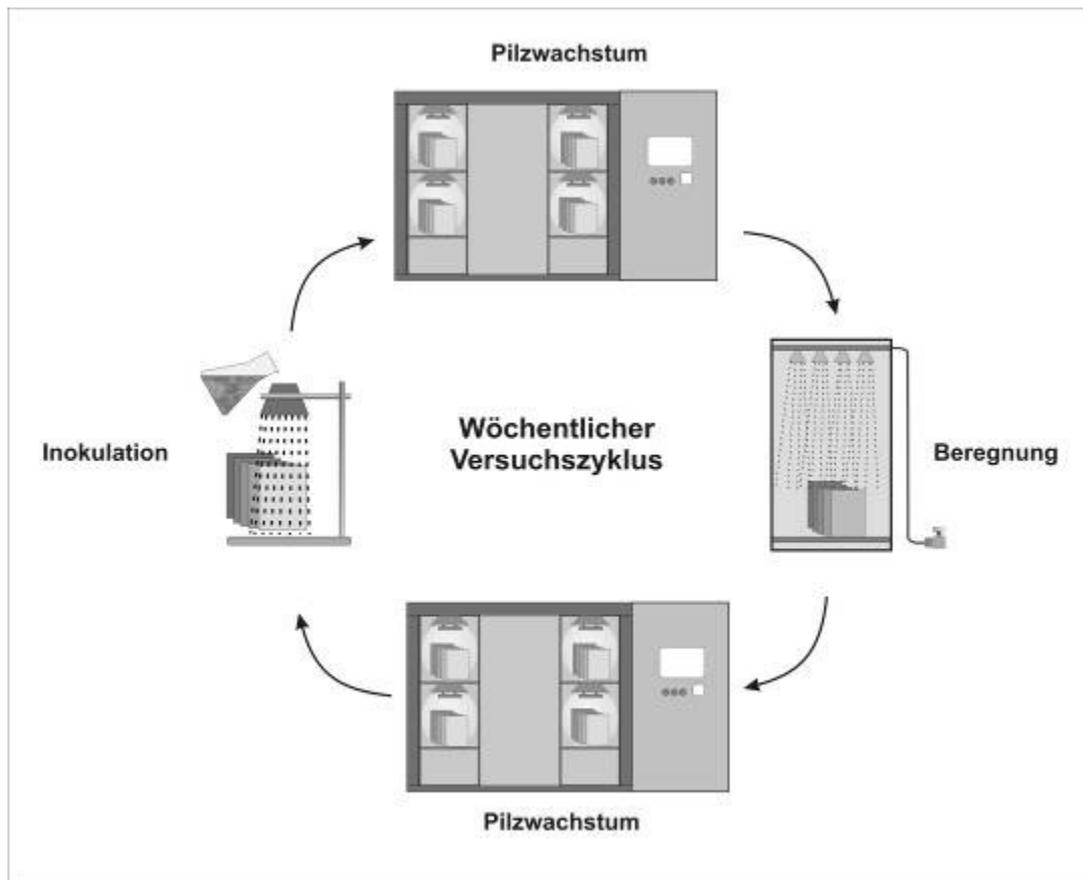
<b>Boniturnote</b>	<b>Flächenbewuchs [%]</b>	<b>Klassenmittelwert [%]</b>	<b>Klassenbreite [%]</b>
1	<1	0,5	1
2	1 - 5	3	4
3	5 - 12,5	8,8	7,5
4	12,5 - 25	18,8	12,5
5	25 - 50	37,5	25
6	50 - 75	62,5	25
7	75 - 100	87,5	25

#### STATISTISCHE AUSWERTUNG

Die ermittelten Werte wurden, wie in Kapitel 3.2.4 beschrieben, statistisch ausgewertet. Bis auf die Werte von Teilversuch 1 ließ sich auch durch Transformation keine Normalverteilung oder Varianzhomogenität herstellen. Deshalb wurde zur Varianzanalyse der Ergebnisse der Teilversuche 2-4 der nicht-parametrische Test Kruskal-Wallis-H verwendet (KÖHLER *et al.*, 2002), mit dem darauf folgenden Post-Hoc-Test nach Nemenyi. Die Varianzanalyse der Ergebnisse von Teilversuch 1 wurde mit einer einseitigen ANOVA durchgeführt, der sich anschließende multiple Mittelwertvergleich mittels Tukey-HSD-Test.

#### VERSUCHSZYKLUS

Ein strikter Wochenplan regelte den Ablauf des Versuchs (Abbildung 25). Zu Beginn der Woche wurden die Proben inokuliert und in der Wochenmitte beregnet. In der Zwischenzeit lagerten die Proben, wie oben beschrieben, in der Klimakammer. Nach Beendigung der Untersuchungen wurde der Bewuchs der Proben analysiert. Die Dauer der Versuche war unterschiedlich, auch aufgrund ihres unterschiedlich schnellen Bewuchses in den einzelnen Versuchen. Teilversuch 1 wurde nach 10 Wochen beendet, Teilversuche 2 und 3 nach 12 Wochen und Teilversuch 4 nach 8 Wochen.



**Abbildung 25:** Schematische Darstellung des wöchentlichen Versuchsablaufs. Aus CERMANN, Z. (2007)

## 4.2.4 Ergebnisse

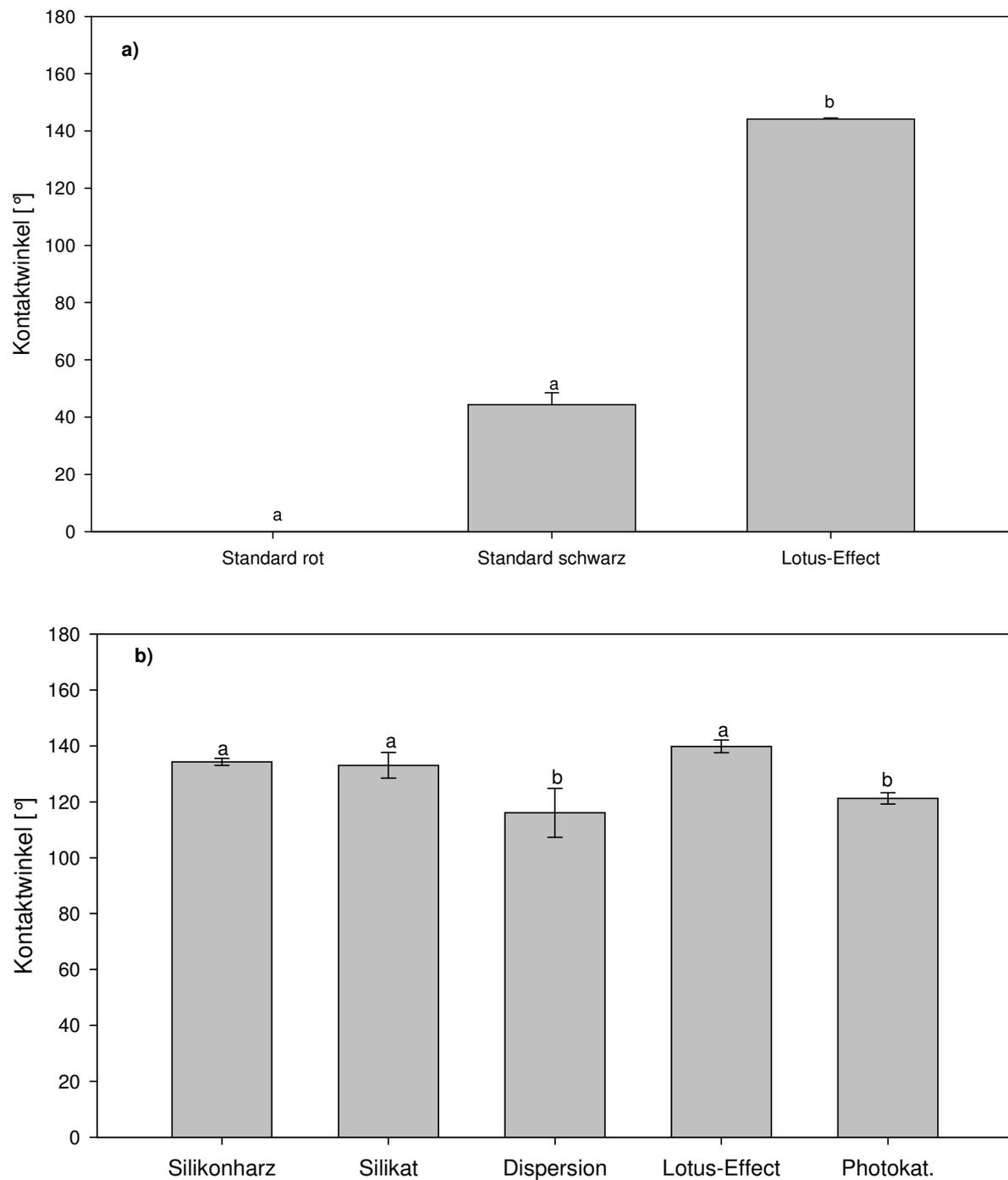
### OPTIMALE PARAMETER UND METHODEN FÜR EIN LABORTESTVERFAHREN

Ein Ziel dieser Untersuchung war es, die idealen Parameter für ein standardisiertes Testverfahren zur Ermittlung von Bewuchsunterschieden mit Pilzen auf technischen Oberflächen zu ermitteln. In Tabelle 17 sind diese Idealparameter zusammengefasst. Ausführlich sind die Einstellungen, Methoden und Parameter im Material und Methoden-Kapitel (4.2.3) dargestellt.

**Tabelle 17:** Ermittelte ideale Parameter und Methoden für ein Labortestverfahren zum Vergleich des Pilzbewuchses funktionaler Oberflächen untereinander und mit nicht-funktionalen.

<b>Parameter/Methode</b>	<b>Optimaler Wert/ optimale Methode</b>
Pilzart	<i>Penicillium chrysogenum</i>
Inokulation	Nassinokulation mit 12,5 Mio. Sporen/ml
Beregnung	täglich
Temperatur	25°C
UV-Intensität	> 400µW/cm <sup>2</sup>
Luftfeuchte	95-100%
Versuchsdauer	>8 Wochen

## KONTAKTWINKELMESSUNG



**Abbildung 26:** Kontaktwinkelmessung der in diesen Untersuchungen verwendeten Probekörper, a) Dachziegel, b) Fassadenfarben. Dargestellt sind Mittelwerte aus 10 Messungen mit Standardabweichung. Bei Übereinstimmungen von Buchstaben sind Unterschiede nicht signifikant ( $P > 0,05$ ).

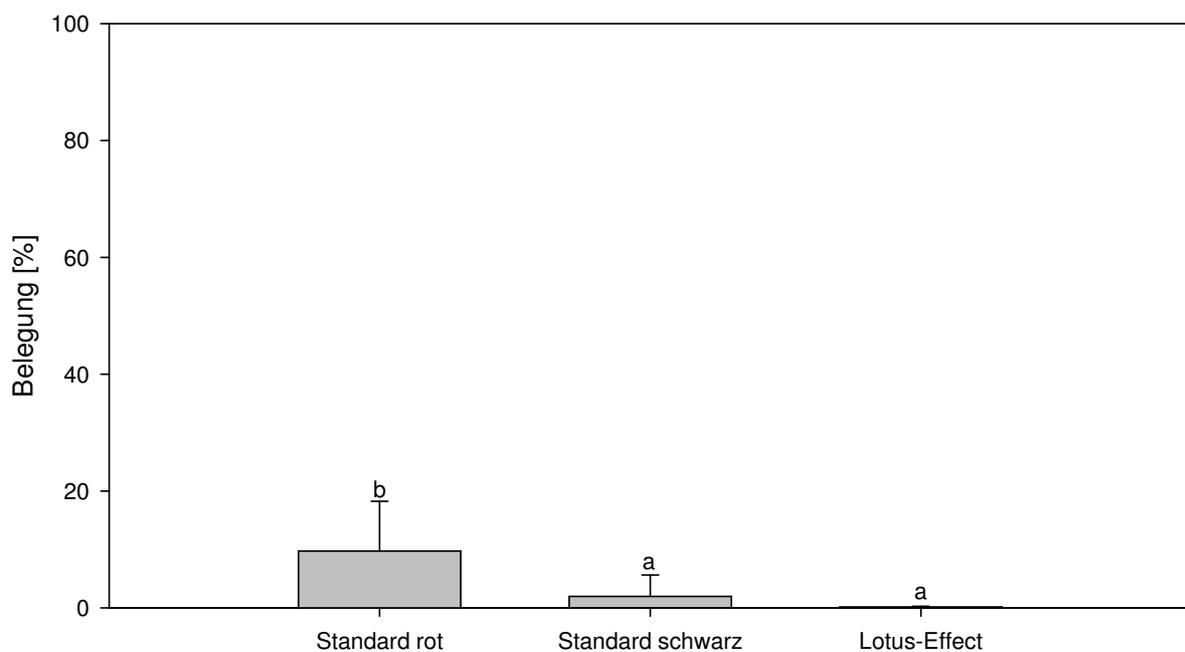
Bei den Dachziegelproben schwanken die Kontaktwinkel zwischen  $0^\circ$  bei der nicht funktionalen schwarzen Probe und über  $140^\circ$  bei der superhydrophoben

selbstreinigenden Probe. Auffällig ist auch, dass zwischen den beiden Standardproben deutliche Diskrepanzen im Kontaktwinkel bestehen.

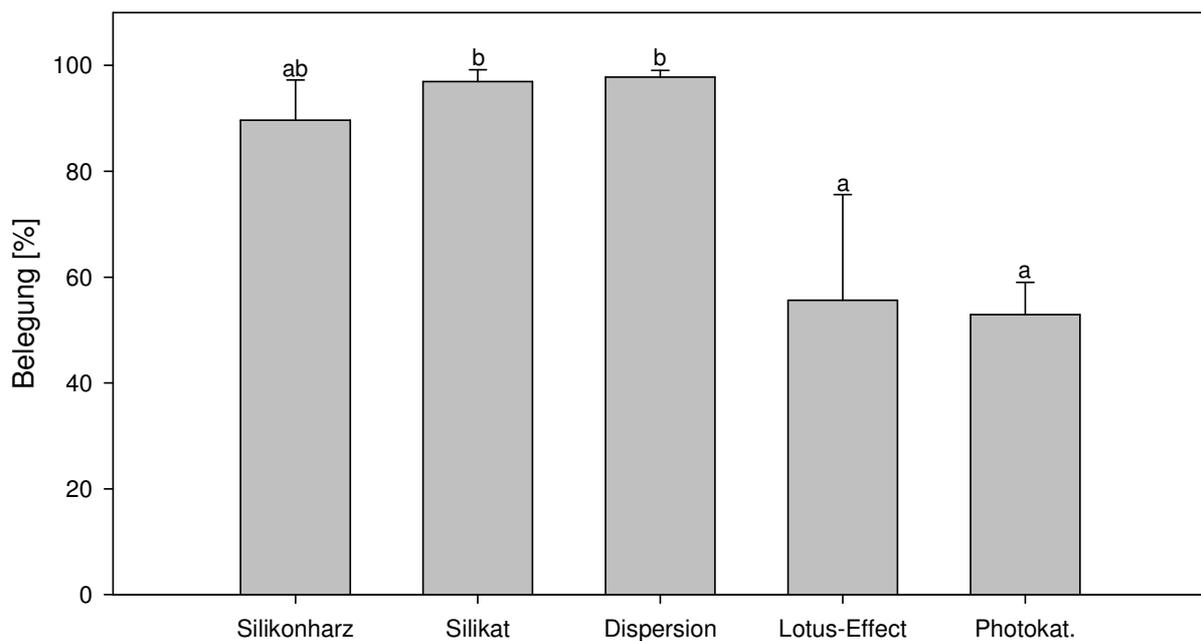
Zwischen den Fassadenfarbproben sind die Schwankungen deutlich geringer. Hier liegen sie zwischen 116° bei der Dispersionsfarbprobe und 140° bei der superhydrophoben selbstreinigenden Probe.

Den höchsten Kontaktwinkel zeigte, sowohl bei den Dachziegeln, als auch bei den Fassadenfarben, jeweils die superhydrophobe selbstreinigende Probe. Der Unterschied zu den anderen Proben war bei den Fassadenfarben allerdings nur tendenziell.

#### 1. TEILVERSUCH: Nassinokulation *Penicillium chrysogenum*



**Abbildung 27:** Prozentuale Belegung von Dachziegelproben mit *Penicillium chrysogenum* nach 10 Wochen Versuchsdauer. Dargestellt sind Mittelwerte aus fünf Parallelen mit Standardabweichung. Bei Übereinstimmungen von Buchstaben sind Unterschiede nicht signifikant ( $P > 0,05$ ).

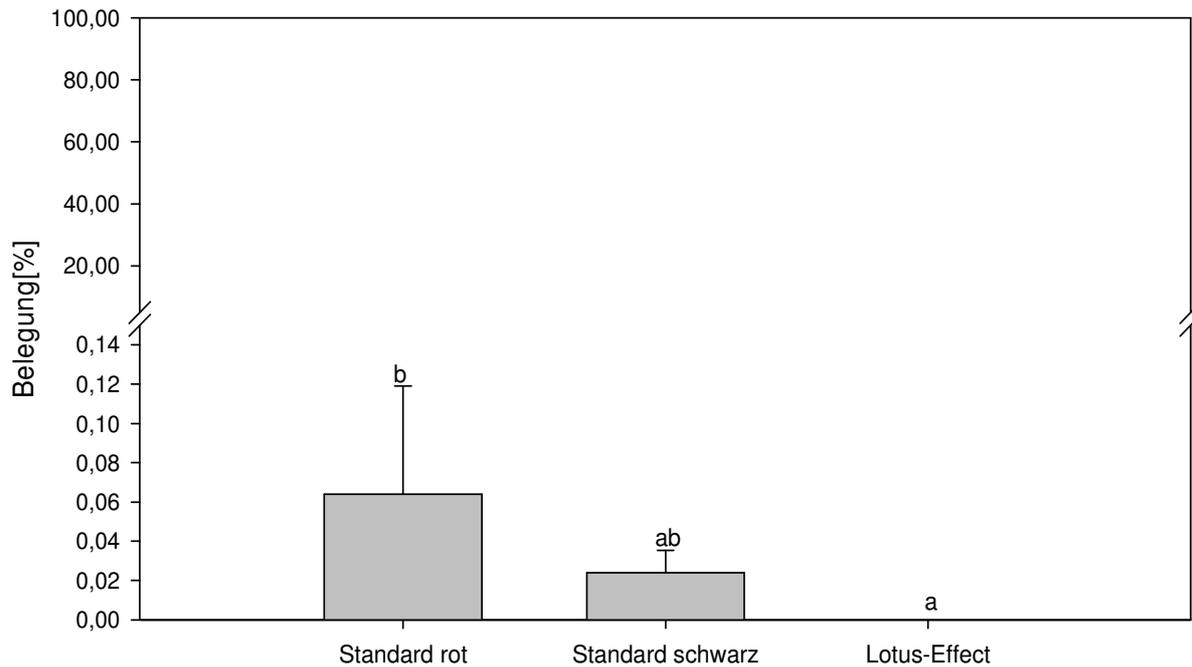


**Abbildung 28:** Prozentuale Belegung von Fassadenfarbenproben mit *Penicillium chrysogenum* nach 10 Wochen Versuchsdauer. Dargestellt sind Mittelwerte aus fünf Parallelen mit Standardabweichung. Bei Übereinstimmungen von Buchstaben sind Unterschiede nicht signifikant ( $P > 0,05$ ).

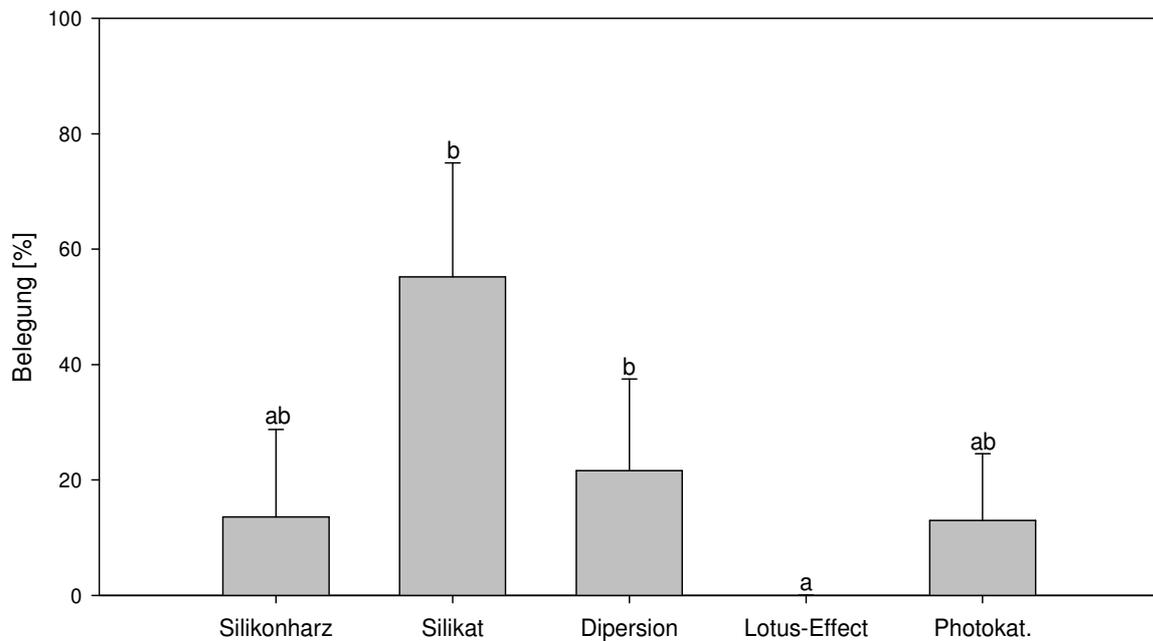
Die Dachziegelproben zeigen deutliche, zum Teil signifikante, Unterschiede im Bewuchs, abhängig von deren Oberfläche (Abbildung 27). Der superhydrophobe selbstreinigende Dachziegel zeigt signifikant weniger Bewuchs als eine Variante der unbeschichteten Dachziegel (Standard rot). Im Vergleich zur zweiten Variante (Standard schwarz) ist zwar ein tendenziell niedrigerer Bewuchs zu erkennen, der jedoch nicht signifikant ist. Auch zwischen den beiden nicht funktionalen Proben zeigen sich signifikante Unterschiede im Bewuchs.

Das Ergebnis bei den Fassadenfarben erscheint zunächst sehr homogen (Abbildung 28). Die Bewuchsunterschiede sind lediglich zwischen den beiden funktionalen Proben und den Proben der Silikat- und der Dispersionsfarbe signifikant. Es zeigt sich jedoch im Allgemeinen die Tendenz, dass die funktionalen Oberflächen weniger stark bewachsen sind als die nicht funktionalen. Auffällig ist außerdem die hohe Streuung bei der superhydrophoben selbstreinigenden Probe.

## 2. TEILVERSUCH: Nassinokulation *Penicillium chrysogenum*, variiert



**Abbildung 29:** Prozentuale Belegung von Dachziegelproben mit *Penicillium chrysogenum* nach 12 Wochen Versuchsdauer. Dargestellt sind Mittelwerte aus fünf Parallelen mit Standardabweichung. Bei Übereinstimmungen von Buchstaben sind Unterschiede nicht signifikant ( $P > 0,05$ ).

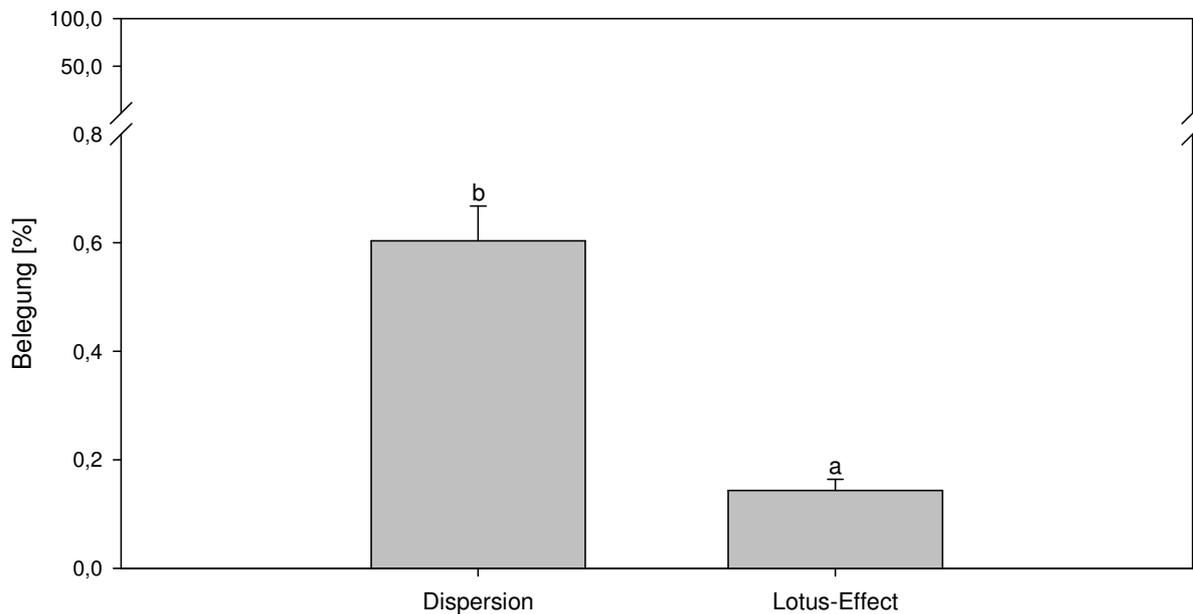


**Abbildung 30:** Prozentuale Belegung von Fassadenfarbenproben mit *Penicillium chrysogenum* nach 12 Wochen Versuchsdauer. Dargestellt sind Mittelwerte aus fünf Parallelen mit Standardabweichung. Bei Übereinstimmungen von Buchstaben sind Unterschiede nicht signifikant ( $P > 0,05$ ).

Obwohl es sich bei diesem Versuch um eine Wiederholung des ersten Versuchs handelt, unterschieden sich deren Ergebnisse erheblich. Sowohl bei den Dachziegel- als auch bei den Fassadenfarbenproben zeigte sich bei dieser Versuchsreihe ein deutlich geringerer Bewuchs als bei der vorhergehenden. Besonders drastisch fiel die Veränderung bei den Dachziegelproben aus (Abbildung 29). Hier lag der Mittelwert des Bewuchses aller Proben bei unter 0,1%. Damit lagen sie im durchschnittlichen Bewuchs auch deutlich unter den Werten der Fassadenfarbproben, die, bis auf die superhydrophobe selbstreinigende Probe, Mittelwerte des Bewuchses über 10% zeigten (Abbildung 30). Dieser unterschied sich jedoch nur von der signifikant. Die superhydrophobe selbstreinigende Probe zeigte den insgesamt geringsten Bewuchs, der sich, wie auch im vorangegangenen Versuchsteil von der nicht funktionalen Variante ‚Standard rot‘ signifikant unterschied.

Bei den Fassadenfarbenproben war in diesem Versuchsteil die superhydrophobe selbstreinigende Probe am wenigsten stark bewachsen. Signifikant niedriger war ihr Bewuchs, wie auch im vorhergehenden Versuchsteil, jedoch nur gegenüber Silikat- und Dispersionfarbprobe. Alle anderen Proben waren im Bewuchs nicht signifikant voneinander unterschiedlich. Hierin besteht ein weiterer Unterschied zum vorangegangenen Versuchsteil, denn in diesem war auch die photokatalytische Probe signifikant schwächer bewachsen als die Proben der Silikat- und der Dispersionfarbprobe.

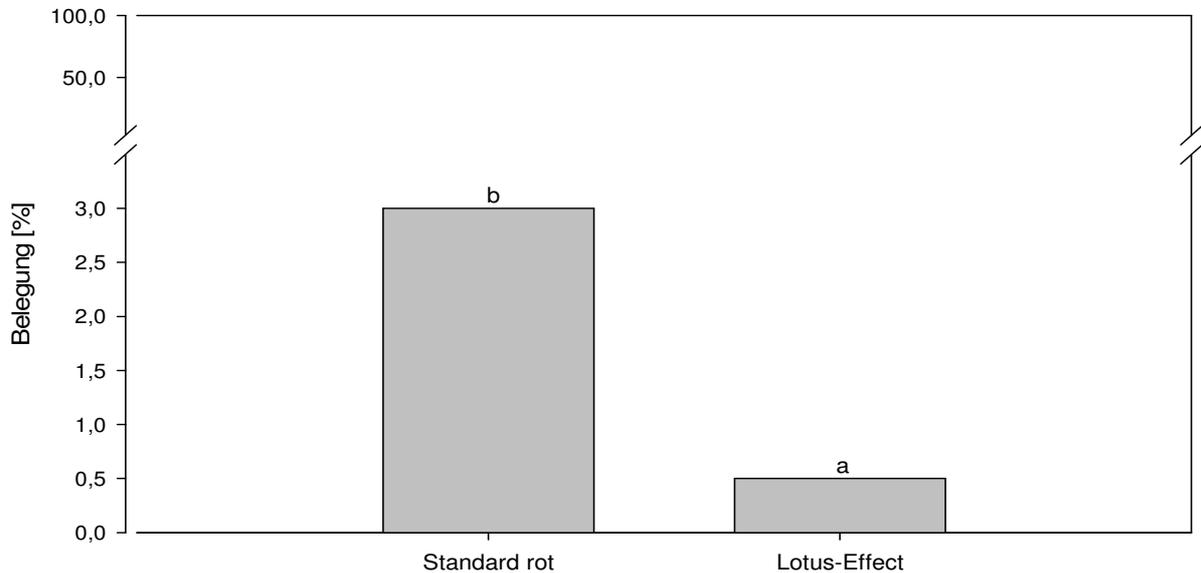
### 3. TEILVERSUCH: Trockeninokulation *Penicillium chrysogenum*



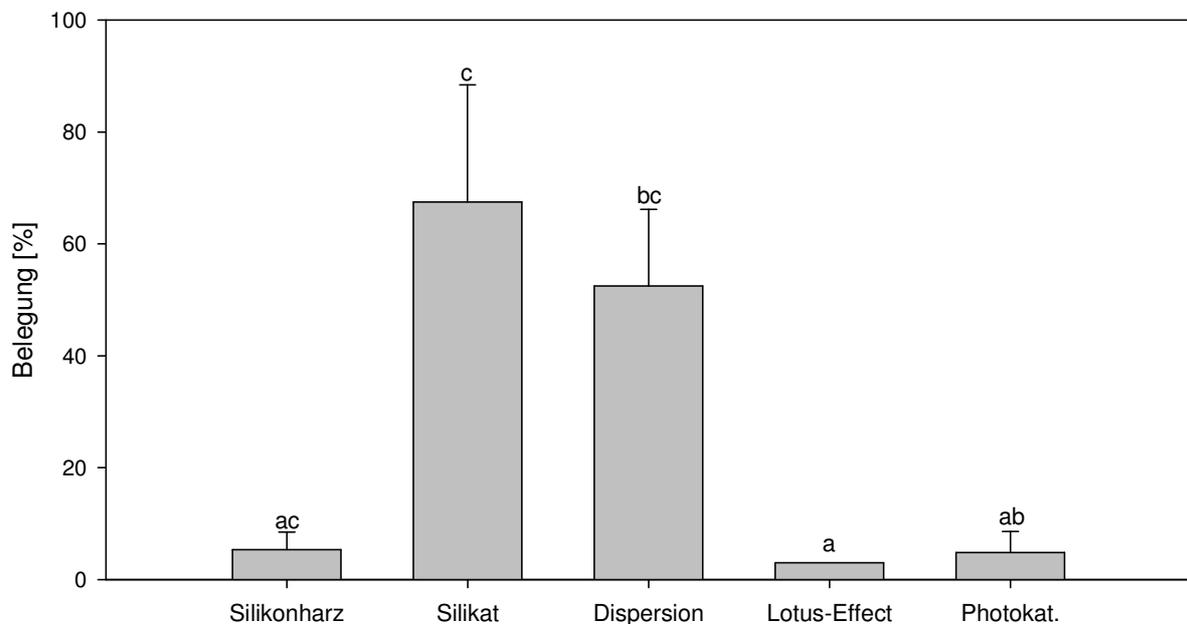
**Abbildung 31:** Prozentuale Belegung von Fassadenfarbenproben mit *Penicillium chrysogenum* nach 12 Wochen Versuchsdauer. Dargestellt sind Mittelwerte aus drei Parallelen mit Standardabweichung. Bei Übereinstimmungen von Buchstaben sind Unterschiede nicht signifikant ( $P > 0,05$ ).

Bei diesem Versuch (Abbildung 31) lag der mittlere Bewuchs der beiden Fassadenprobentypen deutlich unter dem der vorhergehenden Versuche. Mit einem Mittelwert des Bewuchses von ca. 0,6% bei der Dispersionsfarbprobe lag dieser Wert um das 33-fache niedriger als im 2. Durchlauf der Nassinokulation mit *Penicillium chrysogenum* und sogar um das 160-fache niedriger als im ersten Durchlauf dieses Versuchs. Des Weiteren ist zu erkennen, dass der Bewuchs der superhydrophoben selbstreinigenden Probe signifikant niedriger ist als der der Dispersionsfarbprobe.

#### 4. TEILVERSUCH: Nassinokulation von *Cladosporium cladosporioides*



**Abbildung 32:** Prozentuale Belegung von Dachziegelproben mit *Cladosporium cladosporioides* nach 8 Wochen Versuchsdauer. Dargestellt sind Mittelwerte aus fünf Parallelen mit Standardabweichung. Bei Übereinstimmungen von Buchstaben sind Unterschiede nicht signifikant ( $P > 0,05$ ).



**Abbildung 33:** Prozentuale Belegung von Fassadenfarbenproben mit *Cladosporium cladosporioides* nach 8 Wochen Versuchsdauer. Dargestellt sind Mittelwerte aus fünf Parallelen mit Standardabweichung. Bei Übereinstimmungen von Buchstaben sind Unterschiede nicht signifikant ( $P > 0,05$ ).

Ebenso wie bei Teilversuch 2 liegt auch in diesem Versuch der mittlere Bewuchs der Dachziegelproben deutlich niedriger als der der Fassadenfarbproben, jedoch nicht ganz so niedrig wie in Teilversuch 2.

Bei den Dachziegelproben (Abbildung 32) ergibt sich ein signifikant niedrigerer Bewuchs der superhydrophoben selbstreinigenden Probe gegenüber der nichtfunktionalen Probe.

Bei den Fassadenfarbproben ist eine deutliche Tendenz zu geringerem Bewuchs der funktionalen gegenüber der nicht funktionalen Proben zu erkennen. So ist der Bewuchs der superhydrophoben selbstreinigenden Probe gegenüber der Dispersions- und der Silikatfarbprobe signifikant geringer, jedoch nicht gegenüber der Silikonharzfarbprobe. Die photokatalytisch aktive Probe zeigt lediglich gegenüber der Silikatfarbprobe einen signifikant geringeren Bewuchs. Zwischen den beiden Typen der funktionalen Oberflächen gibt es keine signifikanten Bewuchsunterschiede.

## 4.2.5 Diskussion

### OPTIMALE PARAMETER UND METHODEN FÜR EIN LABORTESTVERFAHREN

#### Applikationsmethode

Als Applikationsmethode der Wahl stellte sich die Nassinokulation heraus. Denn obwohl die sonstigen Parameter beibehalten wurden, war das Pilzwachstum auf den Proben im 3. Teilversuch, bei dem die Trockeninokulation verwendet wurde, deutlich geringer. Möglicherweise spielt hier die Verfügbarkeit von tropfbarem Wasser bei der Sporenkeimung eine Rolle, die bei der Trockeninokulation nicht gegeben ist.

#### Umweltparameter

Die Temperatur sollte auf das jeweilige Wachstumsoptimum des verwendeten Mikroorganismus eingestellt werden. Für *Penicillium chrysogenum* liegt dieses Optimum zwischen 23 und 25 °C (DEACON, 2006).

Die Luftfeuchtigkeit in diesem Testverfahren war mit 100% ideal für das Wachstum des Pilzes, denn wie bereits unter Punkt 1.1.2 erläutert, liegt im Allgemeinen die ideale Luftfeuchte für das Pilzwachstum zwischen 90 und 100%.

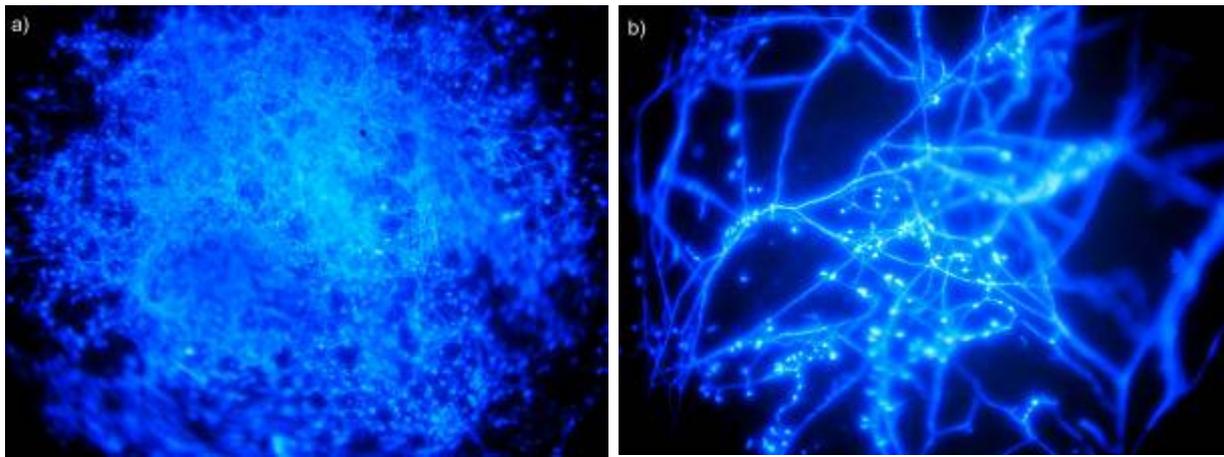
Beleuchtungsstärke und UV-Intensität sind für das Pilzwachstum relativ irrelevant (DEACON, 2006). Sie sollte deshalb hauptsächlich auf die Funktionalität der verwendeten Oberflächen ausgerichtet werden. Wie sich herausstellte, lag die hier verwendete UV-Intensität zwischen 10 und 200  $\mu\text{W}/\text{cm}^2$  an der Untergrenze für eine effektive Photokatalyse. Bei zukünftigen Untersuchungen sollten dementsprechend UV-Intensitäten gewählt werden, die den Bedingungen in der Natur, wo an einem sonnigen Tag bis zu einigen  $\text{mW}/\text{cm}^2$  auftreten können, nahe kommen (JEANMOUQUIN und CIVATTE, 1987).

#### Auswertungsmethoden

Ein grundsätzliches Problem bei der Durchführung aller Versuche war die quantitative Auswertung des Pilzbewuchses auf den Oberflächen. Alle hier verwendeten Nachweismethoden wiesen Stärken und Schwächen auf, die ihre

Anwendung in unterschiedlichen Bereichen des Nachweises von Pilzwuchs auf Oberflächen sinnvoll erscheinen lassen.

Die Färbung mit Calcofluor ist ein weit verbreitetes und seit langem bekanntes Verfahren um Pilzbewuchs sichtbar zu machen (BERNER und PETERSEN, 1992; ERIKSSON DE REZENDE *et al.*, 2003; MAEDA und ISHIDA, 1967; ROHRINGER *et al.*, 1977). Der Vorteil dieser Methode ist, dass Bewuchs sichtbar gemacht werden kann, der mit bloßem Auge nicht zu sehen ist, was auch durch stichprobenartige Kontrolle der Proben mittels Fluoreszenzmikroskopie nachgewiesen wurde (Abbildung 34).



**Abbildung 34:** Fluoreszenzmikroskopische Aufnahme calcofluorgefärbten Pilzmyzels.  
a) Übersichtsaufnahme, b) Detail

Es gibt jedoch zwei entscheidende Nachteile des Verfahrens: 1. Werden stark melanisierte Pilzbestandteile schlecht gefärbt, d. h. es kann vorkommen, dass nicht der gesamte Bewuchs einer Oberfläche analysiert wird. 2. Calcofluor beeinträchtigt die Zellwandsynthese von Pilzen, was ihr Wachstum beeinflussen kann (RONCERO und DURAN, 1985). Daher eignet sich diese Methode nur bedingt, um den Ablauf des Bewuchses auf einer Oberfläche zu dokumentieren. 3. Calcofluor färbt viele  $\beta$ -1,4-verknüpfte Kohlenhydrate, wie z. B. auch Zellulose. Deshalb ist eine Unterscheidung zwischen dem Bewuchs durch unterschiedliche Mikroorganismen kaum möglich.

Der Vorteil der Methode des Scannens mit der anschließenden Auswertung der Flächenbelegung in ScionImage ist, dass sie nicht invasiv ist, also auch während laufender Untersuchungen zur Darstellung des Bewuchsverlaufes verwendet werden kann. Auch sie wies jedoch große Schwächen auf. So war es für die Software, wie oben erwähnt, oft schwierig, zwischen dunkleren Stellen auf der Probe und

Pilzbewuchs zu unterscheiden, wodurch es zu Fehlanalysen kommen kann. Außerdem eignet sich diese Methode nur für helle Proben. Auf dunkleren Proben ist die Unterscheidung zum Pilzbewuchs kaum noch möglich.

Als die praktikabelste Methode erwies ich sich die der Bonitur. Diese Methode hat sich bereits bei anderen Untersuchungen zum mikrobiellen Bewuchs von Baustoffen bewährt (HOFBAUER *et al.*, 2003). Sie ist zwar nicht so genau wie die Analyse mit Calcofluorfärbung, ist jedoch nicht invasiv, unabhängig von Probenoberfläche und Mikroorganismenart, schnell und auch an Gebäuden ohne Probenentnahme durchzuführen. Des Weiteren ist eine Unterscheidung zwischen dem Bewuchs durch unterschiedliche Mikroorganismen möglich.

#### KONTAKTWINKELMESSUNGEN

Die Kontaktwinkelmessungen der Proben ergeben für die superhydrophoben selbstreinigenden Proben Werte von  $140^\circ$  und darüber, was laut Definition die Bedingung superhydrophober Oberflächen ist (NUN *et al.*, 2002). Diese Werte sind jedoch nicht gegenüber allen nicht funktionalen Oberflächen signifikant höher. Insbesondere bei den Fassadenfarben erreichen die Proben der Silikat und der Silikonharzfarbe mit Mittelwerten von  $134^\circ$  bzw.  $133^\circ$  ähnlich hohe Werte, was für eine starke Hydrophobie dieser Farben spricht. Außerdem wird vom Hersteller der superhydrophoben selbstreinigenden Farbe stets darauf hingewiesen, dass sich die superhydrophoben Eigenschaften nach einiger Zeit der Bewitterung verstärken. Dies deutet darauf hin, dass sich bei den hier verwendeten Proben der Effekt bei vorheriger Bewitterung noch ausgeprägter gewesen wäre.

Das Ergebnis der Kontaktwinkelmessung an der photokatalytischen Fassadenfarbprobe zeigt einen mittleren Kontaktwinkel von ca.  $120^\circ$ . Aus der Literatur ist bekannt, dass photokatalytische Oberflächen, die längere Zeit in Dunkelheit gelagert werden, durchaus Kontaktwinkel  $>90^\circ$  zeigen können (siehe auch Kapitel 1.3.1) (TAKAGI *et al.*, 2001). Bei erneuter Bestrahlung mit UV-Licht sinkt dieser auf nahe  $0^\circ$ . Eine mögliche Erklärung für den hohen Kontaktwinkel der photokatalytischen Probe ist also, dass die Kontaktwinkelmessung der Probe direkt nach Entnahme aus dem Lager erfolgte, sie also nicht dem Sonnenlicht ausgesetzt war.

## BEWUCHSUNTERSCHIEDE ZWISCHEN VERSCHIEDENEN BAUSTOFFEN

### Allgemeine Wachstumsunterschiede

Bei den meisten Untersuchungen in der Klimakammer ergaben sich Unterschiede im Bewuchs zwischen den einzelnen Proben. Diese waren z. T. signifikant, jedoch häufig, aufgrund der z. T. starken Streuung innerhalb der Parallelen einer Probenart, nicht. Diese starken Streuungen innerhalb der Parallelen können entweder in tatsächlichen Unterschieden in der Stärke des Bewuchses, aber möglicherweise auch durch die unzureichende Präzision der Auswertungsmethode begründet sein.

Weiterhin auffällig ist, dass der durchschnittliche Bewuchs aller Proben im 1. Teilversuch, am höchsten war. Bei allen anderen Versuchen lag der Bewuchs, besonders bei den Dachziegelproben, deutlich darunter. Dies kann unterschiedliche Ursachen haben.

Die Unterschiede in den Umweltbedingungen zwischen 1. und 2. Teilversuch waren ein Faktor. Wie in Kapitel 4.1.3 beschrieben, wurde die Temperatur in der Klimakammer von 20°C im ersten Durchlauf auf 15°C im 2. Durchlauf gesenkt. Dies war erforderlich, da zur gleichen Zeit in derselben Klimakammer Untersuchungen an Algen durchgeführt wurden, deren Temperaturoptimum in diesem Bereich liegt. *Penicillium chrysogenum* ist zwar ein psychrotropher Pilz der bis hinab zu Temperaturen um 4°C Wachstum zeigt, dieses ist jedoch deutlich verlangsamt gegenüber dem Temperaturoptimum für das Wachstum von 23-25°C (DEACON, 2006; SAUTOUR *et al.*, 2001a). So konnten SAUTOUR *et al.* (2001b) zeigen, dass sich, bei sonst gleichen Umweltbedingungen, die Sporenkeimungsrate von *Penicillium chrysogenum* bei einer Temperaturerhöhung von 15 auf 25°C im Durchschnitt mehr als verfünffacht. Hinzu kommt, dass bei Durchlauf 2 die UV-Intensität gegenüber Durchlauf 1 um das Zwanzigfache erhöht wurde. Obwohl im Allgemeinen der Einfluss von UV-Licht auf das Wachstum von Pilzen eher gering ist, lediglich Pigmentierung und Sporulation werden stimuliert (DEACON, 2006), konnten PANCOTT *et al.* (2003) zeigen, dass sich der Anteil von *Penicillium chrysogenum* an einer Saprobiontengesellschaft bei reduzierter UV-B-Strahlungsintensität gegenüber dem bei natürlichen UV-B-Bedingungen signifikant erhöht hat.

Der signifikant geringere Bewuchs der Fassadenfarbproben beim 3. Teilversuch lässt sich möglicherweise durch zwei geänderte Faktoren erklären. Durch die

Trockeninokulation fiel eine Beregnung der Oberflächen weg, da die Sporen nicht suspendiert in Wasser auf die Oberflächen kamen, sondern in Pulverform. Dies hat eine Auswirkung auf die Verfügbarkeit von tropfbarem Wasser auf den Oberflächen. Wie oben bereits erläutert, ist für Pilze jedoch eine hohe Luftfeuchte von über 90%, die in diesen Versuchen stets bei über 98% lag, für das Pilzwachstum ideal, tropfbares Wasser ist nicht notwendig. Deshalb dürfte dies für das Pilzwachstum keine Rolle gespielt haben. Da sämtliche sonstige Umweltbedingungen sich nicht von denen im 2. Teilversuch unterschieden, bleibt nur die geänderte Auswertungsmethode als Erklärung für das abweichende Ergebnis. Der grundsätzliche Unterschied zwischen den beiden Auswertungsmethoden ‚Calcofluorfärbung+ScionImage‘ und ‚Scans+ScionImage‘ liegt darin, dass durch die Färbung mit Calcofluor Bewuchs sichtbar gemacht wird, der mit bloßem Auge nicht sichtbar ist, der deshalb auch durch die Methode ‚Scans + ScionImage‘ nicht erfasst wird. Hinzu kommt, dass bei dieser Methode der oben erwähnte Schattenwurf durch Unebenheiten auf der Probe oder die zu große Helligkeit des Scans zum Tragen kommt. Die Methode wurde geändert, da sich im 2. Teilversuch bereits herausstellte, dass es durch die erhöhte UV-Intensität zu einer vermehrten Melanisierung der Zellwände der Pilzhyphen kam, was schon DEACON (2006) beschreibt. Calcofluor white bindet an  $\beta$ -1,4-verknüpfte Kohlenhydrate, z. B. das Chitin der Pilzzellwand (MAEDA und ISHIDA, 1967). Die Melanisierung der Zellwände führt möglicherweise dazu, dass die Bindungsstellen des Calcofluor whites durch das Melanin maskiert werden, was zu einer schwächeren Färbung führt (BUTT, 1987). Deshalb wurde in Teilversuch 3 zu Auswertungsmethode ‚Scans + ScionImage‘ gegriffen. Obwohl dadurch der Anteil des auszuwertenden Bewuchses geringer wurde, so schien es doch realitätsnäher, da in der Praxis, an Baustoffoberflächen auch nur der sichtbare Bewuchs bewertet wird.

### Superhydrophobe selbstreinigende Proben

Weiterhin auffällig ist, dass die superhydrophoben selbstreinigenden Oberflächen in allen Versuchen zumindest tendenziell weniger bewachsen waren als die nicht funktionalen Proben. Signifikant niedriger war Bewuchs jedoch nur bei den Fassadenfarbproben des 3. Teilversuchs und den Dachziegelproben des 4. Teilversuchs. Diese Tendenz spiegelt das wider, was nach den theoretischen

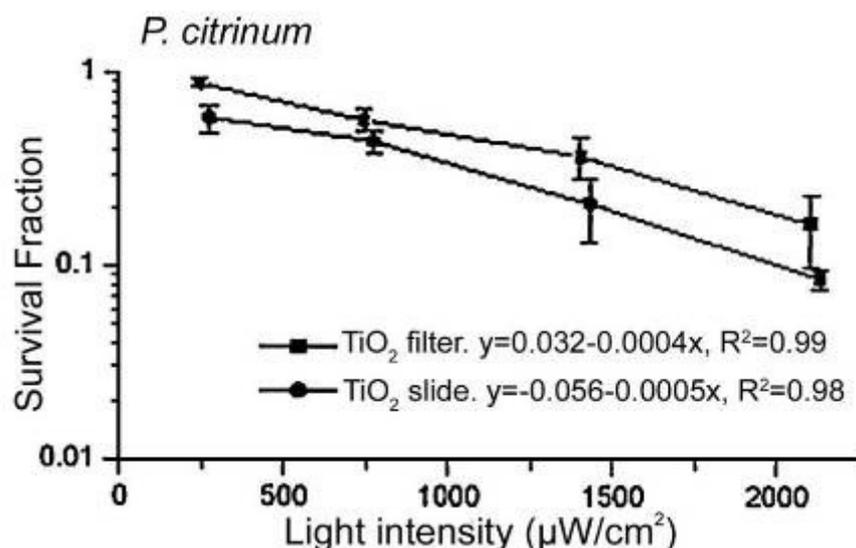
Überlegungen zu erwarten war. Leider gibt es bisher keine Untersuchungen in denen der mikrobielle Bewuchs superhydrophober Oberflächen mit glatten Oberflächen in Laboruntersuchungen verglichen wird. Lediglich die Untersuchungen von FÜRSTNER *et al.* (2005) und NEINHUIS und BARTHLOTT (1998) zeigen vergleichende Ergebnisse bezüglich der Reinigung von superhydrophoben und glatten Oberflächen durch Wasser. Besonders FÜRSTNER *et al.* (2005) konnten zeigen, dass superhydrophobe Oberflächen bereits durch Nebelung deutlich effektiver gereinigt werden können, als glatte. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen sind für die vorliegende Arbeit insofern von Bedeutung, als Pilzsporen nichts anderes als biologische Partikel sind. Es ist deshalb davon auszugehen, dass bereits bei der Nassinokulation der Proben auf den superhydrophoben Oberflächen deutlich weniger Sporen haften bleiben als auf den anderen, was auch durch hier nicht erwähnte Vorversuche bestätigt werden konnte. Durch diese verringerte Anzahl der Sporen auf der Oberfläche ist auch mit einem geringeren Bewuchs der Oberfläche zu rechnen, was durch die hier vorgestellten Ergebnisse bestätigt wird.

Da die Ergebnisse nicht immer signifikant unterschiedlich waren, kann zum einen an der relativ niedrigen Parallelenzahl von 5 liegen. Durch eine Erhöhung dieser Anzahl hätte ein deutlicheres Ergebnis erzielt werden können. Dies hätte jedoch zu einer Vervielfachung der Probenzahl geführt, die aus Platz- und Personalgründen nicht zu bewältigen gewesen wäre. Zum anderen wurden keine Kontrollproben in die Untersuchungen einbezogen, die nicht mit Pilzsporen beimpft wurden und deren Bewuchs von den Ergebnissen hätte abgezogen werden können, um etwaige Kontaminationen der Proben durch Pilzsporen aus der Umgebungsluft auszuschließen. Dies hätte jedoch ebenfalls die Menge der Proben vervielfacht, was, wie oben erwähnt, zeitlich und räumlich nicht zu bewältigen gewesen wäre.

#### Photokatalytische Proben

Die photokatalytischen Proben waren bei allen Versuchen nicht signifikant schwächer bewachsen als die nicht funktionalen Proben. Insgesamt lag der Bewuchs jedoch zumindest tendenziell niedriger als bei den nicht funktionalen Proben, mit Ausnahme der Silikonharzfarbe. Dies widerspricht den Ergebnissen bisheriger Untersuchungen bezüglich der Fähigkeit photokatalytischer Oberflächen das

Mikroorganismenwachstum effektiv zu reduzieren. So konnten unter anderem MATSUNAGA *et al.* (1985) und WEI *et al.* (1994) eindeutig nachweisen, dass Mikroorganismen auf photokatalytischen Oberflächen unter UV-Bestrahlung abgetötet werden. Dass sich dies kaum in den hier vorgestellten Ergebnissen widerspiegelt, könnte an der unzureichenden Intensität der UV-Beleuchtung der Proben liegen. Beim 1. und 3. Teilversuch lag sie bei  $10\mu\text{W}/\text{cm}^2$ , bei den anderen Versuchen bei  $200\mu\text{W}/\text{cm}^2$ . LIN und LI (2003) konnten zeigen, dass die Bestrahlung des Pilzes *Penicillium citrinum* auf einer photokatalytischen Oberfläche mit einer UV-Intensität von  $240\mu\text{W}/\text{cm}^2$  nahezu keinen Einfluss auf dessen Überlebensrate hat (Abbildung 35).



**Abbildung 35:** Überlebensrate von *P. citrinum* auf TiO<sub>2</sub> Filterpapier und Objektträger bei einer UV-Bestrahlung unterschiedlicher Intensität. Verändert nach LIN und LI (2003)

Die UV-Intensität der Baustoffoberflächen im Freiland in unseren Breiten ausgesetzt sind reicht von einigen hundert  $\mu\text{W}/\text{cm}^2$  im Schatten (HASHIMOTO *et al.*, 2005) bis zu einigen  $\text{mW}/\text{cm}^2$  in der Mittagszeit in der Sonne (JEANMOUQUIN und CIVATTE, 1987). Es kann deshalb davon ausgegangen werden, dass die Photokatalyserate, die mit zunehmender UV-Intensität exponentiell zunimmt (LIN und LI, 2003), nicht ausreichend war um einen signifikanten Einfluss auf den Bewuchs der Proben zu haben. Gleichzeitig war der Eintrag an organischem Material (Pilzsporen) relativ hoch. Wie schon HASHIMOTO *et al.* (2005) beschreiben, ist die Menge an organischem Material, das durch Photokatalyse abgebaut werden kann, begrenzt.

Dies verstärkt den Faktor der niedrigen UV-Intensität, was dazu führt, dass die auf die Proben aufgetragenen Pilzsporen nicht effektiv abgebaut werden konnten, so dass der Bewuchs der Proben nicht signifikant vermindert wurde.

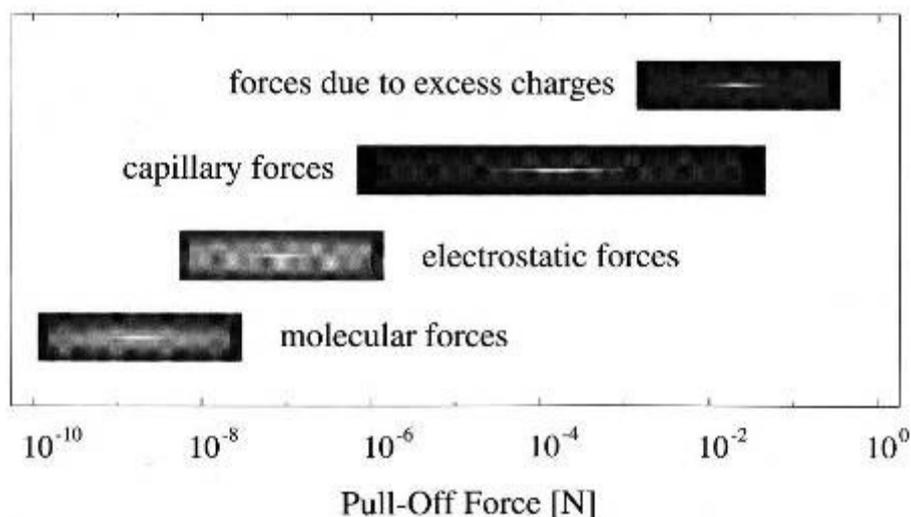
#### Nicht funktionale Fassadenproben

Auffällig war, dass innerhalb der nicht funktionalen Fassadenfarbproben die Silikonharzfarbe tendenziell am wenigsten bewachsen ist. Das kann auf die starke Hydrophobie dieser Farbtypen zurückgeführt werden (KÜNZEL und FITZ, 2006), die dazu führt, dass die dem Pilz für das Wachstum zur Verfügung stehende Feuchtigkeit reduziert ist. Ihr fehlt jedoch die mikrostrukturierte Oberfläche, die für die selbstreinigenden Eigenschaften verantwortlich ist, was ein Grund für den tendenziell etwas stärkeren Bewuchs im Vergleich zur superhydrophoben selbstreinigenden Fassadenfarbe sein kann.

## 4.3 Adhäsionskräfte von Pilzsporen und technischen Partikeln auf pflanzlichen und technischen Oberflächen

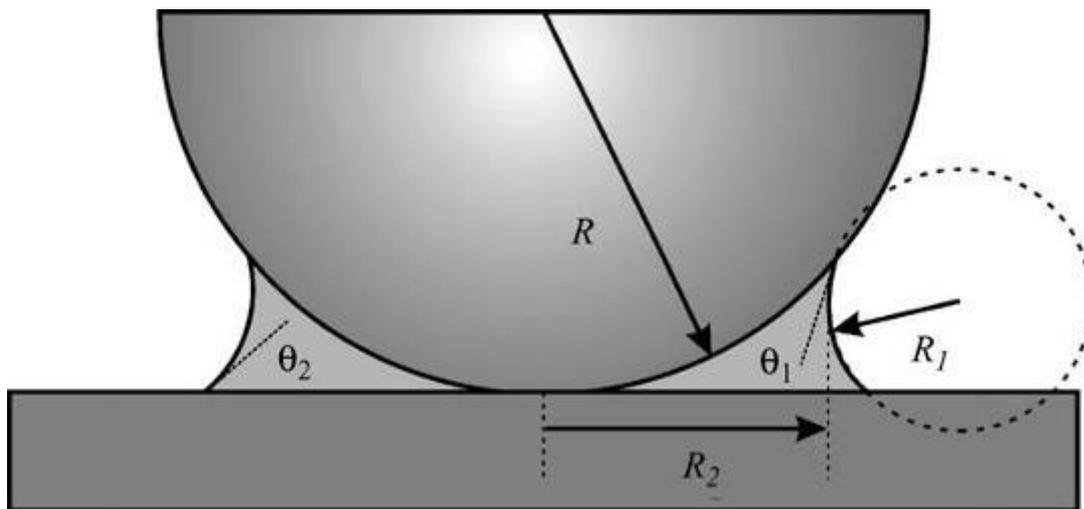
### 4.3.1 Einleitung

Wenn Partikel, gleich welcher Natur, auf eine Oberfläche gelangen, so finden Wechselwirkungen zwischen Partikel und Oberfläche statt. Falls die Partikel im Größenbereich von Millimetern oder darüber liegen, sind Gravitation und Massenträgheit die maßgeblichen Kräfte für diese Wechselwirkungen. Darunter dominieren Adhäsionskräfte (SAVIA *et al.*, 2004). Hierunter versteht man die Kraft, die man benötigt, um diesen Partikel wieder von der Oberfläche zu entfernen. Diese Kraft ist keine einzelne Kraft, sondern setzt sich aus verschiedenen Kräften zusammen. Die wichtigsten hierbei sind die Kapillarkräfte, elektrostatische Anziehungskräfte (Coulomb-Anziehung unterschiedlicher Überschussladungen, elektrostatische Doppelschichtkraft) und molekulare Wechselwirkungen (van-der-Waals-Kräfte, Dipol-Dipol-Wechselwirkungen und Wasserstoffbrückenbindungen) (KNAPP *et al.*, 1998). Diese Kräfte ihrerseits besitzen eine unterschiedliche Stärke (Abbildung 36). Auch in ihrer Reichweite unterscheiden sie sich. Um in den Einflussbereich molekularer Wechselwirkungen zu kommen, müssen sich zwei Oberflächen auf unter 10 nm annähern. Kapillarkräfte wirken in einem Bereich von 10 – 200 nm und elektrostatische Kräfte von 100 nm – 1  $\mu\text{m}$  (SCHERGE und GORB, 2001).



**Abbildung 36:** Stärke der an der Adhäsion beteiligten Kräfte. Aus SCHERGE und GORB (2001)

Die dominierende Kraft bei der Messung an Luft unter normalen Bedingungen ist die Kapillarkraft. Auf Partikel und Probenoberfläche können, bedingt durch die Luftfeuchtigkeit, einige Moleküllagen eines Wasserfilms kondensieren, die aufgrund der Oberflächenspannung des Wassers bestrebt sind, eine möglichst geringe Oberfläche auszubilden. Berühren sich die beiden Wasserfilme, so bildet sich ein Meniskus mit einer möglichst minimalen Oberfläche aus, was zu einer Anziehung zwischen Spitze und Probenoberfläche führt (Abbildung 37).



**Abbildung 37:** Schematische Darstellung des Wassermeniskus zwischen einer Kugel mit dem Radius  $R$  und einer Ebene.  $R_1$  und  $R_2$  sind die zwei Haupttradii der Krümmung des Meniskus.  $\theta_1$  und  $\theta_2$  sind die Kontaktwinkel von Wasser auf der Kugel bzw. der Ebene. Aus BUTT *et al.* (2005)

Deren Stärke hängt grundsätzlich von den Oberflächenspannungen von Probe, Spitze und Flüssigkeit sowie dem Spitzenradius, der Luftfeuchtigkeit und der Dicke des Wasserfilms ab (JANSHOFF *et al.*, 2000). Berechnen lässt sich ihre Stärke nach der Formel von O'BRIEN und HERMANN (1963):

$$F_{\text{cap}} = 2\pi R\gamma(\cos\theta_1 + \cos\theta_2)$$

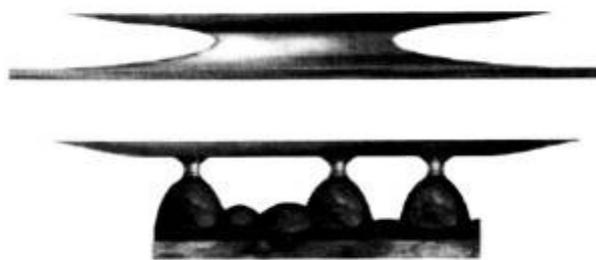
$R$  = Radius der Kugel

$\gamma$  = Oberflächenspannung des Wassers

$\theta_1$  = Kontaktwinkel von Wasser auf der Kugel

$\theta_2$  = Kontaktwinkel von Wasser auf der Oberfläche

Die Stärke der Adhäsionskraft hängt neben diesen Eigenschaften von der Oberflächenrauigkeit von Partikel und Oberfläche ab. SCHERGE und GORB (2001) konnten anhand von Messungen auf glatten und strukturierten Siliziumoberflächen ( $R_a=7$  nm) zeigen, dass die Adhäsionskraft auf der rauen Oberfläche nahe 0 lag, während sie bei der glatten Oberfläche ca. 400 – 500  $\mu$ N betrug. Dies lässt sich durch zwei konkurrierende Mechanismen erklären. Einerseits bilden sich zwischen einer rauen Oberfläche und einem Partikel mehrere Subkontakte mit Menisken aus (Abbildung 38). Das führt dazu, dass die Kapillarkraft sich erhöht (SCHERGE und GORB, 2001).



contact with a flat  
surface,  $r_2 \gg r_1$

contact with a rough  
surface,  $r_2 \approx r_1$

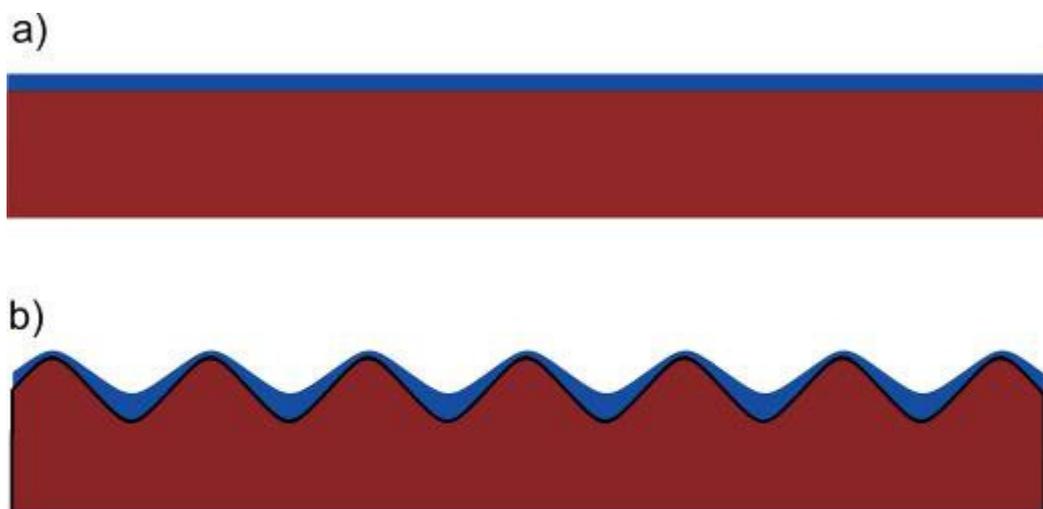
**Abbildung 38:** Kontakt einer Kugel mit einer glatten und einer rauen Oberfläche. Aus SCHERGE und GORB (2001)

Andererseits führt die Strukturierung der Oberfläche zu einer ungleichmäßigen Verteilung des Wasserfilms. Aufgrund der Minimierung der Oberflächenspannung, ist er in den Vertiefungen der Struktur dicker als auf den Erhebungen. Das heißt umgekehrt, dass die Filmdicke auf den Erhebungen geringer ist als auf einer glatten Oberfläche (Abbildung 39). Dadurch reduziert sich die benetzte Fläche des Messpartikels und damit die Kapillarkraft.

Die Veränderung der Kapillarkraft hängt maßgeblich von der Größe und der Verteilung der Strukturen auf der Oberfläche ab. Wenn die Größe der Strukturen im Vergleich zur Kontaktfläche klein ist, steigt die Kraft mit zunehmender Rauheit. Im umgekehrten Fall wird sie schwächer (SCHERGE und GORB, 2001).

Eine zweite Kraft, die die Adhäsion bei der Messung an Luft maßgeblich beeinflussen kann, ist die so genannte Coulomb-Kraft. Sie tritt zwischen unterschiedlich geladenen Teilchen auf und kann in ihrer Stärke die Kapillarkraft

sogar übersteigen (Abbildung 36). Ihre Reichweite beträgt bei der Größe der hier verwendeten Partikel 1-5  $\mu\text{m}$  und liegt damit noch weit über der Reichweite der Kapillarkräfte (JONES *et al.*, 2002). Die Stärke dieser Kraft hängt maßgeblich von der relativen Luftfeuchte ab, da diese den elektrischen Widerstand der beteiligten Materialien beeinflusst. Steigt die Luftfeuchte, so wird Wasser an den Oberflächen adsorbiert, wodurch deren elektrischer Widerstand sinkt, dadurch wird auch die Coulomb-Kraft schwächer. Gleichzeitig verstärkt eine höhere Luftfeuchte die Kapillarkraft. Diese erlangt bereits ab einer rel. H. von 20% Einfluss auf die Adhäsion. Ab einer rel. H. von 70% herrschen die Kapillarkräfte vor (HALIM und BARRINGER, 2007).



**Abbildung 39:** Schematische Darstellung der Verteilung eines molekularen Wasserfilms auf einer a) glatten und einer b) mikro- bis nanostrukturierten Oberfläche.

All diese erwähnten Faktoren spielen auch bei der Adhäsion von Pilzsporen eine Rolle, da diese im physiko-chemischen Sinne nichts anderes als Partikel sind. Der Adhäsionsprozess bei Pilzsporen wird jedoch häufig als ein Zweistufenvorgang gesehen (KENNEDY, 1988). Der erste Schritt entspricht der oben beschriebenen Adhäsion, die als schwach, nicht spezifisch und reversibel bezeichnet wird. Im zweiten Schritt findet eine irreversible zeitabhängige Adhäsion statt. Diese beruht entweder auf spezifischen Ligand-Rezeptor Bindungen oder einer Haftung durch die Sezernierung von EPS (TUCKER und TALBOT, 2001).

Die Sporen des in dieser Untersuchung verwendeten Pilzes *Pyricularia oryzae* zeigen eine Besonderheit, um ihre Adhäsion zu verbessern. Sie sezernieren einen

organischen Schleim, den so genannten Sporenspitzen Schleim (spore tip mucilage (STM)), (HAMER *et al.*, 1988). Dieser Schleim enthält, zusätzlich zu Proteinen und Lipiden,  $\alpha$ -verknüpfte Mannosyl und Glykosylreste und wird, unabhängig von einem Kontakt der Spore zu einer Oberfläche, aus einem periplasmatischen Speicher in der Sporensitze freigesetzt, wenn die Spore hydratisiert wird (TUCKER und TALBOT, 2001).

Die Adhäsion von pathogenen Pilzsporen auf einer Pflanzenoberfläche ist der erste Schritt in der Entwicklung einer Pflanzenkrankheit. Wenn man die Möglichkeit einer Pilzspore, auf einer Pflanzenoberfläche zu haften, reduzieren könnte, so hätte dies enorme wirtschaftliche Konsequenzen. Der Schaden durch Pflanzenkrankheiten an Kulturpflanzen ist beträchtlich. So wurde für das Jahr 1993 geschätzt, dass durch Pflanzenkrankheiten fast 12% der weltweiten Ernte aller wichtigen landwirtschaftlich genutzten Pflanzen zerstört wurden. Davon ausgehend betrug der wirtschaftliche Schaden durch Pflanzenkrankheiten in den Jahren 1988-1990 weltweit ca. 85 Mrd. \$ (AGRIOS, 1997).

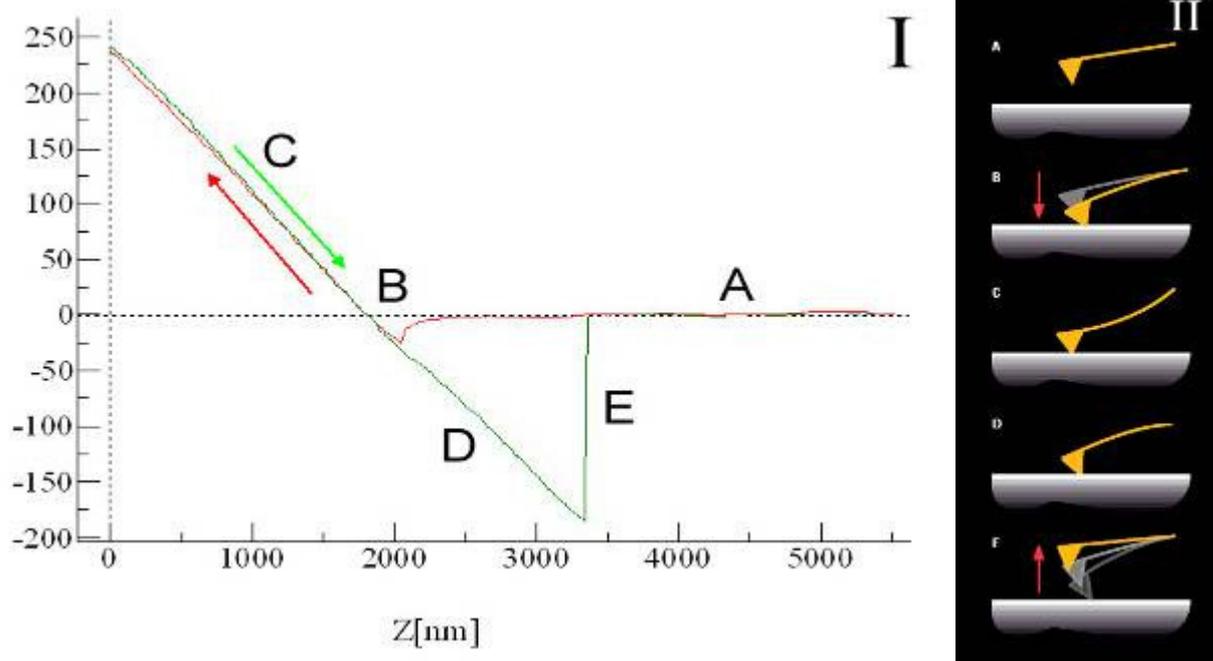
Der in dieser Untersuchung verwendete Pilz *Pyricularia oryzae*, der bei Reis die auch Blattbrand genannte Pyriculariose hervorruft, führte bereits bei einigen weltweiten Epidemien zu einem Verlust von 50-90% der erwarteten Ernte (AGRIOS, 1997).

Die andere in dieser Untersuchung verwendete Pilzart, *Alternaria alternata*, ruft bei der Zuckerrübe (*Beta vulgaris* subsp. *vulgaris*) die Alternaria-Blattbräune hervor. Diese Krankheit führt nicht zu solch massiven Ernteaussfällen, da in erster Linie Blätter befallen werden, die bereits durch andere Ursachen wie Virusinfektionen, Trockenheit oder Nährstoffmangel geschädigt sind. Die Zuckerrübe kann zwar durch verstärkte Blattneubildung den Blattverlust weitgehend ausgleichen, der Neuaufbau des Blattapparates und die damit einhergehende Mobilisierung der Reservezucker im Rübenkörper, führt jedoch zu einer Minderung des Zuckergehaltes und damit zu finanziellen Einbußen (MOLDENHAUER, 2005).

### Adhäsionskraftmessung

Eine besondere Anwendung des Rasterkraftmikroskops (Atomic Force Microscope = AFM) ist die Kraftmessung. Hierbei wird die Probenoberfläche nicht abgebildet, sondern es werden die Kräfte gemessen, die zwischen der Spitze des Cantilevers,

bzw. dem dort befestigten Partikel, und der Probe wirken (PRATER *et al.*, 1995). Dafür wird der Cantilever aus einer ausreichend großen Entfernung, in der noch keine Wechselwirkungen zwischen Probe und Cantilever vorliegen, an die Probe herangeführt, bis er diese berührt und anschließend wieder von der Oberfläche zurückgezogen, bis die Ausgangsposition erreicht ist. Durch die auf diesem Weg auf den Cantilever wirkenden Kräfte, wird dieser ausgelenkt. Diese Auslenkung wird im Verhältnis zur Position des Cantilevers in einer so genannten Kraft-Weg-Kurve dargestellt.



**Abbildung 40:** Idealisierte Kraft-Weg-Kurve (I) mit den charakteristischen Abschnitten. A) „Non-contact“-Region, B) „jump to contact“, C) Kontakt, D) Adhäsion, E) „pulloff“. Dazugehörige Auslenkungen des Cantilevers (II). II verändert nach PRATER *et al.* (1995)

Eine solche Kurve lässt sich in verschiedene Bereiche unterteilen (Abbildung 40). Im Bereich A wird der Cantilever an die Oberfläche angenähert, ist jedoch noch so weit von ihr entfernt, dass die wirkenden Kräfte nicht ausreichen, um den Cantilever auszulenken. Im Punkt B hat sich der Cantilever der Oberfläche so weit angenähert, dass die anziehenden Kräfte, an Luft hauptsächlich die Kapillarkraft (s. o.), so stark sind, dass der Cantilever in Kontakt mit der Oberfläche gezogen wird. Die bezeichnet man als ‚jump-to-contact‘. Im Bereich D befindet sich der Cantilever in Kontakt mit

der Oberfläche. In diesem Bereich verstärkt sich die Auslenkung, da der fixierte Teil des Cantilevers weiter an die Oberfläche angenähert wird. Nach Beendigung des Annäherungsvorgangs wird der Cantilever wieder zurückgezogen. Hierbei bleibt er, zunächst durch seine eigene Federkraft, an der Probenoberfläche. Darüber hinaus kann er, wie in Punkt D zu sehen, auch weiter an der Oberfläche haften bleiben. Diese Haftung kommt durch die Adhäsionskräfte zwischen Oberfläche und Spitze zustande. Beim weiteren Zurückfahren wird der Cantilever durch diese Kräfte in Richtung der Probe ausgelenkt. Bei einem gewissen Punkt (E) übersteigen die Federkräfte des Cantilevers die Adhäsionskräfte und er springt von der Oberfläche in die Ausgangsposition zurück. Dies bezeichnet man als ‚pulloff‘ (PRATER *et al.*, 1995).

Falls die Federkonstante bekannt ist, kann man aus der maximalen Auslenkung des Cantilevers im Punkt D mit Hilfe des Hook'schen Gesetzes die Stärke der Adhäsionskraft berechnen (s. u.).

#### **4.3.2 Ziele**

Im Rahmen der vorliegenden Untersuchung sollten folgende Fragen geklärt werden:

1. Haben Struktur und Chemie einer Oberfläche einen Einfluss auf die Adhäsion von Sporen oder technischen Partikeln auf ihnen?
2. Spielt die Hydrophobie des Partikels für seine Haftung eine Rolle?
3. Haften die Sporen phytopathogener Pilze auf der Blattoberfläche ihrer Wirtspflanze stärker als auf anderen Oberflächen?

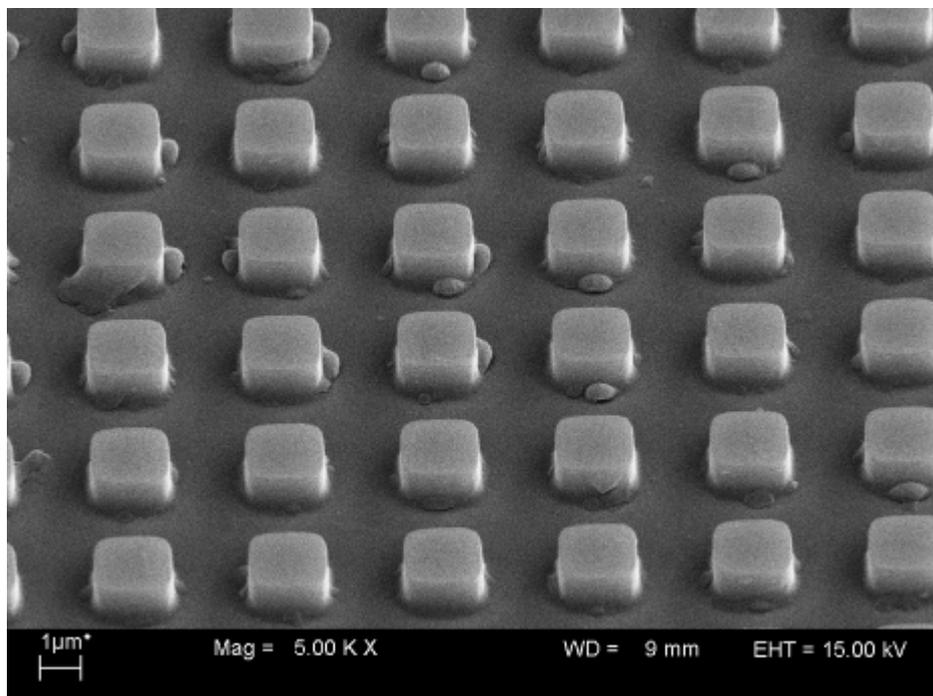
#### **4.3.3 Material und Methoden**

##### KONTAKTWINKELMESSUNG

Die Kontaktwinkel der unterschiedlichen Proben wurden, wie in Kapitel 3.2.2 beschrieben, bestimmt.

### Technische Oberflächen

Als technische Oberflächen wurden zwei unterschiedlich modifizierte Siliziumwafer verwendet, zum einen ein polierter Siliziumwafer (MaTeck GmbH, Jülich) und zum anderen ein strukturierter Wafer (Fraunhofer Institut für Siliziumtechnologie, Itzehoe). Dieser besaß durch Ätzung eine quaderförmige Strukturierung, bei der die Quader eine Breite und Tiefe von  $2\mu\text{m}$ , eine Höhe von  $1\mu\text{m}$  hatten und  $2\mu\text{m}$  voneinander entfernt waren (Abbildung 41).



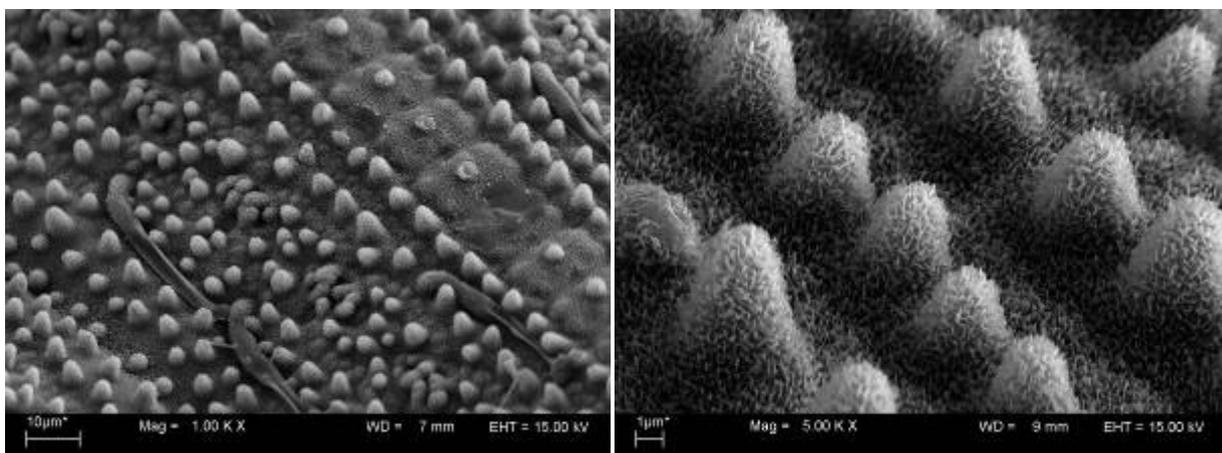
**Abbildung 41:** REM-Aufnahme einer geätzten Siliziumoberfläche

Beide Wafertypen wurden für die Untersuchung in ca.  $5 \times 5$  mm große Stücke geschnitten. Die Stücke wurden zunächst für 10 min in 99,9%igem Ethanol (AppliChem GmbH, Darmstadt) und nach einer fünfminütigen Trocknungszeit bei Raumtemperatur für weitere 10 min in 99,5%igem Trichlormethan (Chloroform) (AppliChem GmbH, Darmstadt) unter leichtem Schwenken gereinigt und anschließend erneut für 5 min bei Raumtemperatur getrocknet. Von den je zwei Stücken des strukturierten und des glatten Wafers wurde je eins mit dem Epilamierungsmittel Antispread F2/50 FK60 (Dr. Tillwisch GmbH Werner Steht,

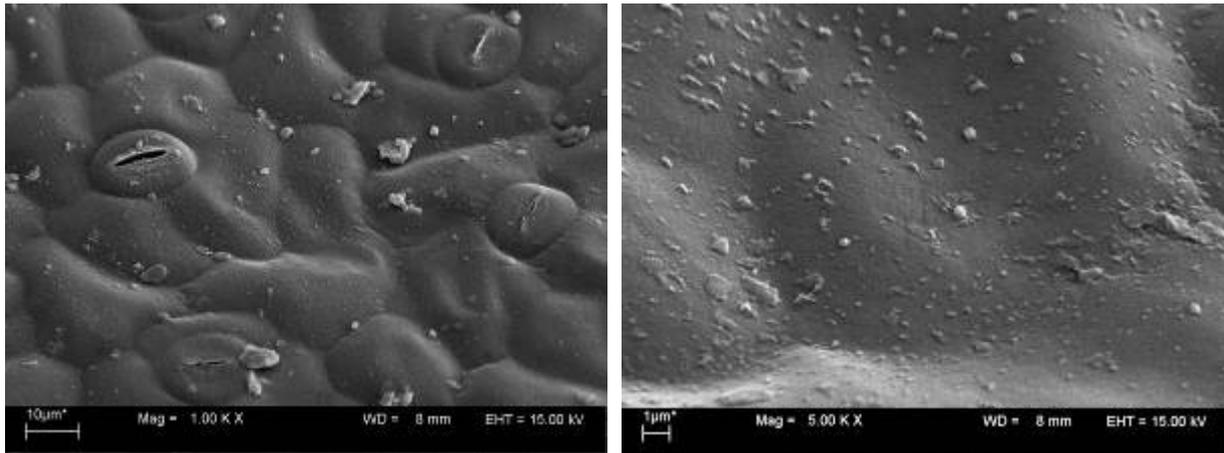
Horb-Ahldorf) beschichtet. Dafür wurden die Siliziumstücke für 20 Sekunden in das Mittel eingelegt und anschließend für 5 min bei Raumtemperatur getrocknet. Das jeweils andere Stück des Siliziumwafers wurde nicht weiter behandelt. Zur Messung im AFM wurden die Waferstücke mittels Doppelklebeband (tesa® Doppelband, tesa AG, Hamburg) auf Metall-AFM-Probentellern (Ted Pella Inc, Redding, USA) befestigt.

### Pflanzliche Oberflächen

Als pflanzliche Oberflächen wurden Blätter mit und ohne Struktur ausgewählt. Als strukturierte Oberfläche wurde die Oberseite der Blätter von Reis (*Oryza sativa*) verwendet. Diese zeigen sowohl Strukturen im Bereich einiger Mikrometer durch Zellpapillen, als auch Tertiärstrukturen im Nanometerbereich, die durch Wachsschuppen gebildet werden (Abbildung 42). Die Blattoberseite der Zuckerrübe (*Beta vulgaris* subsp. *vulgaris*) (Abbildung 43) ist hingegen kaum strukturiert. Lediglich die Antiklinalwände sind etwas eingesenkt. Die in Abbildung 43 zu sehenden partikelartigen Strukturen sind Verschmutzungen, da die Pflanze im Freiland angezogen wurde. Diese Oberflächen wurden als Frischproben für die Adhäsionskraftmessungen verwendet. Für die Untersuchung wurde ein ca. 5x5 mm großes Stück aus dem Blatt herausgeschnitten, welches, zur Vermeidung von Lufteinschlüssen unter dem Blattstück mit Zweikomponentenkleber (UHU® Schnellfest, UHU GmbH & Co KG, Bühl) auf einem AFM-Probenteller befestigt wurde.



**Abbildung 42:** REM-Aufnahme der Blattoberseite von Reis (*Oryza sativa*). Links: Übersicht bei 1000-facher Vergrößerung, rechts Detailaufnahme (Vergrößerung 5000-fach).



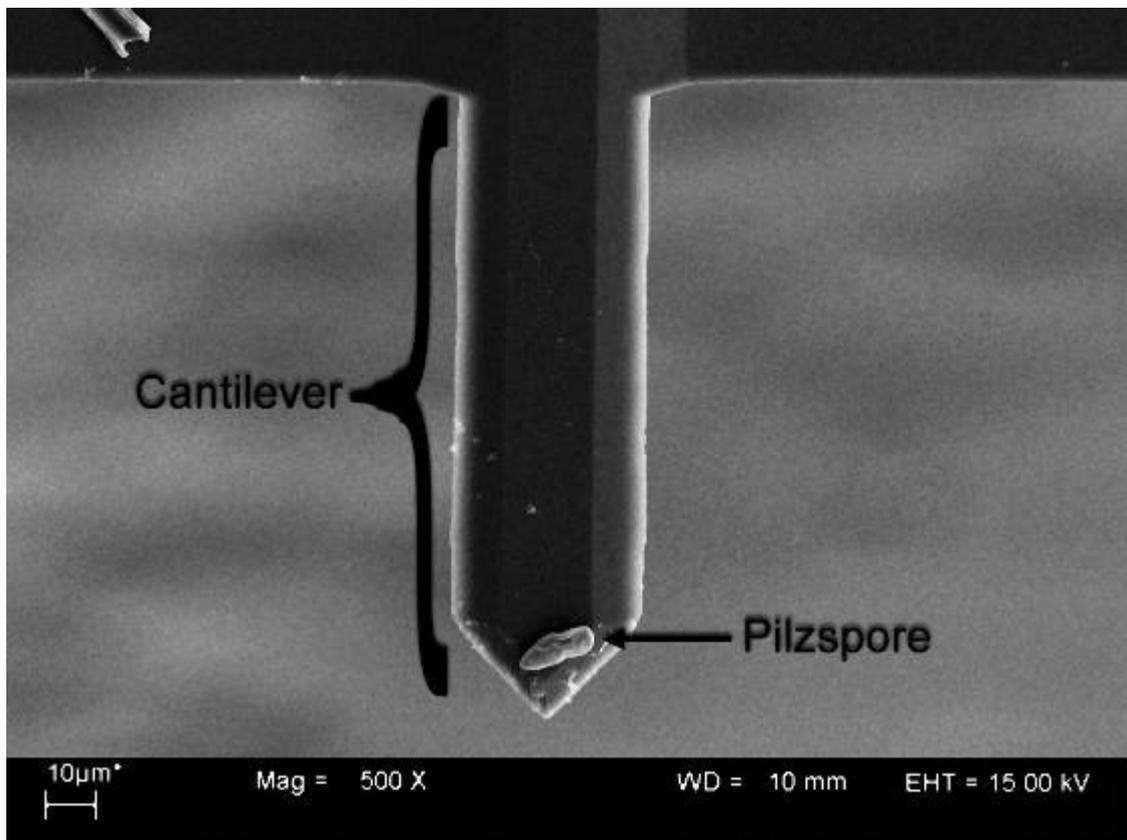
**Abbildung 43:** REM-Aufnahme der Blattoberseite der Zuckerrübe (*Beta vulgaris* subsp. *vulgaris*). Links: Übersicht bei 1000-facher Vergrößerung, rechts Detailaufnahme (Vergrößerung 5000-fach).

#### VERWENDETE SPOREN UND DEREN PRÄPARATION

Als biologische Partikel wurden für die Messung Sporen von zwei Pilzarten verwendet, die als Phytopathogene von großer Bedeutung sind: *Alternaria alternata* und *Pyricularia oryzae*. Beide Arten wurden von der Deutschen Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH, Braunschweig bezogen. *Alternaria alternata* wurde als vakuumgetrocknete Kultur (DSM Nr. 62006) verschickt, die auf sterilen V-8 Juice Agar überimpft und bei 25°C bebrütet wurde. *Pyricularia oryzae* wurde als lebende Kultur auf Agar (DSM Nr. 1597) versandt und wurde auf Haferflockenmedium überimpft und ebenfalls bei 25°C bebrütet.

Für die Adhäsionskraftmessung wurden einige Sporen mit einer Impföse vorsichtig von der Agarplatte geschabt und in einem Tropfen Aqua. Dest. auf einem Objektträger suspendiert. Auf selbigen Objektträger wurde ein Tipless-AFM-Cantilever mit der Unterseite nach oben mit doppelseitigem Klebeband so befestigt, dass seine Spitze über den Rand des Objektträgers hinausragte. Anschließend wurde der Objektträger so unter einem inversen Mikroskop (Zeiss Axiovert 10, Carl Zeiss AG, Oberkochen) platziert, dass die Sporensuspension im Fokus lag. Auf die Spitze des AFM-Cantilevers wurden die Sporen mittels Mikromanipulator (TransferMan NK2, Eppendorf AG, Hamburg) übertragen. Hierzu wurde die Spitze einer Mikrokapillare (VacuTip, Eppendorf AG, Hamburg) in die Sporensuspension getaucht und so eine Spore herangeführt, dass diese haften blieb. Diese Spore wurde auf die Spitze des auf den Objektträger geklebten AFM-Cantilevers

übertragen und dort abgestreift. Anschließend ließ man die Spore bei Raumtemperatur in einer geschlossenen, nicht zugeklebten Petrischale über Nacht auf dem Cantilever antrocknen (Abbildung 44). Die Kontrolle bezüglich der richtigen Positionierung der Spore auf dem Cantilever erfolgte vor der Adhäsionskraftmessung unter einem Lichtmikroskop.



**Abbildung 44:** REM-Aufnahme einer Spore von *Alternaria alternata* auf einem Siliziumcantilever

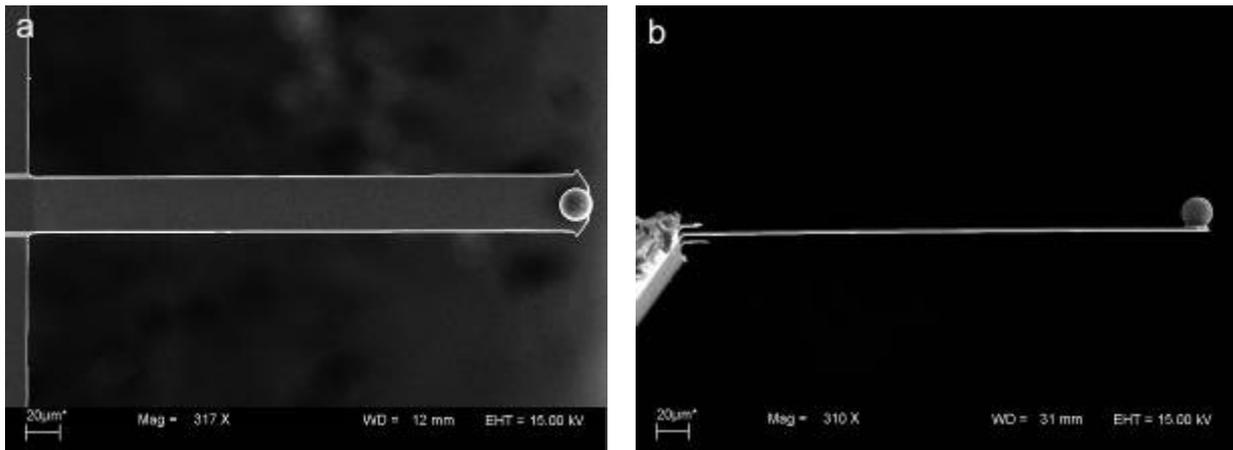
#### ADHÄSIONSKRAFTMESSUNGEN

Für die Adhäsionskraftmessungen im Rasterkraftmikroskop selbst wurden zwei verschiedene Typen von Siliziumcantilevern verwendet. Der erste war ein Tipless-Cantilever mit aufgeklebten Partikeln (Novascan, Ames, USA) mit einer Federkonstante von ca. 0,3 N/m. Die Partikel waren zum einen eine SiO<sub>2</sub>-Glaskugel und zum anderen eine Polystyrenkugel, beide mit einem Durchmesser von 20µm.

Der zweite war ein Tipless Cantilever (Typ TL-FM, Nanosensors, Neuchâtel, Schweiz), Federkonstante 3-4 N/m.

## Bestimmung der Federkonstante der Cantilever

Die genaue Federkonstante war lediglich bei den Cantilevern der Firma Nanosensors angegeben. Bei den Cantilevern der Firma Novascan erfolgte die genaue Bestimmung der Federkonstante anhand von rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen der Cantilever mit dem Rasterelektronenmikroskop LEO 1450 (Carl Zeiss AG, Oberkochen). Es wurden Aufnahmen senkrecht von oben auf den Cantilever und von der Seite gemacht (Abbildung 45).



**Abbildung 45:** REM-Aufnahme eines AFM-Cantilevers mit Polystyrenkugel. a) Aufsicht, b) Seitenansicht

Diese digitalen Aufnahmen wurden in die Software ScionImage (Scion Corporation, Frederick, USA) eingelesen. Mittels des in diesem Programm verfügbaren Messwerkzeugs konnte anhand der durch das REM ausgegebenen Skala Länge, Breite und Dicke des Cantilevers ermittelt werden. Durch diese Werte und das Elastizitätsmodul von Silizium ( $1,69 \cdot 10^{11} \text{ N/m}^2$ ) ließ sich anhand folgender Formel die Federkonstante des Cantilevers genau berechnen:

$$K_c = \frac{E \cdot t_c^3 \cdot w}{4 \cdot L^3}$$

$K_c$  = Federkonstante [N/m]

$E$  = Elastizitätsmodul (für Siliziumcantilever:  $1,69 \cdot 10^{11} \text{ N/m}^2$ )

$t_c$  = Dicke des Cantilevers [m]

$w$  = Breite des Cantilevers [m]

$L$  = Länge des Cantilevers [m]

Die berechneten, sowie die durch die Firma Nanosensors angegebenen Federkonstanten der verwendeten Cantilever sind Tabelle 18 zu entnehmen.

**Tabelle 18:** Auflistung der für die Adhäsionskraftmessungen verwendeten Cantilever mit Angabe der werksseitigen bzw. berechneten Federkonstanten, sowie der Untersuchungen für die sie verwendet wurden. *Pyr. ory.* = *Pyricularia oryzae*, *Alt. alt.* = *Alternaria alternata*

Partikel	Verwendet für Messungen auf folgenden Oberflächen	Breite [µm]	Länge [µm]	Dicke [µm]	Federkonstante [n/m]
Glas	Alle Messungen außer auf poliertem nicht hydrophobiertem Silizium und strukturiertem hydrophobiertem Silizium	34,49	330,72	2,1	0,37
	Poliertes nicht hydrophobiertes Silizium und strukturiertes hydrophobiertes Silizium	32,7	329	2,08	0,35
Poly-styren	Alle Messungen außer auf strukturiertem nicht hydrophobiertem Silizium	34,24	334,74	2,09	0,35
	Strukturiertes nicht hydrophobiertes Silizium	33	324,48	2,04	0,35
Spore <i>Alt. alt.</i>	Alle Siliziumoberflächen	-	-	-	3,7
	Blattoberfläche <i>Beta vulgaris</i> subsp. <i>vulgaris</i>	-	-	-	3,4
	Blattoberfläche <i>Oryza sativa</i>	-	-	-	3,2
Spore <i>Pyr. ory.</i>	Alle Messungen außer auf poliertem nicht hydrophobiertem Silizium und der Blattoberfläche von <i>Oryza sativa</i>	-	-	-	3,3
	Poliertes nicht hydrophobiertes Silizium	-	-	-	3,3
	Blattoberfläche <i>Oryza sativa</i>	-	-	-	3,9

## Adhäsionskraftmessung

Die Adhäsionskraftmessungen wurden mit einem Rasterkraftmikroskop (Digital Instruments Nanoscope IIIa, multimode AFM, Veeco Inc. Santa Barbara, USA), durchgeführt. Der Modus war der Force-measurement-mode mit einer Frequenz von 1 Hz. Der Abstand des Cantilevers zu Beginn der Messung so wie der Messbereich wurden für jede Messung neu eingestellt. Dadurch wurde gewährleistet, dass die gesamte Messung im Messbereich des Gerätes lag und dennoch die Skala ausreichend fein war, um die Auslenkung des Cantilevers genau bestimmen zu können. Der maximale Verfahrweg des Piezoaktuators des verwendeten Modells liegt bei 10 µm. Um eine möglichst gute Vergleichbarkeit der Werte zu erreichen, wurde die Messung auf den Oberflächen mehrfach wiederholt. Die Anzahl der Wiederholungen variierte zwischen 10 und 93 aufgrund von Schwierigkeiten der Messung auf manchen Oberflächen. Auch wurde, falls sich die Messwerte deutlich veränderten, die Stelle auf der Oberfläche gewechselt. Auf diese Weise wurde zudem vermieden, dass eventuell von den Pilzsporen auf der Probe zurückbleibendes Material die Messungen verfälscht.

Die dabei ermittelten Kraft-Weg-Kurven (Abbildung 40) wurden in die Bearbeitungssoftware WSxM (Nanotec Electronica S.L., Madrid, Spanien) geladen. Mit dieser Software lässt sich die genaue Strecke der Auslenkung des Cantilevers beim Zurückziehen von der Oberfläche bestimmen.

Diese Auslenkung ist bedingt durch die Adhäsion des Cantilevers an der Oberfläche. Je größer die Auslenkung, desto größer die Adhäsion. Die Adhäsionskraft wird mit Hilfe des Hooke'schen Gesetzes berechnet:

$$F = D \cdot s$$

F = Adhäsionskraft [N]

D = Federkonstante [N/m]

s = Auslenkung [m]

So wurden die Adhäsionskräfte aller Messungen ermittelt und die Daten, wie in Kapitel 3.2.4 beschrieben statistisch ausgewertet. Da sich selbst durch Datentransformation keine Homoskedastizität oder Normalverteilung herstellen ließ, wurde für die Varianzanalyse der nicht-parametrische Test Kruskal-Wallis-H verwendet (KÖHLER *et al.*, 2002). Der darauf folgende Post-Hoc-Test wurde bei

gleichem  $n$  mit dem Nemenyi- und bei unterschiedlichem  $n$  mit dem Dunn-Test durchgeführt. Hierfür wurde ein für MS-Excel geschriebenes Makro verwendet (© Edwin Martens, Zentrum für Biostatistik, Universität Utrecht, Niederlande).

### 4.3.4 Ergebnisse

#### KONTAKTWINKELMESSUNGEN

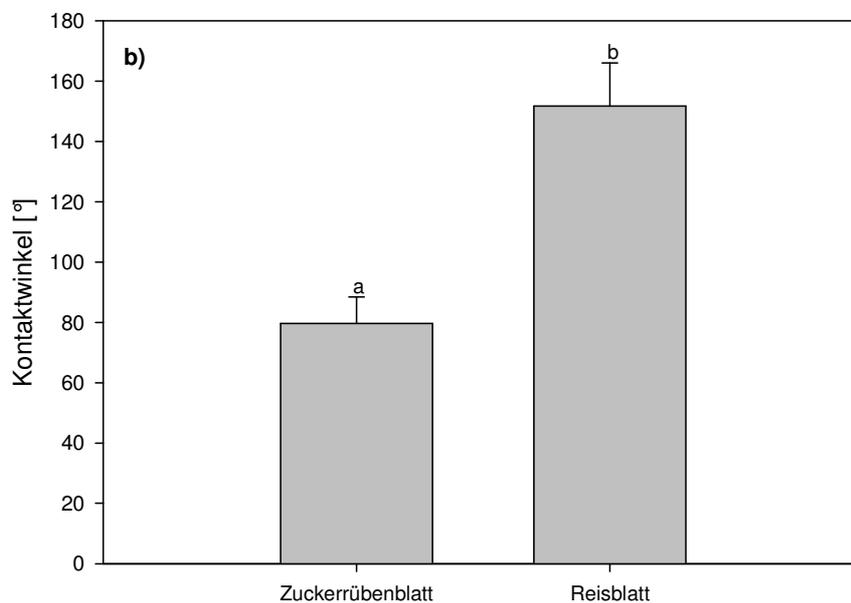
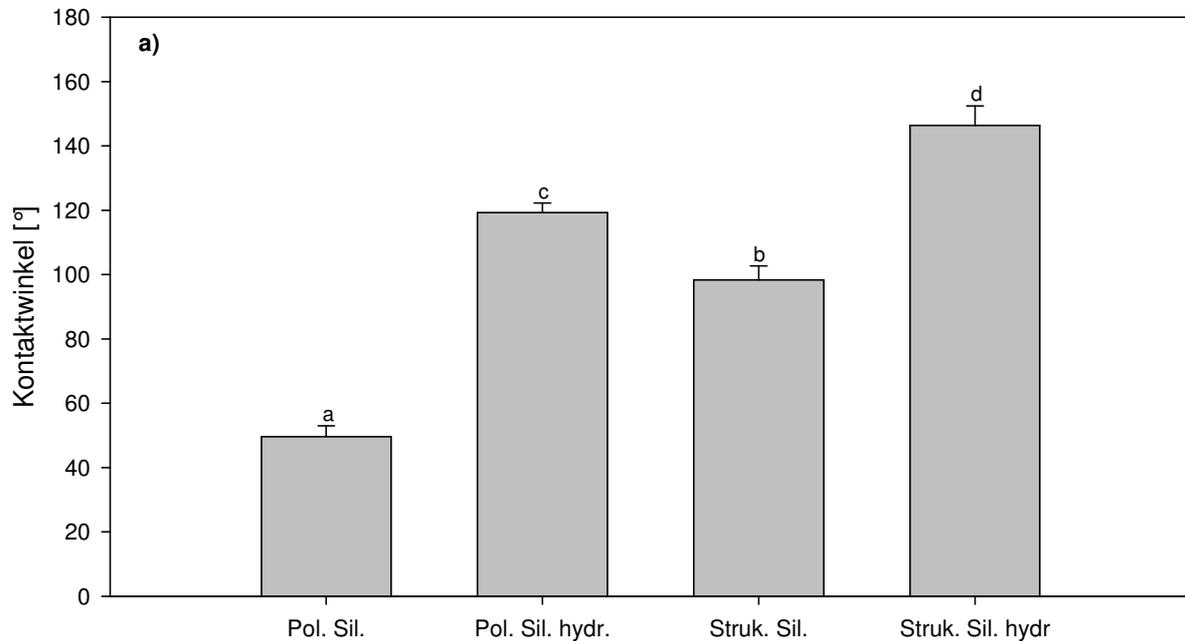
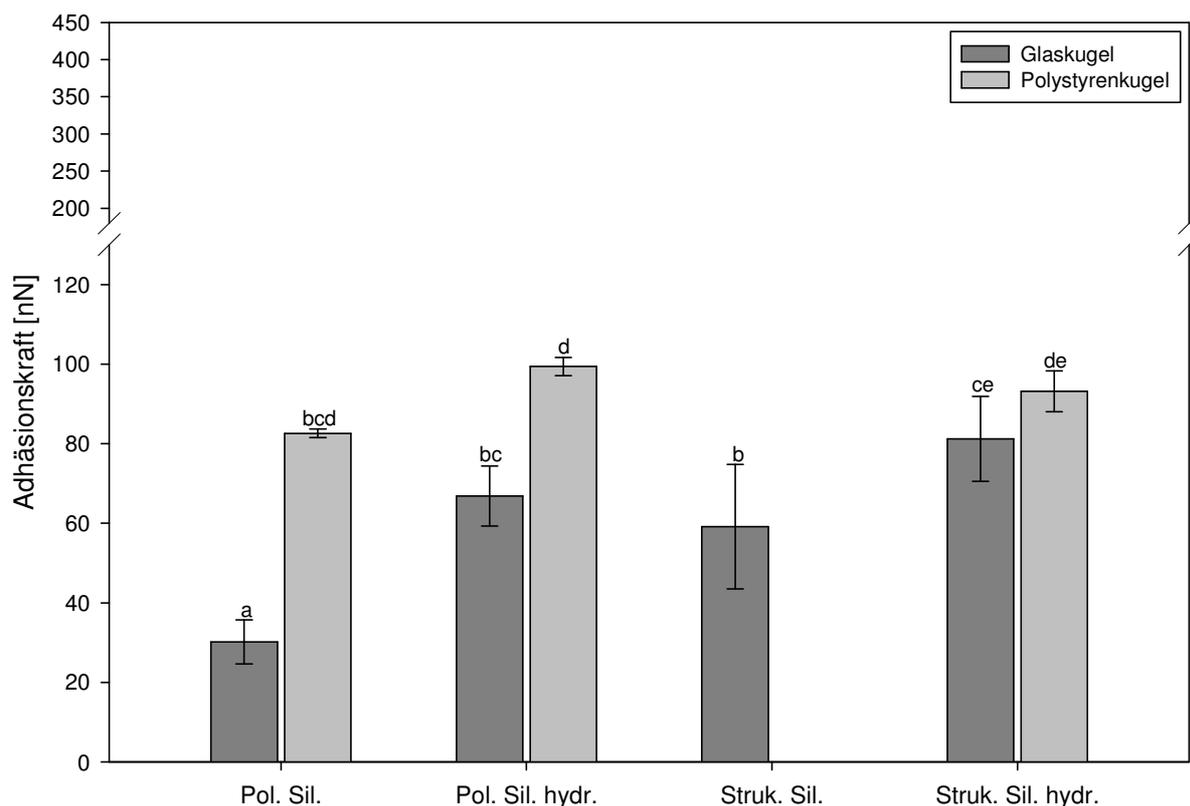


Abbildung 46: Kontaktwinkel der für die Adhäsionskraftmessungen verwendeten Oberflächen. a) Siliziumoberflächen, Pol. Sil.: Poliertes Silizium, Pol. Sil. hydr.: Poliertes Silizium hydrophobiert, Struk. Sil.: Strukturiertes Silizium, Struk. Sil. hydr.: Strukturiertes Silizium hydrophobiert. b) Pflanzliche Oberflächen. Dargestellt sind Mittelwerte (technische Oberflächen:  $n = 10$  und pflanzliche Oberflächen:  $n = 20$ ) mit Standardabweichung. Bei Übereinstimmungen von Buchstaben sind Unterschiede nicht signifikant ( $P > 0,05$ ).

Sowohl bei den technischen als auch bei den pflanzlichen Oberflächen sind die Kontaktwinkel der strukturierten hydrophoben Oberflächen signifikant am höchsten. Mit Mittelwerten der Kontaktwinkel von  $146^\circ$  beim Silizium und  $152^\circ$  beim Reisblatt, trifft auf sie die Bezeichnung superhydrophob zu (NUN *et al.*, 2002). Auch die glatte Siliziumoberfläche zeigt in ihrer hydrophobierten Form einen signifikant höheren Kontaktwinkel als die nicht hydrophobierte. Der Kontaktwinkel des nicht hydrophobierten strukturierten Siliziums ist mit  $100^\circ$  fast doppelt so hoch wie der des glatten Pendants.

#### ADHÄSIONSKRAFTMESSUNGEN AUF TECHNISCHEN OBERFLÄCHEN

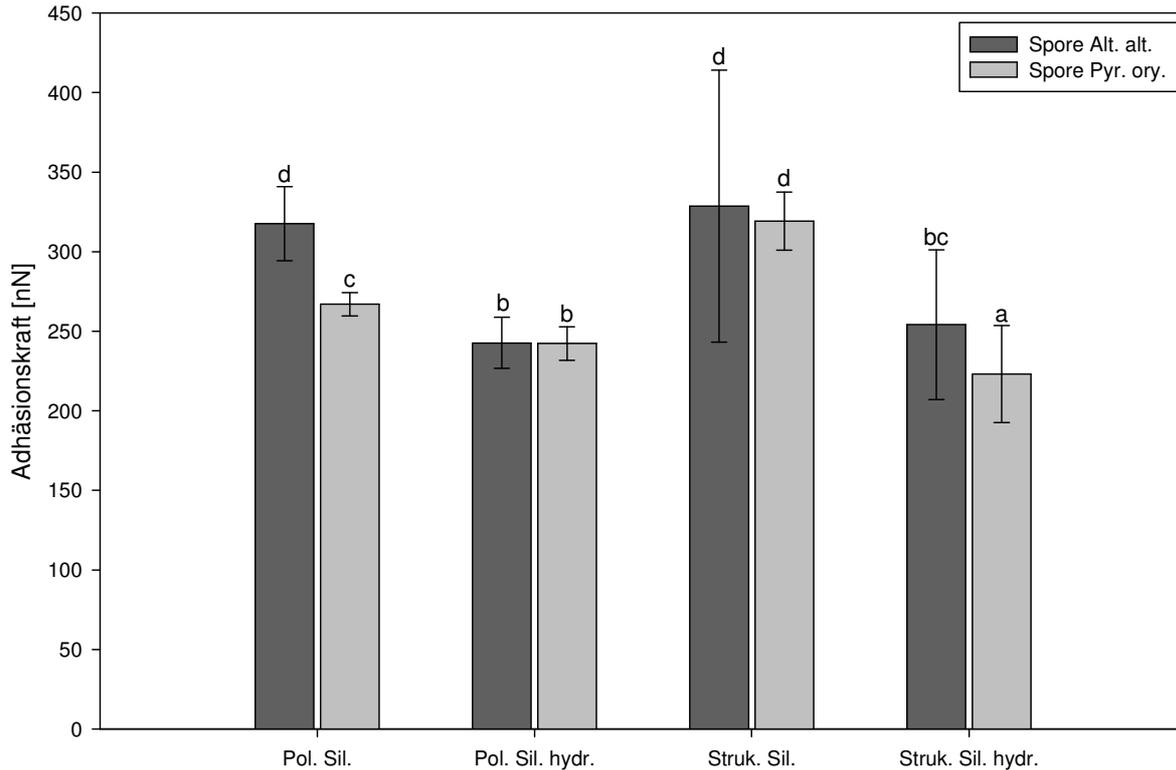


**Abbildung 47:** Adhäsionskraftmessung zwischen Glas- bzw. Polystyrenkugel und unterschiedlichen Siliziumoberflächen, Pol. Sil.: Poliertes Silizium, Pol. Sil. hydr.: Poliertes Silizium hydrophobiert, Struk. Sil.: Strukturiertes Silizium, Struk. Sil. hydr.: Strukturiertes Silizium hydrophobiert. Für die Oberfläche ‚strukturiertes Silizium‘ war mit der Polystyrenkugel keine Messung möglich, da die Adhäsionskräfte den Messbereich überstiegen. Dargestellt sind Mittelwerte von Parallelenzahlen zwischen 10 und 75 mit Standardabweichung. Bei Übereinstimmungen von Buchstaben sind Unterschiede nicht signifikant ( $P > 0,05$ ).

Zunächst fällt in Abbildung 47 auf, dass die Adhäsionskräfte zwischen den verwendeten Partikeln (Glas- und Polystyrenkugel) unterschiedlich sind. Bis auf die Messung auf strukturiertem hydrophobiertem Silizium sind die Werte für die Messung mit der Polystyrenkugel signifikant höher als die für die Messungen mit der Glaskugel.

Die Messungen mit der Glaskugel zeigen einen signifikanten Einfluss der Hydrophobie auf die Adhäsion. So sind die Werte der Adhäsionskraft auf den hydrophobierten Oberflächen sowohl bei den glatten als auch bei den strukturierten Proben signifikant höher als auf den nicht hydrophobierten Oberflächen. Auch ein, wenn auch z. T. nur tendenzieller, Einfluss der Struktur auf die Adhäsionskraft ist zu erkennen. So sind die Adhäsionskräfte auf den strukturierten Oberflächen tendenziell höher als auf den glatten Oberflächen, bei den nicht hydrophobierten Oberflächen sogar signifikant.

Die Ergebnisse der Messungen mit der Polystyrenkugel sehr heterogen. Der Einfluss der Struktur auf die Adhäsion ist nicht eindeutig. Bei den nicht hydrophobierten Oberflächen dürfte die Adhäsion auf der strukturierten Oberfläche zumindest tendenziell höher sein, da auf ihr die Adhäsion zwischen Polystyrenkugel und Oberfläche sogar so groß war, dass sie bei der verwendeten AFM-Nadel den Messbereich des AFM überschritt. Bei den hydrophobierten Oberflächen hingegen ist kein Unterschied in der Adhäsionskraft zwischen glatter und strukturierter Oberfläche zu erkennen. Ähnlich verhält es sich beim Einfluss der Hydrophobie auf die Adhäsionskraft. Während die Adhäsionskräfte auf der strukturierten nicht hydrophoben Oberfläche vermutlich deutlich höher lagen als bei der strukturierten hydrophoben, verhält es sich bei den glatten Oberflächen tendenziell umgekehrt.



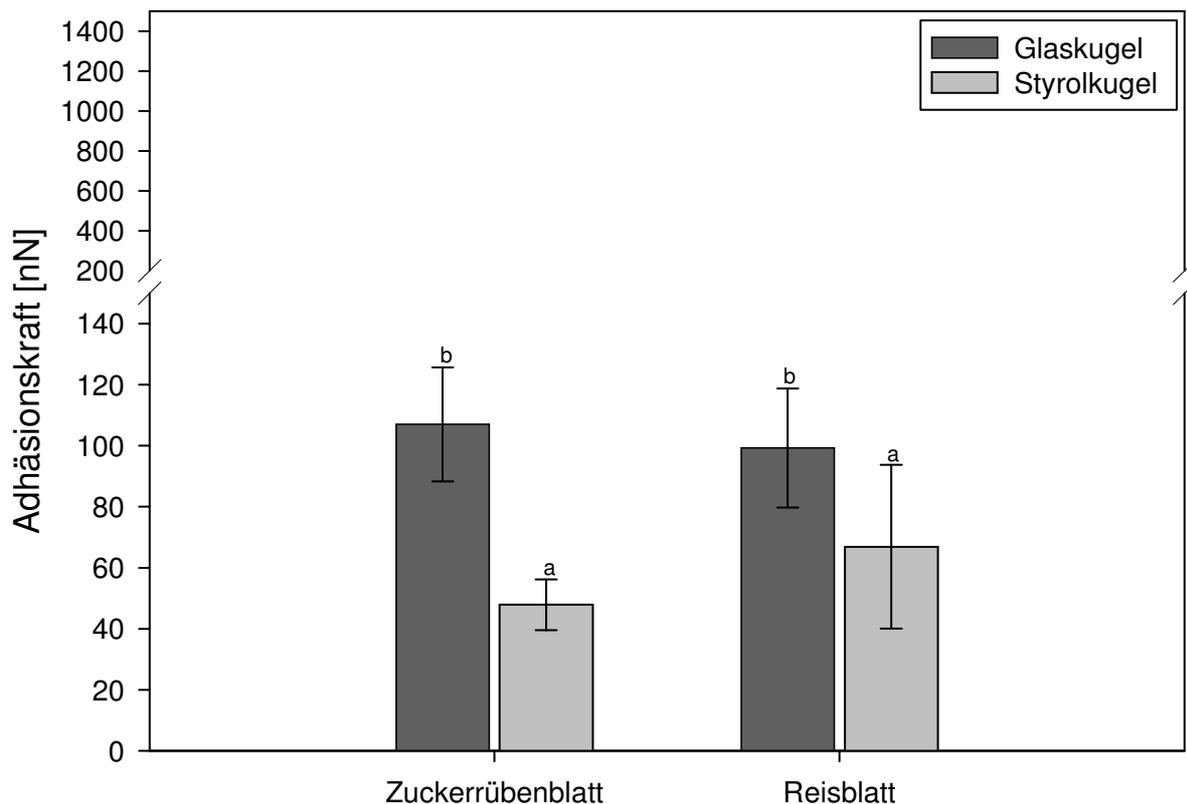
**Abbildung 48:** Adhäsionskraftmessung zwischen Sporen von *Alternaria alternata* bzw. *Pyricularia oryzae* und unterschiedlichen Siliziumoberflächen, Pol. Sil.: Poliertes Silizium, Pol. Sil. hydr.: Poliertes Silizium hydrophobiert, Struk. Sil.: Strukturiertes Silizium, Struk. Sil. hydr.: Strukturiertes Silizium hydrophobiert. Dargestellt sind Mittelwerte von Parallelenzahlen zwischen 44 und 87 mit Standardabweichung. Bei Übereinstimmungen von Buchstaben sind Unterschiede nicht signifikant ( $P > 0,05$ ).

Abbildung 48 zeigt, dass es einen signifikanten Einfluss der Hydrophobie auf die Adhäsionskräfte gibt. So sind die Adhäsionskräfte beider Sporenarten auf den hydrophobierten Siliziumoberflächen signifikant niedriger als auf den nicht hydrophoben. Dies trifft sowohl für die glatten als auch die strukturierten Oberflächen zu.

Nicht so deutlich fallen die Unterschiede zwischen den glatten und den strukturierten Oberflächen aus. Die Messungen mit der Spore von *Alternaria alternata* zeigten weder bei den nicht hydrophobierten noch bei den hydrophobierten Oberflächen signifikante Unterschiede. Die Messungen mit der Spore von *Pyricularia oryzae* sind widersprüchlich. Während die Adhäsionskräfte bei der nicht hydrophobierten strukturierten Oberfläche signifikant höher sind als bei der glatten, kehrt sich das Ergebnis bei den hydrophobierten Oberflächen um. Hier sind die Adhäsionskräfte auf der glatten Oberfläche signifikant höher als auf der strukturierten.

Im Vergleich zwischen beiden Grafiken zeigt sich, dass die Adhäsionskräfte zwischen den Pilzsporen und den Siliziumoberflächen durchweg höher sind als die der Glas- bzw. Polystyrenkugel.

#### ADHÄSIONSKRAFTMESSUNGEN AUF PFLANZLICHEN OBERFLÄCHEN

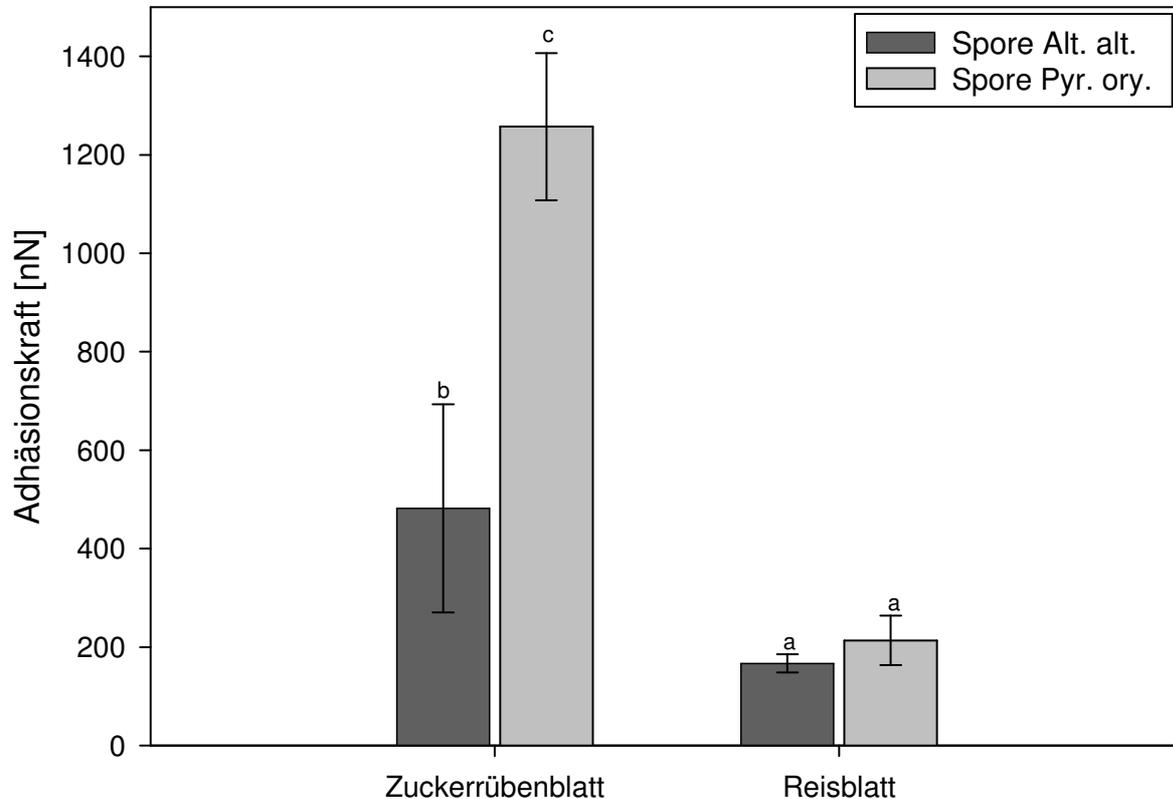


**Abbildung 49:** Adhäsionskraftmessung zwischen Glas- bzw. Polystyrenkugel und Blattoberflächen der Zuckerrübe und von Reis. Dargestellt sind Mittelwerte von Parallelenzahlen zwischen 18 und 65 mit Standardabweichung. Bei Übereinstimmungen von Buchstaben sind Unterschiede nicht signifikant ( $P > 0,05$ ).

Weder die Messungen mit der Glaskugel noch die mit der Polystyrenkugel zeigten signifikante Unterschiede abhängig von der Oberfläche auf der gemessen wurde (Abbildung 49).

Die Adhäsionskräfte abhängig vom Partikel mit dem gemessen wurde sind jedoch unterschiedlich. So sind die Messwerte mit der Polystyrenkugel sowohl auf dem Blatt

von *Oryza sativa* als auch auf dem von *Beta vulgaris* subsp. *vulgaris* signifikant niedriger als die mit der Glaskugel.



**Abbildung 50:** Adhäsionskraftmessung zwischen Sporen von *Alternaria alternata* bzw. *Pyricularia oryzae* und Blattoberflächen der Zuckerrübe und von Reis. Dargestellt sind Mittelwerte von Parallelenzahlen zwischen 21 und 94 mit Standardabweichung. Bei Übereinstimmungen von Buchstaben sind Unterschiede nicht signifikant ( $P > 0,05$ ).

Die Messwerte beider Sporenarten zeigen signifikante Unterschiede in der Stärke der Adhäsionskräfte abhängig von der Blattoberfläche auf der gemessen wurde (Abbildung 50). Sowohl die Messung mit der Spore von *Alternaria alternata* als auch die mit der Spore von *Pyricularia oryzae* zeigen auf dem Blatt von *Oryza sativa* signifikant niedrigere Adhäsionskräfte als auf dem Blatt von *Beta vulgaris* subsp. *vulgaris*.

Die Abhängigkeit Adhäsionskräfte von der verwendeten Spore ist auf dem Zuckerrübenblatt signifikant. Hier liegen die gemessenen Kräfte bei der Spore von *Pyricularia oryzae* signifikant höher als bei der Spore von *Alternaria alternata*.

Der Vergleich zwischen beiden Graphen zeigt, dass, wie bereits im vorangehenden Versuch, die Adhäsionskräfte der Sporen über denen der technischen Partikel liegen. Bei der Messung auf dem Reisblatt fallen diese jedoch nicht so deutlich aus wie auf dem Zuckerrübenblatt.

#### 4.3.5 Diskussion

##### KONTAKTWINKELMESSUNGEN

Die strukturierten hydrophoben Oberflächen zeigen die signifikant höchsten Kontaktwinkel, sowohl bei den technischen als auch bei den pflanzlichen Proben, was auch den theoretischen Erwartungen entspricht (siehe Kapitel 1.3.2) z. B. (BUSSCHER *et al.*, 1984).

Der gemessene Kontaktwinkel von Reis liegt mit ca.  $152^\circ$  im Bereich des von (NEINHUIS und BARTHLOTT, 1997) gemessenen ( $162^\circ$ ). Auch die Werte für das Blatt der Zuckerrübe sind in einem ähnlichen Bereich wie bei anderen Arbeiten. Zwar findet sich keine direkte Messung des Kontaktwinkels auf Zuckerrübenblättern, aber auf anderen nicht strukturierten Pflanzenblättern. So haben beispielsweise (BHUSHAN und JUNG, 2006) für Blätter von *Fagus sylvatica* und *Magnolia grandiflora* Werte zwischen  $80$  und  $90^\circ$  ermittelt.

Bemerkenswert ist, dass der Kontaktwinkel des nicht hydrophobierten strukturierten Siliziums mit  $100^\circ$  so hoch liegt. Er liegt damit zwar um etwa  $45^\circ$  unter dem des strukturierten hydrophobierten Silizium, aber fast doppelt so hoch wie der des glatten nicht hydrophobierten Siliziums. Daten aus der Literatur und theoretische Überlegungen ließen erwarten, dass bei einer hydrophilen Oberfläche wie Silizium der Kontaktwinkel durch eine Strukturierung weiter sinkt, z. B. (BUSSCHER *et al.*, 1984; UELZEN und MÜLLER, 2003; WENZEL, 1936). Dies könnte möglicherweise in der unzureichenden Reinigung der Oberflächen begründet sein. Zwar wurden diese Oberflächen, wie in Material und Methoden beschrieben, gereinigt, es könnten jedoch Verschmutzungen auf der Oberfläche verblieben sein. Um dies zukünftig zu vermeiden bietet sich die intensivere Reinigung mit anderen Stoffen, wie in der Chip-herstellenden Industrie, mit heißen Laugen oder saurer Wasserstoffperoxidlösung an (KERN, 1990).

### Technische Partikel

Auffällig ist, dass die Werte der Messungen mit der Polystyrenkugel stets tendenziell, meist sogar signifikant höher liegen als die der Glaskugel. Bei der Messung auf der nicht hydrophobierten strukturierten Siliziumoberfläche war die Adhäsion sogar so stark, dass keine Messung möglich war, da selbst beim maximalen Verfahrweg des Cantilevers durch den Piezo ( $10\mu\text{m}$ ) dieser sich nicht von der Oberfläche löste. Dies ist bemerkenswert, da zu vermuten gewesen wäre, dass durch die größere Hydrophilie der Glaskugel der Wasserfilm, der sich zwischen ihr und der Oberfläche bei Annäherung bildet, dicker ist als bei der Polystyrenkugel (EASTMAN und ZHU, 1996). Wie bereits oben erläutert, ist bei Adhäsionskraftmessungen an Luft die Kapillarkraft die dominierende Kraft. Diese wird maßgeblich durch Struktur und Chemie, sowohl der Oberfläche als auch des Partikels, die Größe des verwendeten Partikels, die Dauer des Kontakts zwischen Partikel und Oberfläche und die Luftfeuchte beeinflusst (SCHERGE und GORB, 2001). Da bis auf die Chemie der Partikel und evtl. die Luftfeuchte, alle Parameter gleich waren, sollte dies ausschlaggebend für die unterschiedlichen Messwerte sein. Durch die Hydrophilie der Glaskugel kann mehr Wasser im Spalt zwischen Kugel und Oberfläche kondensieren und der Wasserfilm haftet stärker an der Glaskugel. Dies würde implizieren, dass die Messwerte mit der Glaskugel höher liegen als die der hydrophoben Polystyrenkugel. BIGGS *et al.* (2002) zeigen jedoch, dass die Kapillarkräfte bei der Adhäsionskraftmessung erst über einer rel. Luftfeuchte von 70% eine bedeutende Rolle spielen. In belüfteten Räumen, wie demjenigen in dem die Messungen vorgenommen werden, werden solche Luftfeuchten jedoch durchaus unterschritten. Hinzu kommt, dass auch die Coulomb-Kräfte eine wichtige Rolle spielen. Diese kommen zum Tragen, wenn Oberfläche und Partikel unterschiedlich geladen und nicht ausreichend geerdet sind (SCHERGE und GORB, 2001). Die Siliziumoberflächen wurden mit Doppelklebeband auf dem AFM-Teller befestigt. Dieses Klebeband ist, da es aus Kunststoff besteht, nicht leitend. Gleichzeitig hat Polystyren, aus dem der Partikel bestand, eine Leitfähigkeit von  $10^{-16}\text{S/m}$ , ab einem Wert  $<10^{-8}\text{ S/m}$  spricht man von einem Isolator. So kann es durchaus zu einer unterschiedlichen Ladung von Partikel und Oberfläche gekommen sein. Von ihrer Stärke sind diese Coulomb-Kräfte mit den Kapillarkräften vergleichbar (Abbildung 36)

und können so die insgesamt gemessenen Kräfte massiv verändern. Hinzu kommt, dass sich eine Polystyrenkugel elastisch verformen kann, was die Kontaktfläche und somit die Adhäsionskraft erhöht (KAPPL und BUTT, 2002)

### Polystyrenkugel

Insgesamt zeigen die Messungen mit der Polystyrenkugel keine signifikanten Unterschiede in der Adhäsion abhängig von der Oberfläche. Bei den glatten Oberflächen ist lediglich eine tendenziell stärkere Adhäsion auf der hydrophoben Oberfläche zu verzeichnen. Aus demselben Grund, wie oben bereits erläutert, hätte man auch hier eine stärkere Adhäsionskraft auf der hydrophilen als auf der hydrophoben Oberfläche erwartet. Wie oben schon erwähnt, war die Adhäsionskraft zwischen Polystyrenkugel und strukturierter nicht hydrophober Siliziumoberfläche so groß, dass sie nicht mehr messbar war. Dies wiederum entspricht zwar dem Erwarteten, was die Chemie der Oberfläche betrifft, steht jedoch im Gegensatz zu den Messungen auf der glatten Oberfläche. Auch hier könnten die herrschenden Coulomb-Kräfte die Kapillarkraft, aufgrund niedriger Luftfeuchte, auf der hydrophilen Oberfläche überdeckt oder verfälscht haben.

Eine mögliche Erklärung für die extrem hohe Adhäsion zwischen Polystyrenkugel und strukturierter nicht hydrophober Siliziumoberfläche ist, dass für diese Messung ein anderer Cantilever mit Polystyrenkugel verwendet wurde als für die anderen Messungen, da der vorher verwendete Cantilever bei einer Messung abgebrochen ist und das die Messungen an einem anderen Tag stattfanden. Entweder waren also möglicherweise die klimatischen Bedingungen verändert, z. B. deutlich höhere Luftfeuchte oder die Kugel war durch den Herstellungsprozess in irgendeiner Form verunreinigt.

Die Messungen mit der Polystyrenkugel zeigten auch beim Faktor Struktur keine signifikanten Unterschiede. Ein Grund hierfür könnte sein, dass die für die Oberfläche gewählte Strukturierung bei den verwendeten Partikeln zu grob war. Dies könnte zur Folge haben, dass bei Messungen auf der strukturierten Oberfläche der Partikel lediglich mit einem Quader der Struktur in Kontakt kam und so die Messung der auf einer glatten Oberfläche entsprach (Abbildung 51). Wie die Grafik verdeutlicht ist dies zwar unwahrscheinlich, aber nicht unmöglich.

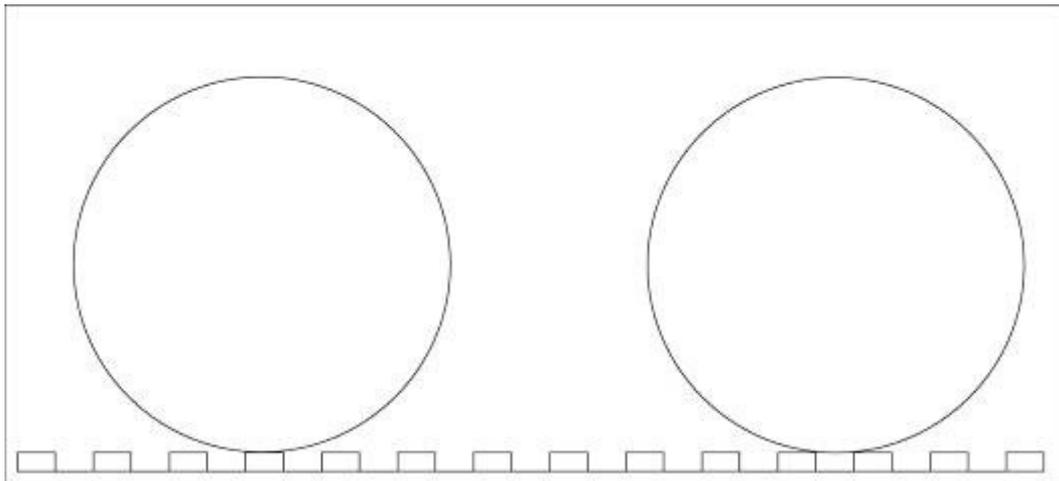


Abbildung 51: Maßstabsgetreue Darstellung der Größenverhältnisse der Oberflächenstruktur des strukturierten Siliziumwafers und der Glas- bzw. Styrenkugel, sowie möglicher Kontaktstellen.

### Glaskugel

Bei den Messungen mit der Glaskugel zeigen sich deutliche Unterschiede, sowohl im Bezug auf die Chemie als auch auf die Struktur der Oberfläche. Dass diese Unterschiede vorliegen, deutet an, dass hier die Coulomb-Kräfte im Vergleich zu den Kapillarkräften unbedeutend waren. Zwar ist Glas ebenfalls ein schlechter Leiter (Leitfähigkeit ca.  $10^{-20}$  S/m), jedoch ist durch seine hydrophilen Eigenschaften die Bildung eines Wasserfilms auf der Oberfläche möglich, über den die Ladungsunterschiede ausgeglichen werden könnten.

Signifikant sind die Unterschiede in der Adhäsionskraft bezüglich der Chemie der Oberfläche. Sowohl bei den glatten als auch bei den strukturierten Siliziumoberflächen ist die Adhäsion der Glaskugel zu den hydrophoben Proben signifikant höher als zu den hydrophilen. Auf Grundlage der Theorie und vorausgehender Arbeiten wäre zu erwarten gewesen, dass auf den hydrophilen Oberflächen, aufgrund der Ausbildung eines dickeren Wasserfilms, eine höhere Adhäsion vorliegt. JONES *et al.* (2002) wies bei Messungen mit Glaskugeln ( $\varnothing 20\mu\text{m}$ ) auf einer unbehandelten Glasoberfläche eine ca. 10-fach höhere Adhäsion nach als bei Messungen auf hydrophobiertem Glas. Auch hier wäre eine mögliche Erklärung, dass für die Messungen auf glattem, nicht hydrophobiertem und hydrophobiertem strukturiertem Silizium ein anderer Glaspartikel verwendet wurde, als für die anderen Messungen, der möglicherweise durch unsauberes Arbeiten verschmutzt war und so

die Messungen negativ beeinflusst hat. Außerdem wurden nicht alle Messungen am gleichen Tag durchgeführt, so dass unterschiedliche klimatische Verhältnisse, besonders unterschiedliche Luftfeuchten, die Messungen beeinflusst haben könnten.

Unterschiede in den Messwerten zeigen sich auch bezüglich der Struktur der Oberfläche. Bei den nicht hydrophobierten Siliziumoberflächen weisen die strukturierten Proben eine signifikant höhere Adhäsion auf als die glatten, bei den hydrophoben Proben ist dies als Tendenz erkennbar. Dies ist insofern bemerkenswert, als laut SCHERGE und GORB (2001) bei einer strukturierten Oberfläche die Adhäsion niedriger ist, wenn die Größe der Strukturen ähnlich der Kontaktfläche des Partikels ist. Diese Theorie basiert jedoch auf einer halbkugelförmigen Struktur der Oberfläche, wodurch in diesem Fall die Kontaktfläche zwischen Kugel und Halbkugel, und damit die kapillare Brücke, kleiner wäre als zwischen Kugel und glatter Oberfläche. Dass dies hier nicht der Fall ist, lässt sich wiederum durch Größe und Form der Strukturen erklären. Wie in Abbildung 51 zu sehen, ist die für diese Untersuchungen gewählte Struktur so groß, dass es beim Kontakt der Kugel mit derselben im ungünstigsten Fall zum Kontakt mit nur einem Quader kommen kann. Dadurch, dass dieser eine ebene Oberfläche besitzt, entspräche in diesem Fall die Kontaktfläche der auf einer glatten Oberfläche. Das andere Extrem wäre der Kontakt des Partikels zu bis zu 4 Quadern, falls die Kugel exakt an einem Kreuzungspunkt aufsetzen würde. In diesem Fall käme es, wie oben beschrieben, zur Ausbildung von 4 kapillaren Brücken. Dadurch könnte sich die Adhäsionskraft gegenüber einer glatten Oberfläche erhöhen. Selbst wenn man von einem Kontakt zu lediglich 2 Quadern ausgeht, würde dies die höhere Adhäsionskraft erklären.

### Pilzsporen

Die Messungen mit Pilzsporen auf den Siliziumoberflächen ergaben ein völlig anderes Bild. Auffällig ist, dass alle ermittelten Adhäsionskräfte um den Faktor 2-10 höher liegen als bei den technischen Partikeln. Hierfür gibt es 2 mögliche Erklärungen: 1. Die größere Kontaktfläche der Pilzsporen zur Oberfläche. Dadurch, dass es sich bei ihnen um sehr weiche Partikel handelt, können sie durch den Druck

des Cantilevers auf sie, nachdem die Oberfläche erreicht ist, elastisch und plastisch deformiert werden, wodurch sich ihre Kontaktfläche zur Probenoberfläche vergrößert, was seinerseits eine stärkere Adhäsion zur Folge hat (LIU, 2006; SCHERGE und GORB, 2001). 2. Die speziellen chemischen Eigenschaften der Sporenoberfläche. Viele keimende Pilzsporen besitzen auf ihrer Oberfläche Lipopolysaccharide oder Proteine, die die Haftung derselben mit einer Oberfläche durch Polysaccharidbindungen verstärken (DUFRÈNE *et al.*, 1999). Einen Sonderfall stellt hierbei der von Sporen von *Pyricularia oryzae* produzierte so genannte Sporenspitzen Schleim (spore tip mucilage (STM)) dar (HAMER *et al.*, 1988). Dieser Schleim enthält, zusätzlich zu Proteinen und Lipiden,  $\alpha$ -verknüpfte Mannosyl und Glykosylreste, die ebenfalls die Adhäsion verstärken. Bei den hier verwendeten Sporen kann davon ausgegangen werden, dass die Keimung bereits begonnen hat, da sie vor der Messung über Nacht in einer Petrischale auf dem AFM-Cantilever belassen wurden und die Keimung gewöhnlich 3-8 Stunden dauert (DEACON, 2006). Es ist hier jedoch zu erwähnen, dass stets vor der Messung eine lichtmikroskopische Kontrolle der Sporen auf dem Cantilever stattgefunden hat und nie das Auswachsen eines Keimschlauches nachzuweisen war. Da dies jedoch erst der zweite Schritt in der Keimung ist, hat höchstwahrscheinlich die vorausgehende Hydratisierung und die Aktivierung weiterer physiologischer Prozesse bereits stattgefunden.

Beide Pilzsporenarten zeigen Unterschiede in der Stärke ihrer Adhäsion in Abhängigkeit von der Chemie der Oberfläche. Sowohl die Spore von *Pyricularia oryzae* als auch die von *Alternaria alternata* zeigen auf den hydrophilen Oberflächen eine signifikant höhere Adhäsion als auf den hydrophoben. Dies trifft sowohl für die glatten als auch die strukturierten Siliziumoberflächen zu. Damit entsprechen die Ergebnisse den Erwartungen, die Kapillarkräfte betreffend, wie oben beschrieben. Im Allgemeinen wird zwar behauptet, dass die Oberflächen keimender Pilzsporen hydrophob sind (DUFRÈNE *et al.*, 2001; HEGEDUS *et al.*, 1992; TALBOT, 2001), erst nach einer gewissen Zeit der Alterung (40 Tage) werden sie z. T. hydrophil (AMIRI *et al.*, 2005). Diese Hydrophobie steht jedoch nicht im Gegensatz zu den Ergebnissen, da sie sich über den Zeitraum der Messungen nicht veränderte und so die unterschiedliche Chemie der verwendeten technischen Oberflächen und der damit verbundene Unterschied in der Dicke des adsorbierten Wasserfilms für die Stärke der Adhäsion ausschlaggebend ist. Und dieser ist auf der hydrophilen Oberfläche

dicker, so dass dort eine stärkere Adhäsion der Sporen stattfindet. Nahezu alle bisherigen Untersuchungen zur Adhäsion von Pilzsporen wurden in wässrigem Medium durchgeführt, weshalb deren Ergebnisse nicht mit den hier erzielten zu vergleichen sind, da die wirkenden Kräfte andere sind (AMIRI *et al.*, 2005; BOWEN *et al.*, 2000; BOWEN *et al.*, 2001; DOSS *et al.*, 1995). MERCURE *et al.* (1994) konnten eine bessere Adhäsion von Sporen von *Colletotrichum graminicola* an hydrophobe Oberflächen als an hydrophile nachweisen, jedoch wurden hierbei Verweildauern der Sporen von 5 - 30 min untersucht, weshalb die Werte nicht mit den hier ermittelten zu vergleichen sind, da hier die Verweildauer unter einer Sekunde lag.

Die Strukturierung der Oberfläche hat keinen signifikanten Einfluss auf die Adhäsion der Sporen. Dies könnte, wie oben bereits geschildert an Dimension und Form der Struktur liegen. Das heißt, dass durch die relativ große Oberfläche der Quader ( $4 \mu\text{m}^2$ ) die Spore nur Kontakt zu einem oder wenigen Quadern hatte und so die Kontaktfläche im Vergleich zur glatten Oberfläche kaum reduziert war. Gleichzeitig ist durch die elastische Verformbarkeit der Sporen deren Kontaktfläche noch erheblich größer als beispielsweise bei den technischen Partikeln. Leider liegen keine vergleichbaren Untersuchungen vor, bei denen die Adhäsion von Pilzsporen auf technischen strukturierten Oberflächen an der Luft durchgeführt wurden, um die hier erzielten Ergebnisse detaillierter zu diskutieren.

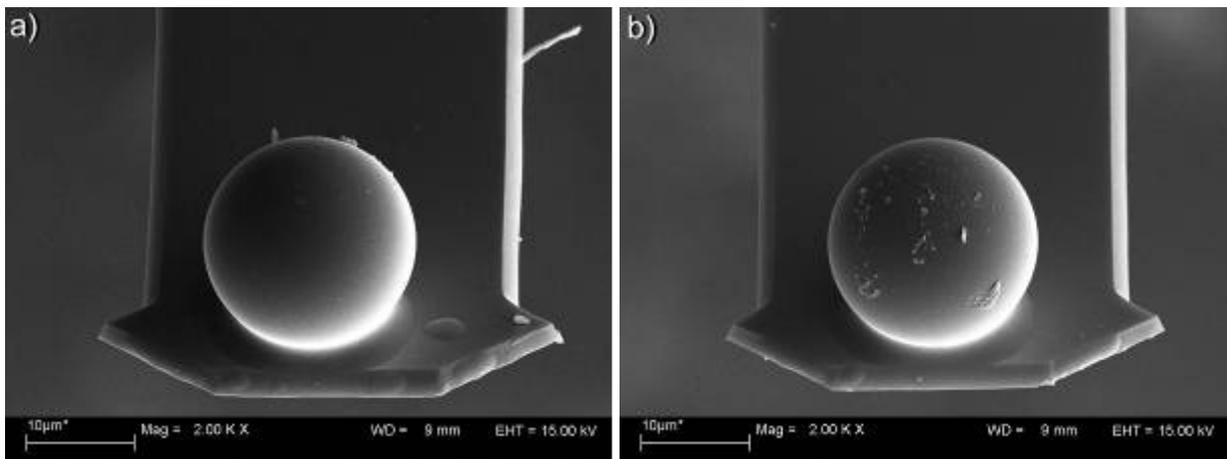
## ADHÄSIONSKRAFTMESSUNGEN AUF PFLANZLICHEN OBERFLÄCHEN

### Technische Partikel

Bei den Messungen auf den pflanzlichen Oberflächen zeigt sich, dass die Werte der Messungen mit der Polystyrenkugel signifikant niedriger sind, als die der Glaskugel. Eine mögliche Erklärung hierfür wäre, dass im Gegensatz zu Silizium die pflanzlichen Oberflächen gute elektrische Leiter sind, da die Zellen der Blätter mit Wasser gefüllt sind und durch Transpiration direkt über der Blattoberfläche eine höhere Luftfeuchte herrscht als in der Umgebung (STRASBURGER und SITTE, 2002). So kann es nicht zu einem Aufbau unterschiedlicher Ladungen zwischen Partikel und Oberfläche kommen, bzw. diese werden bei Annäherung der beiden direkt abgeleitet. Durch diese Minimierung der Coulomb-Kräfte sind vermutlich nun die Kapillarkräfte für die

Stärke der Adhäsion ausschlaggebend. Und diese sind bei gleicher Oberfläche beim hydrophilen Partikel (Glas) stärker als beim hydrophoben (Polystyren).

Die Adhäsionskräfte beider Partikel unterschieden sich zwischen den beiden pflanzlichen Oberflächen nicht signifikant. Eine mögliche Erklärung hierfür ist, dass durch den Cantilever ein relativ starker Druck auf die pflanzlichen Oberflächen ausgeübt wurde, wodurch die Struktur der Wachskristalle auf der Reisoberfläche zerstört wurde. Daraus würde folgen, dass ausschließlich die Primärstruktur des Reisblattes zum Tragen gekommen wäre, die jedoch so grob ist, dass sich, wie bereits bei den technischen Oberflächen erwähnt, bei der gewählten Partikelgröße kein Unterschied zu einer glatten Oberfläche ergibt. Des Weiteren besteht die Möglichkeit, dass Wachsmaterial von den pflanzlichen Oberflächen bereits bei der ersten Messung an den Partikeln hängen blieb, was bei folgenden Messungen die Werte beeinflusste. Bei rasterelektronenmikroskopischen Untersuchungen der verwendeten Cantilever ließen sich solche Verunreinigungen auf den Partikeln, wenn auch nur in geringem Maße, nachweisen (Abbildung 52).

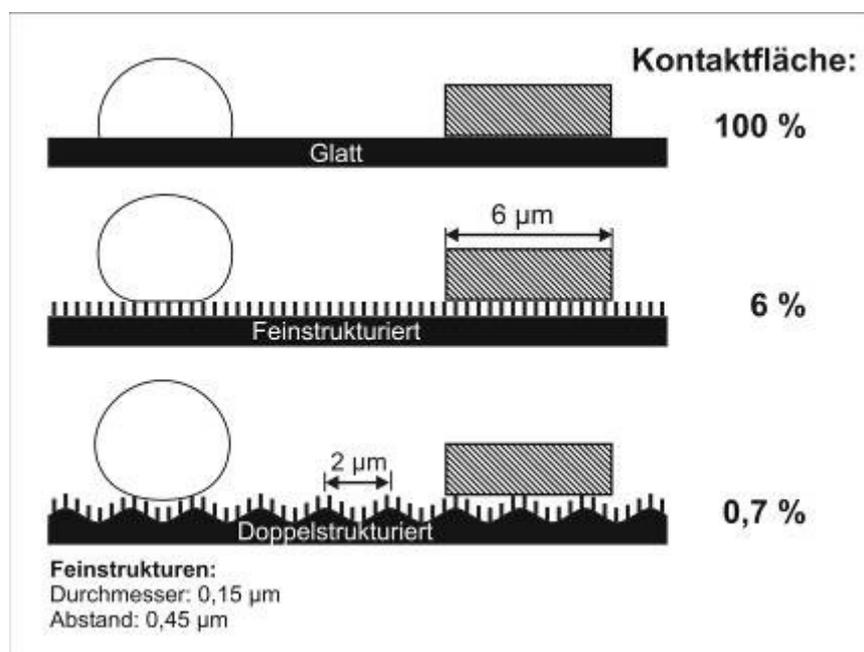


**Abbildung 52:** REM-Aufnahmen der Cantilever mit technischen Partikeln, nach der Adhäsionskraftmessung. Anhaftende Verschmutzungen die durch die Messung entstanden sind. a) Glaskugel, b) Polystyrenkugel

### Pilzsporen

Bei den Pilzsporen unterscheiden sich die Messwerte auf den verschiedenen pflanzlichen Oberflächen signifikant. Bei beiden Sporenarten war die Adhäsion auf der Oberfläche des Reisblattes signifikant niedriger als auf dem Zuckerrübenblatt. Dies ist genau das Ergebnis, was nach den theoretischen Überlegungen zu erwarten war. Die vermutliche Ursache hierfür ist die starke Strukturierung der Oberfläche des

Reisblattes. Sie besteht aus einer Sekundärstruktur, den Zellpapillen, sowie einer Tertiärstruktur durch Wachsplättchen, die gleichzeitig für die Hydrophobie der Oberfläche sorgen. Durch diese Doppelstruktur wird die Kontaktfläche so stark reduziert, dass auch die wirkenden Kapillarkräfte deutlich niedriger sind als auf einer glatten Oberfläche. Wie stark sich die Doppelstrukturierung einer Oberfläche auf die Kontaktfläche eines Partikels auswirkt, zeigt Abbildung 53. Dass diese Doppelstrukturierung einen enormen Einfluss auf die Adhäsion von Partikeln hat, konnten bereits BURTON und BHUSHAN (2006) anhand von Adhäsionskraftmessungen zeigen. Die hier gezeigten Ergebnisse erhärten die in vorgenannter Publikation mit technischen Partikeln gewonnenen Erkenntnisse.



**Abbildung 53:** Schematische Darstellung der Änderung der Kontaktfläche eines Partikels bei zunehmender Strukturierung der Oberfläche. Verändert nach CERMAN *et al.* (2004)

Des weiteren zeigt sich, dass die Adhäsion der Spore von *Pyricularia oryzae* auf dem Zuckerrübenblatt mehr als doppelt so hoch ist wie die der Spore von *Alternaria alternata*. Dies könnte durch die Besonderheit der Sekretion des Sporenspitzenschleims (spore tip mucilage (STM)) durch die Spore von *Pyricularia oryzae* bedingt sein. Wie von HAMER *et al.* (1988) beschrieben, ist dieser maßgeblich für die Adhäsion verantwortlich. Bei *Alternaria alternata* fehlt dieser Haftvermittler, was zu einer niedrigeren Adhäsion führen könnte. Da die Adhäsion beider Sporenarten auf dem Reisblatt deutlich niedriger ist, fällt hier der Unterschied nicht so deutlich aus.

Insgesamt waren die erzielten Ergebnisse so uneinheitlich, dass auch über das Erreichen der Ziele keine eindeutige Aussage möglich ist. Es ließ sich anhand der vorliegenden Untersuchung weder ein eindeutiger Einfluss der Hydrophobie und Struktur der Oberfläche noch der Hydrophobie der verwendeten Partikel auf die Adhäsion nachweisen. Ein großer Unsicherheitsfaktor bei den vorliegenden Messungen waren die Umgebungsparameter. Da nicht in einem flüssigen Medium oder unter standardisierten Bedingungen gemessen wurde, da dies apparativ nicht möglich war und die Bedingungen so realitätsnah wie möglich sein sollten, besteht die Möglichkeit, dass sich diese zwischen den einzelnen Messungen unterschieden. Besonders die Luftfeuchte hat jedoch einen entscheidenden Einfluss auf die Adhäsionskräfte (CLEAVER und TYRRELL, 2004). Dies spricht dafür, zukünftige Messungen unter standardisierten Bedingungen in einer Klimakammer durchzuführen.

Eindeutig nachweisbar war jedoch, dass die verwendeten Pilzsporen bezüglich der Haftung auf ihren Wirtspflanzen keine besondere Affinität besitzen. So zeigte sowohl die Spore von *Pyricularia oryzae* als auch die von *Alternaria alternata* auf der Reisblattoberfläche eine signifikant niedrigere Adhäsion als auf dem Zuckerrübenblatt. Dies entspricht den, rein auf der Physik basierenden, Erwartungen. Falls eine spezifische Affinität der Sporen zu ihrer Wirtspflanze vorläge, so die Adhäsion zur jeweiligen Wirtspflanzenoberfläche höher sein müssen als zur unspezifischen. Außerdem hätte die Adhäsionskraft der Spore auf der entsprechenden Wirtspflanzenoberfläche höher liegen müssen als die Adhäsionskraft der unspezifischen Spore zu dieser Oberfläche. Diese beiden Punkte treffen jedoch nicht zu, was dafür spricht, dass die Wirts-Pathogenbeziehung keinen Einfluss auf die Stärke der Primäradhäsion der Spore hat.

## 5 Schlussbetrachtung und Ausblick

Untersuchungen zum Einfluss der Calcofluorfärbung auf das Pilzwachstum

Das Ziel dieser Untersuchung war es festzustellen, ob die wiederholte Anfärbung von Schimmelpilzen mit Calcofluor white deren Wachstum beeinflusst. Das Ergebnis war, dass, zumindest über den Untersuchungszeitraum von 3 Wochen, die Anfärbung mit Calcofluor white keinen signifikanten Einfluss auf das Pilzwachstum auf Fassadenoberflächen hat. Somit eignet sich Calcofluor als Vitalfarbstoff zur Visualisierung von Pilzbewuchs. Dies wäre vor allem für Untersuchungen an Gebäudeoberflächen interessant, da sich durch diese Methode auch für das bloße Auge unsichtbares Pilzmyzel sichtbar machen ließe. Ein Nachteil dieses Farbstoffs ist jedoch, wie bereits in 4.2 erwähnt, dass er stark melanisierte Pilzbestandteile nicht anfärbt. Außerdem ist nicht bekannt, wie es sich mit dem Einfluss der Calcofluorfärbung auf das Pilzwachstum über einen längeren Zeitraum verhält. Hierfür sind weitere Untersuchungen erforderlich. Um Pilze von der Vielzahl an Organismen und organischen Bestandteilen auf einer Gebäudeoberfläche zu differenzieren, ist Calcofluor ungeeignet, da er an alle  $\beta$ -glykosidisch verknüpften Polysaccharide bindet, die in nahezu allen Organismen vorhanden sind. Dies muss jedoch kein Nachteil sein, da durch Färbung mit diesem Stoff eben nicht nur Photosynthese betreibende Organismen wie Algen, Moose und Flechten durch ihre Autofluoreszenz detektierbar sind, sondern der gesamte organische Bewuchs einer Oberfläche sichtbar gemacht werden kann. Wie praxistauglich diese Methode ist, müsste jedoch durch weitere Untersuchungen ermittelt werden.

Untersuchungen zum Wachstum von *Penicillium chrysogenum* und *Cladosporium cladosporioides* auf technischen Materialien

Im Rahmen dieser Untersuchung ging es darum, ein Testverfahren zu entwickeln, mit dem sich der Pilzbewuchs verschiedener Baustoffe vergleichen lässt. Des Weiteren sollte untersucht werden, ob sich Unterschiede im Bewuchs funktionaler und nicht funktionaler Oberflächen ergeben. Die superhydrophoben selbstreinigenden Oberflächen zeigten einen zumindest tendenziell, z. T. sogar signifikant, geringeren Bewuchs als die nicht funktionalen Proben. Die photokatalytischen Oberflächen lagen zwar mit ihrem Bewuchs im unteren Bereich,

es lag aber kein signifikanter Unterschied zu den nicht funktionalen Oberflächen vor. Dies liegt vermutlich, wie bereits in 4.2 beschrieben, an der niedrigen UV-Intensität, die die Effektivität der Photokatalyse beeinträchtigt. Hierzu bedarf es weiterführender Untersuchungen mit einer erhöhten UV-Intensität, um die Effektivität der Photokatalyse, die bereits mehrfach nachgewiesen wurde im Bezug auf den Bewuchs der vorliegenden Baustoffe mit Mikroorganismen zu bestätigen (FUJISHIMA *et al.*, 1999).

Außerdem ist noch unklar, inwieweit die im Labortestverfahren erzielten Ergebnisse sich mit Ergebnissen aus der Freilandauslagerung decken. Da durch ein solches Labortestverfahren die Ergebnisse aus dem Freiland in einem stark verkürzten Zeitraum widerspiegeln soll, ist es essenziell, einen solchen Abgleich durchzuführen. Dies stellt insofern ein Problem dar, als es nicht ‚das Freiland‘ gibt, sondern sich die Ergebnisse, je nach geografischer Lage und dadurch bedingte unterschiedliche Umweltbedingungen, stark unterscheiden (VENZMER und MESSAL, 2003). Die Schwierigkeit besteht also darin, festzulegen, welche Auslagerungsbedingungen in einem Labortestverfahren nachempfunden werden sollen.

Um den in der Natur herrschenden Bedingungen in Zukunft näher zu kommen, wären zusätzliche Modifikationen denkbar. Zum einen könnten die Umweltbedingungen weiter variiert werden. Man könnte z. B. Temperaturschwankungen simulieren, um ggfs. Kondensation auf den Oberflächen hervorzurufen, oder andere abiotische Faktoren, wie z. B. die Wasserverfügbarkeit durch die die Berechnungsmenge modifizieren. Zum anderen wäre eine Variation der Mikroorganismenarten, die Verwendung mehrerer Arten von Algen und Pilzen gleichzeitig, sowie die Kombination von Algen- und Pilzarten denkbar.

Es zeigt sich also, dass in diesem Bereich auch in Zukunft noch intensive Forschung notwendig ist, um ein realitätsnahes Labortestverfahren zu entwickeln.

Adhäsionskräfte von technischen Partikeln und Pilzsporen auf technischen und pflanzlichen Oberflächen

Im Rahmen dieser Untersuchung sollte geklärt werden, ob Struktur und Chemie einer Oberfläche einen Einfluss auf die Adhäsion von Sporen oder technischen Partikeln auf ihnen haben, ob die Hydrophobie des Partikels für seine Haftung eine Rolle spielt

und ob die Sporen phytopathogener Pilze auf der Blattoberfläche ihrer Wirtspflanze stärker als auf anderen Oberflächen haften. Die Ergebnisse bezüglich der Adhäsion von Pilzsporen und unterschiedlichen technischen Partikeln auf verschiedenen pflanzlichen und technischen Oberflächen (4.3) sind heterogen. Bei den technischen Oberflächen ließ sich weder bei der Adhäsion technischer Partikel noch von Pilzsporen ein signifikanter Unterschied zwischen glatten und superhydrophoben Oberflächen ermitteln. Auf den pflanzlichen Oberflächen ergab sich lediglich bei der Messung mit Pilzsporen ein signifikanter Unterschied in der Adhäsionskraft abhängig von der Oberfläche.

Die Problematik der Messungen war, dass sie unter Umweltbedingungen stattfanden. Das heißt, dass sowohl Temperatur als auch Luftfeuchte je nach Messtag schwankten. Außerdem kamen, besonders bei den pflanzlichen Oberflächen Probleme wie z. B. die Verunreinigung oder Unterschiede zwischen verschiedenen Pflanzenproben hinzu. Da die Messungen jedoch an der Luft und nicht in Wasser stattfinden sollten, um Rückschlüsse auf die Vorgänge in der Natur zuzulassen, ließen sich diese Einflussfaktoren nicht vollständig vermeiden.

Um jedoch eine endgültige Aussage über die unterschiedlichen Adhäsionskräfte zu erhalten, sind weitere Messungen unerlässlich. Diese sollten jedoch in einer Kammer stattfinden, bei der sich Luftfeuchte und Temperatur kontrollieren lassen um diese Faktoren zu minimieren. Des Weiteren sollten bei diesen Versuchen, besonders bei den technischen Oberflächen, die Strukturen so gewählt werden, dass sie im Vergleich zu den verwendeten Partikeln deutlich kleiner sind um einen Einfluss der Struktur auf die Adhäsion nachweisen zu können.

Insgesamt sind diese Untersuchungen jedoch von entscheidender Bedeutung, da durch sie möglicherweise eine Vorraussage der Bewuchsneigung von Materialien mit einer bestimmten Oberflächenstruktur durch bestimmte Pilze möglich wird. Das heißt im Umkehrschluss, dass zukünftig Materialien mit definierten Oberflächenstrukturen so hergestellt werden könnten, dass sie schlecht, oder gar nicht durch Pilze besiedelt werden können.

## 6 Zusammenfassung

Manuel Spaeth (2007). Pilze auf Baustoffen: Einfluss funktionaler Oberflächen auf deren Bewuchs. Dissertation, Mathematisch-Naturwissenschaftliche Fakultät, Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn. 186 pp.

Ein Problem, mit dem die Menschen konfrontiert sind seit sie Bauwerke errichten, ist der Bewuchs der Baumaterialien durch Pilze. In den letzten Jahren findet dieses Thema verstärkt Beachtung und gewinnt heutzutage aus unterschiedlichen Gründen zusehends an Bedeutung.

In der vorliegenden Arbeit sollte mit Hilfe eines Labortestverfahrens überprüft werden, ob superhydrophobe selbstreinigende (Lotus-Effect®) und photokatalytische technische Oberflächen weniger stark von Pilzen bewachsen werden als konventionelle. In einem zweiten Versuchskomplex wurde untersucht, ob Struktur und Hydrophobie einer Oberfläche die Adhäsion von Partikeln und Pilzsporen auf ihnen beeinflussen, was deshalb von Bedeutung ist, da die Adhäsion der erste Schritt im Bewuchs einer Oberfläche ist.

In einem einleitenden Experiment wurde untersucht, ob der Fluoreszenzfarbstoff Calcofluor white, ein weit verbreiteter Farbstoff zum anfärben von Pilzen, das Wachstum derselben beeinflusst. In einem 3-wöchigen Versuch konnte nachgewiesen werden, dass Calcofluor white keinen signifikanten Einfluss auf das Pilzwachstum hatte, wodurch seine Eignung für die nicht-invasive Quantifizierung des Pilzwachstums erstmals nachgewiesen werden konnte.

In einem weiteren Versuch sollte ein Labortestverfahren entwickelt werden, mit dem unterschiedliche technische Oberflächen hinsichtlich ihrer Neigung zum Pilzbewuchs miteinander verglichen werden können. Dafür wurden verschiedene Probekörper von Fassadenfarben und Dachziegeln mit Sporensuspensionen von *Penicillium chrysogenum* bzw. *Cladosporium cladosporioides* inokuliert, unter kontrollierten Bedingungen in einer Klimakammer gelagert und regelmäßig beregnet. Es zeigte sich, dass mit diesem Testverfahren Bewuchsunterschiede auf den unterschiedlichen Baustoffen erreicht und nachgewiesen werden konnten. Damit ist es erstmals gelungen in einem, im Vergleich zur Freilandauslagerung, verkürzten Zeitraum solche Ergebnisse zu erzielen.

Mit Hilfe dieses Labortestverfahrens wurden funktionale Fassadenfarben und Dachziegel mit nicht funktionalen Proben im Hinblick auf ihre Bewuchsneigung mit Pilzen verglichen. Die funktionalen Oberflächen umfassten superhydrophobe selbstreinigende (Lotus-Effect®) und photokatalytische Proben. Bei allen Versuchsreihen ergab sich ein zumindest tendenziell, meist signifikant, geringerer Bewuchs der superhydrophoben selbstreinigenden gegenüber den nicht funktionalen Oberflächen. Die photokatalytischen Oberflächen zeigten gegenüber den nicht funktionalen Oberflächen keine Unterschiede im Bewuchs, was vermutlich auf eine unzureichende Intensität des UV-Lichts zurückzuführen war.

Ein weiterer Kernpunkt der Arbeit war die Bestimmung des Einflusses von Hydrophobie und Struktur biologischer und technischer Oberflächen auf die Adhäsion von Pilzsporen und technischen Partikeln. Hierfür wurden mittels Rasterkraftmikroskop die Adhäsionskräfte von Sporen der Pilze *Alternaria alternata* und *Pyricularia oryzae* sowie von Glas- und Polystyrenkugeln gemessen. Als Oberflächen dienten polierte bzw. definiert strukturierte Siliziumoberflächen mit und ohne Hydrophobierung, sowie die Oberseiten der Blätter von Reis (*Oryza sativa*) und Zuckerrübe (*Beta vulgaris* subsp. *vulgaris*). Auf den technischen Oberflächen ließ sich weder bei der Messung mit Pilzsporen noch der mit Glas- bzw. Polystyrenpartikeln ein signifikanter Einfluss der Struktur auf die Adhäsionskräfte nachweisen. Lediglich die Hydrophobie zeigte z. T. einen signifikanten Einfluss. Die Messungen mit den Pilzsporen auf biologischen Oberflächen ergaben aussagekräftige Ergebnisse. Bei beiden Sporenarten waren die Adhäsionskräfte auf dem strukturierten Reisblatt signifikant niedriger als auf dem glatten Zuckerrübenblatt. Bei den technischen Partikeln zeigte sich erneut kein signifikanter Unterschied in den Adhäsionskräften. Die teilweise uneinheitlichen Ergebnisse sind vermutlich auf variierende Umweltbedingungen (Temperatur, Luftfeuchte) zurückzuführen. Dabei ist anzumerken, dass insbesondere die Luftfeuchte einen erheblichen Einfluss auf die Adhäsionskraft haben kann.

Insgesamt bleibt festzuhalten, dass mit der vorliegenden Arbeit erstmals gezeigt werden konnte, welchen Einfluss Eigenschaften wie Superhydrophobie, Selbstreinigung (Lotus-Effect®) und Photokatalyse auf den Bewuchs von Oberflächen mit Pilzen haben.

## 7 Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. Wilhelm Barthlott für die Betreuung der vorliegenden Arbeit und seine stete Diskussionsbereitschaft. Herr Barthlott hat durch seine Diskussionsbereitschaft und konstruktive Kritik, sowie hilfreiche Ratschläge sehr zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen.

Frau PD Dr. Kerstin Koch bin ich für die Übernahme des Korreferates und für zahlreiche kritische Hinweise insbesondere in der Endphase der Arbeit zu großem Dank verpflichtet.

Bei Herrn PD Dr. Helmut Schmitz und Herrn Prof. Dr. Thomas Litt bedanke ich mich für die Bereitschaft als Gutachter dieser Arbeit zu fungieren.

Herrn Zdenek Cerman danke ich für die vielen konstruktiven Rat- und Vorschläge sowie fruchtbare Diskussionen, die den Fortgang der Arbeit sehr positiv beeinflusst haben.

Herrn Dr. Andreas Solga bin ich sehr dankbar für seine Unterstützung in Fragen der Statistik sowie für kritische Anmerkungen zum Manuskript.

Bedanken möchte ich mich auch bei der gesamten Arbeitsgruppe Bionik. Die stets freundschaftliche Atmosphäre in der Gruppe half über schwierige Phasen hinweg und machte die Arbeit am Institut sehr angenehm. Namentlich seien hier Boris Striffler und Henning Immink genannt.

Stellvertretend für die „1. Etage“ möchte ich Rose Pretscher meinen Dank für die gute Zusammenarbeit aussprechen.

Eine wichtige Voraussetzung für die Durchführung der Dissertation war die finanzielle Förderung durch die Deutsche Bundesstiftung Umwelt und das Bundesministerium für Bildung und Forschung, sowie die Akademie der Wissenschaften und der Literatur, Mainz.

Zum Schluss seien noch die Menschen genannt, die mir persönlich nahe stehen und mich auf dem langen Weg bis zur Beendigung der Arbeit begleitet haben. Ohne die

fortwährende Unterstützung meiner Eltern in jeder Hinsicht während meines gesamten Studiums wäre diese Dissertation niemals zustande gekommen. Meine Frau Elena Spaeth war mir, besonders in Zeiten großer Herausforderungen und Schwierigkeiten ein großer Rückhalt. Außerdem hat sie durch steten Zuspruch und Motivation erheblich zum Abschluss dieser Arbeit beigetragen. Dafür bin ich ihr von Herzen dankbar. Ihr und meinen Eltern möchte ich deshalb meinen innigen Dank aussprechen und diese Arbeit widmen.

## 8 Literatur

- ABELLANA, M., BENEDI, J., SANCHIS, V. & RAMOS, A.J. (1999): Water activity and temperature effects on germination and growth of *Eurotium amstelodami*, *E. chevalieri* and *E. herbariorum* isolates from bakery products. *Journal of Applied Microbiology* 87, 371 - 380.
- AGRIOS, G.N. (1997): *Plant Pathology*. San Diego: Academic Press, 635.
- AMIRI, A., CHOLODOWSKI, D. & BOMPEIX, G. (2005): Adhesion and germination of waterborne and airborne conidia of *Penicillium expansum* to apple and inert surfaces. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 67, 40 - 48.
- ARCHER, K. & LEBOW, S. (2006): Wood Preservation. In: Wlaker, J.C.F., ed. *Primary Wood Processing*. Dordrecht: Springer.
- BARTELS, S., KARCHER, R. & NAGEL, S., eds. (1999): *Lexikon der Chemie: 2. Band*. Heidelberg: Spektrum Akademischer Verlag, 475.
- BARTHLOTT, W. (1998): Selbstreinigende Oberflächen von Gegenständen sowie Verfahren zur Herstellung derselben. Deutschland: EP 0 772 514 B1, 5.
- BARTHLOTT, W. & EHLER, N. (1977): Raster-Elektronenmikroskopie der Epidermis-Oberflächen von Spermatophyten. *Tropische und Subtropische Pflanzenwelt* 19, 367 - 467.
- BARTHLOTT, W. & NEINHUIS, C. (1997): Purity of the sacred lotus, or escape from contamination in biological surfaces. *Planta* 202, 1 - 8.
- BARTNICKI-GARCIA, S., PERSSON, J. & CHANZY, H. (1994): An Electron Microscope and Electron Diffraction Study of the Effect of Calcofluor and Congo Red on the Biosynthesis of Chitin *in Vitro*. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 310 (1), 6 - 15.
- BECKER, E.W. (1994): *Microalgae - Biotechnology and Microbiology*. Cambridge: Cambridge University Press, 293.
- BEECH, I.B. & SUNNER, J. (2004): Biocorrosion: towards understanding interactions between biofilms and metals. *Current Opinion in Biotechnology* 15, 181 - 186.

- BENTO, F.M. & GAYLARDE, C.C. (2001): Biodeterioration of stored diesel oil: studies in Brazil *International Biodeterioration & Biodegradation* 47 (2), 107 - 112.
- BERNER, M. & PETERSEN, K. (1992): Mikroorganismen auf Wandmalereien. *Restaura* 21 (3), 56 - 75.
- BHATKHANDI, D.S., PANGARKAR, V.G. & BEENACKERS, A.A. (2001): Photocatalytic degradation for environmental applications – a review. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* 77, 102 - 116.
- BHUSHAN, B. & JUNG, Y.C. (2006): Micro- and nanoscale characterization of hydrophobic and hydrophilic leaf surfaces. *Nanotechnology* 17 (11), 2758 - 2772.
- BIGGS, S., CAIN, R.G., DAGASTINE, R.R. & PAGE, N.W. (2002): Direct measurements of the adhesion between a glass particle and a glass surface in a humid atmosphere. *Journal of Adhesion Science and Technology* 16 (7), 869 - 885.
- BLAICH, J. & RASCHLE, P. (1999): Algen auf Fassaden. In: Blaich, J., ed. *Bauschäden - Analyse und Vermeidung*. Stuttgart: Fraunhofer IRB-Verl., 208 - 212.
- BOE-HANSEN, R., ALBRECHTSEN, H.-J., ARVIN, E. & JØRGENSEN, C. (2002): Bulk water phase and biofilm growth in drinking water at low nutrient conditions. *Water Research* 36, 4477 - 4486.
- BOWEN, W.R., LOVITT, R.W. & WRIGHT, C.J. (2000): Direct quantification of *Aspergillus niger* spore adhesion in liquid using an atomic force microscope. *Journal of Colloid and Interface Science* 228, 428 - 433.
- BOWEN, W.R., LOVITT, R.W. & WRIGHT, C.J. (2001): Atomic Force Microscopy Study of the Adhesion of *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of Colloid and Interface Science* 237 (1), 54 - 61.
- BRAVERY, A.F. (1988): Biodeterioration of paint - a state-of-the-art comment. In: Houghton, D.R., Smith, R.N., Eggins, H.O.W., eds. *Biodeterioration*, Vol. 7. Barking: Elsevier Applied Science, 466 - 485.
- BRILL, H. (1995): Allgemeine Schutzmaßnahmen gegen biogene Materialzerstörung. In: Brill, H., ed. *Mikrobielle Materialzerstörung und Materialschutz*. Jena: Gustav Fischer Verlag, 279 - 286.

- BÜCHLI, R. & RASCHLE, P. (2006): *Algen und Pilze an Fassaden - Ursachen und Vermeidung*. Stuttgart: Fraunhofer IRB Verlag, 109.
- BURTON, Z. & BHUSHAN, B. (2006): Surface characterization and adhesion and friction properties of hydrophobic leaf surfaces. *Ultramicroscopy* 106 (8-9), 709 - 719.
- BUSSCHER, H.J., VAN PELT, A.W.J., DE BOER, P., DE JONG, H.P. & ARENDS, J. (1984): The effect of surface roughening of polymers on measured contact angles of liquids. *Colloids and Surfaces* 9, 319-331.
- BUTT, H.-J., CAPPELLA, B. & KAPPL, M. (2005): Force measurements with the atomic force microscope: Technique, interpretation and applications. Mainz; Berlin: Max-Planck-Institute for Polymer Research; Federal Institute for Material Research and Testing, 152.
- BUTT, T.M. (1987): A Fluorescence Microscopy Method for the Rapid Localization of Fungal Spores and Penetration Sites on Insect Cuticle. *JOURNAL OF INVERTEBRATE PATHOLOGY* 50, 72 - 74.
- BUTT, T.M., HOCH, H.C., STAPLES, R.C. & LEGER, R.J.S. (1989): Use of Fluorochromes in the Study of Fungal Cytology and Differentiation. *Experimental Mycology* 13, 303 - 320.
- BUTT, T.M., WANG, C., SHAH, F.A. & HALL, R. (2006): Degeneration of Entomogenous Fungi. In: Eilenberg, J., Hokkanen, H.M.T., eds. *An Ecological and Societal Approach to Biological Control*. Dordrecht, Niederlande: Springer, 213 - 226.
- CASANUEVA-ROBLES, T. & BOTT, T.R. (2005): The Environmental Effect of Heat Exchanger Fouling - A Case Study. In: Müller-Steinhagen, H., Malayeri, M.R., Watkinson, A.P., eds. *6th International Conference on Heat Exchanger Fouling and Cleaning*, Vol. RP2. Kloster Irsee, Germany: The Berkeley Electronic Press, 278 - 282.
- CASSIE, A.B.D. & BAXTER, S. (1944): Wettability of porous surfaces. *Transactions of the Faraday Society* 40, 546 - 551.
- CERMAN, Z., STOSCH, A. K. & BARTHLOTT, W. (2004): Der Lotus-Effekt®. *Biologie in unserer Zeit* 34, 290 - 296
- CERMAN, Z. (2007): Superhydrophobie und Selbstreinigung: Wirkungsweise, Effizienz und Grenzen bei der Abwehr von Mikroorganismen. *Dissertation*,

Mathematisch-Naturwissenschaftliche Fakultät, Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn, 359

- CHAMBERLAIN, A.C. (1967a): Deposition of particles to natural surfaces. In: Gregory, P.H., Monteith, J.L., eds. *Airborne Microbes. 17th Symposium of the Society for general Microbiology*. London: Cambridge University Press, 138 - 164.
- CHAMBERLAIN, A.C. (1967b): Transport of Lycopodium Spores and Other Small Particles to Rough Surfaces. *Proceedings of the Royal Society London. Series A 296 (1444)*, 45 - 70.
- CLEAVER, J.A.S. & TYRRELL, J.W.G. (2004): The Influence of Relative Humidity on Particle Adhesion – a Review of Previous Work and the Anomalous Behaviour of Soda-lime Glass. *KONA* 22, 9 - 22.
- COONEY, D.G. & EMERSON, R. (1964): *Thermophilic Fungi*. San Francisco: Freeman
- COSTERTON, J.W., LEWANDOWSKI, Z., CALDWELL, D.E., KORBER, D.R. & LAPPIN-SCOTT, H.M. (1995): Microbial Biofilms. *Annual review of microbiology* 49, 711 - 745.
- COSTERTON, J.W., CHENG, K.-J., GEESEY, G.G., LADD, T.I., NICKEL, J.C., DASGUPTA, M. & MARRIE, T.J. (1987): Bacterial biofilms in nature and disease. *Annual review of microbiology* 41, 435 - 464.
- CZAJA, A.T. (1962): Über das Problem der Zementstaubwirkung auf Pflanzen. *Staub* 22, 228 - 232.
- CZAJA, A.T. (1966): Über die Einwirkung von Stäuben, speziell von Zementofenstaub auf Pflanzen. *Angewandte Botanik* 40, 106 - 120.
- DANNECKER, W. & SELKE, K. (1989): Simultanbestimmung organischer und anorganischer Anionen aus verwitterten Natursteinoberflächen mittels Gradienten-Ionen-Chromatographie. *Fresenius' Zeitschrift für analytische Chemie* 335, 966 - 970.
- DARKEN, M.A. (1961): Applications of fluorescent brighteners in biological techniques. *Science* 133, 1704 - 1705.
- DE LA TORRE, M.A., GOMEZ-ALARCON, G., MELGAREJO, P. & SAIZ-JIMENEZ, C. (1991): Fungi in weathered sandstone from Salamanca cathedral, Spain. *The science of the total environment* 107, 159 - 168.

- DEACON, J.W. (2006): *Fungal Biology*. Oxford: Blackwell Publishing, 371.
- DEUTSCHES INSTITUT FÜR NORMUNG (1999): E-DIN 4108: Wärmeschutz und Energie-Einsparung in Gebäuden. Teil x: Vermeidung von Schimmelpilzen. Berlin: Beuth Verlag.
- DEXTER, S.C., ed. (1986): *Biologically induced corrosion*. Houston, Texas: National Assoc. of Corrosion Engineers, 363.
- DIERSCHKE, H. (1994): *Pflanzensoziologie: Grundlagen und Methoden*. Stuttgart: Ulmer, 683.
- DONLAN, R.M. & COSTERTON, J.W. (2002): Biofilms: Survival Mechanisms of Clinically Relevant Microorganisms. *Clinical Microbiological Reviews* 5 (2), 167 - 193.
- DOSS, R.P., POTTER, S.W., CHASTAGNER, G.A. & CRISTIAN, J.K. (1993): Adhesion of Nongerminated *Botrytis cinerea* Conidia to Several Substrata. *Applied and environmental microbiology* 59 (6), 1786 - 1791.
- DOSS, R.P., POTTER, S.W., SOELDNER, A.H., CHRISTIAN, J.K. & FUKUNAGA, L.E. (1995): Adhesion of Germlings of *Botrytis cinerea*. *Applied and environmental microbiology* 61 (1), 260 - 265.
- DUFRENE, Y.F., BOONAERT, C.J.P., GERIN, P.A., ASTHER, M. & ROUXHET, P.G. (1999): Direct probing of the surface ultrastructure and molecular interactions of dormant and germinating spores of *Phanerochaete chrysosporium*. *Journal of bacteriology* 181 (17), 5350 - 5354.
- DUFRENE, Y.F., BOONAERT, C.J.P., VAN DER MEI, H.C., BUSSCHER, H.J. & ROUXHET, P.G. (2001): Probing molecular interactions and mechanical properties of microbial cell surfaces by atomic force microscopy. *Ultramicroscopy* 86, 113 - 120.
- DUPUIS, A. & YEOMANS, J.M. (2005): Modelling droplets on superhydrophobic surfaces: equilibrium states and transitions. *Langmuir* 21 (6), 2624 - 2629.
- EASTMAN, T. & ZHU, D.-M. (1996): Adhesion Forces between Surface-Modified AFM Tips and a Mica Surface. *Langmuir* 12, 2859 - 2862.
- ECKHARDT, F.E.W. (1985): Solubilization, transport and deposition of mineral cations by microorganisms - efficient rock weathering agents. In: Drever, J.I., ed. *The*

- Chemistry of Weathering*, Vol. Ser. C ; 149. Dordrecht: D. Reidel Publishing Company, 161 - 173.
- ECKHARDT, F.E.W., ed. (1991): *Bakterien, Pilze und Algen als Verwitterungsfaktoren für Denkmale aus Stein und mineralische Baustoffe*. Hannover: Vereinigung der Landesdenkmalpfleger in der Bundesrepublik Deutschland, 28 - 30.
- ELLER, B.M. (1977): Road dust induced increase of leaf temperature. *Environmental Pollution* 13, 99 - 107.
- ELORZA, M.V., RICO, H. & SENTANDREU, R. (1983): Calcofluor white alters the assembly of chitin fibrils in *Saccharomyces cerevisiae* and *Candida albicans* cells. *Journal of general microbiology* 129 (5), 1577 - 1582.
- ENSIKAT, H.-J. & BARTHLOTT, W. (1993): Liquid substitution: a versatile procedure for SEM specimen preparation of biological materials without drying or coating. *Journal of Microscopy* 172 (3), 195 - 203.
- ERIKSSON DE REZENDE, C.L., JOSEPH, S.W., TEICHER, E., CARR, L.E., TALL, B. & WEINER, R.M. (2003): Calcofluor as a fluorescent probe to detect biofilms of foodborne pathogens. *Journal of Food Safety* 23, 25 - 33.
- Europäisches PARLAMENT (1998): Richtlinie 98/8/EG des Europäischen Parlaments und des Rates vom 16. Februar 1998 über das Inverkehrbringen von Biozid-Produkten. *Amtsblatt der Europäischen Gemeinschaften* 41 (L 123), 1 - 63.
- FALBE, J. & REGITZ, M., eds. (1998): *Römpp Lexikon Chemie: 4. Band*. Stuttgart: Georg Thieme Verlag, 3368.
- FENG, L., LI, S., LI, Y., LI, H., ZHANG, L., ZHAI, J., SONG, Y., LIU, B., JIANG, L. & ZHU, D. (2002): Super-hydrophobic surfaces: from natural to artificial. *Advanced Materials* 14 (24), 1857 - 1860.
- FITT, B.D.L., MCCARTNEY, H.A. & WALKLATE, P.J. (1989): The Role of Rain in Dispersal of Pathogen Inoculum. *Annual Review of Phytopathology* 27, 241 - 270.
- FLEMMING, H.-C. (1995): Auswirkungen mikrobieller Materialzerstörung. In: Brill, H., ed. *Mikrobielle Materialzerstörung und Materialschutz*. Jena: Gustav Fischer Verlag, 15 - 23.

- FLÜCKIGER, W., OERTLI, J.J. & FLÜCKIGER, H. (1979): Relationship between stomatal diffusive resistance and various applied particle sizes on leaf surfaces. *Zeitschrift für Pflanzenphysiologie* 91, 173 - 175.
- FLÜCKIGER, W., FLÜCKIGER-KELLER, H., OERTLI, J.J. & GUGGENHEIM, R. (1977): Verschmutzung von Blatt- und Nadeloberflächen im Nahbereich einer Autobahn und deren Einfluß auf den stomatären Diffusionswiderstand. *European Journal of Forest Pathology* 7, 358 - 364.
- FOX, M.A. & DULAY, M.T. (1993): Heterogeneous Photocatalysis. *Chemical reviews* 93, 341 - 357.
- FRIES, N. (1973): Effects of volatile organic compounds on the growth and development of fungi. *Trans. Br. mycol. Soc.* 60 (1), 1 - 21.
- FUJISHIMA, A., HASHIMOTO, K. & WATANABE, T. (1999): *TiO<sub>2</sub> Photocatalysis - Fundamentals and Applications*. Tokio: BKC Inc., 176.
- FÜRSTNER, R., BARTHLOTT, W., NEINHUIS, C. & WALZEL, P. (2005): Wetting and self-cleaning properties of artificial superhydrophobic surfaces. *Langmuir* 21 (3), 956 - 961.
- GABRIO, T. (2004): Natürliche Hintergrundkonzentrationen von Schimmelpilzen in der Umwelt. *Fachgespräch Mikroorganismen in der Umgebung von Bioabfallbehandlungsanlagen*. Bonn: Bundesministerium für Umwelt, Naturschutz und Reaktorsicherheit.
- GAYLARDE, C.C. & GAYLARDE, P.M. (2000): Biodeterioration of external painted walls and its control. *First RILEM Workshop on Microbial Impacts on Building Materials*. Sao Paulo, Paper No. 4.
- GAYLARDE, C.C., RIBAS SILVA, M. & WARSCHIED, T. (2003): Microbial impact on building materials: an overview. *Materials and Structures* 36, 342 - 352.
- GEESEY, G.G. (1991): What is biocorrosion ? In: Flemming, H.-C., Geesey, G.G., eds. *Biofouling and biocorrosion in industrial water systems : proceedings of the International Workshop on Industrial Biofouling and Biocorrosion, Stuttgart, September 13 - 14, 1990*. Berlin, Heidelberg: Springer, 220.

- GÓMEZ-ALARCÓN, G., MUÑOZ, M.L. & FLORES, M. (1994): Excretion of Organic Acids by Fungal Strains Isolated from Decayed Sandstone. *International Biodeterioration & Biodegradation* 34 (2), 169 - 180.
- GOODEVE, C.F. & KITCHENER, J.A. (1938): The mechanism of photosensitisation by solids. *Transactions of the Faraday Society* 34, 902 - 908.
- GRACE, J. & COLLINS, M.A. (1976): Spore liberation from leaves by wind. In: Dickinson, C.H., Preece, T.F., eds. *Microbiology of aerial plant surfaces*: Academic Press, 185 - 198.
- GRANT, C. (1982): Fouling of terrestrial substrates by algae and implications for control. *International Biodeterioration Bulletin* 18, 57 - 65.
- GREEN, F. & KUSTER, T., A. (1999): Targeted Inhibition of Wood Decay Fungi: Degradation of Cotton Cellulose. *30th Annual Meeting of the International Research Group on Wood Preservation*. Rosenheim, Germany: IRG Secretariat, Stockholm.
- GRIFFIN, D.W. (2004): Terrestrial microorganisms at an altitude of 20,000 m in Earth's atmosphere. *Aerobiologia* 20, 135 - 140.
- GRIFFIN, D.W., KELLOGG, C.A., GARRISON, V.H., LISLE, J.T., BORDEN, T.C. & SHINN, E.A. (2003): Atmospheric microbiology in the northern Caribbean during African dust events. *Aerobiologia* 19, 143 - 157.
- GROOMBRIDGE, B. & JENKINS, M.D. (2002): *World Atlas of Biodiversity*. Berkeley: University of California Press, 368
- GU, J.-D., FORD, T.E., BERKE, N.S. & MITCHELL, R. (1998): Biodeterioration of concrete by the fungus *Fusarium*. *International Biodeterioration & Biodegradation* 41 (2), 101 - 109.
- HAIGLER, C.H., BROWN, R.M. & BENZIMAN, M. (1980): Calcofluor White ST Alters the in vivo Assembly of Cellulose Microfibrils. *Science* 210 (4472), 903 - 906.
- HALIM, F. & BARRINGER, S.A. (2007): Electrostatic adhesion in food. *Journal of Electrostatics* 65, 168 - 173.

- HAMER, J.E., HOWARD, R.J., CHUMLEY, F.G. & VALENT, B. (1988): A Mechanism for Surface Attachment in Spores of a Plant Pathogenic Fungus. *Science* 239 (4837), 288 - 290.
- HAMMEL, K.E. (1997): Fungal Degradation of Lignin. In: Cadisch, G., Giller, K.E., eds. *Driven by Nature: Plant Litter Quality and Decomposition*. Wallingford: CAB International, 434.
- HANSEN, W.R. & AUTUMN, K. (2005): Evidence for self-cleaning in gecko setae. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 102 (2), 385 - 389.
- HANSKI, I. (1989): Fungivory: fungi, insects and ecology. In: Wilding, N., Collins, N.M., Hammond, P.M., Webber, J.F., eds. *Insect Fungus Interactions*. London: Academic Press, 25 - 68.
- HASHIMOTO, K., IRIE, H. & FUJISHIMA, A. (2005): TiO<sub>2</sub> Photocatalysis: A Historical Overview and Future Prospects. *Japanese Journal of Applied Physics* 44 (12), 8269 - 8285.
- HAWKSWORTH, D.L. & KALIN-ARROYO, M.T. (1995): Magnitude and Distribution of Biodiversity. In: Heywood, V.H., ed. *Global Biodiversity Assessment*. Cambridge: Cambridge University Press, 105 - 191.
- HEGEDUS, D.D., BIDOCHKA, M.J., MIRANPURI, G.S. & KHACHATOURIANS, G.G. (1992): A comparison of the virulence, stability and cell-wall-surface characteristics of three spore types produced by the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*. *Applied Microbiology and Biotechnology* 36, 785 - 789.
- HEGNER, H.-D. (2007): EnEV 2002/2004/2007 ... 2008? Dynamik ohne Ende – Strategien und Perspektiven der Zukunft. *Bau 2007*. Berlin: Deutsche Energie-Agentur GmbH, 1 - 16.
- HEITZ, E. (1989): Metallische Werkstoffe. In: Schweisfurth, R., Heitz, E., eds. *Mikrobiologische Materialzerstörung und Materialschutz*. Frankfurt am Main: DECHEMA, 58 - 70.
- HEITZ, E., FLEMMING, H.-C. & SAND, W. (1996): Introduction. In: Heitz, E., Flemming, H.-C., Sand, W., eds. *Microbially influenced corrosion of materials: scientific and engineering aspects*. Berlin, Heidelberg, New York: Springer, 1 - 2.

- HERMINGHAUS, S. (2000): Roughness-induced non-wetting. *Europhysics Letters* 52 (2), 165 - 170.
- HERTH, W. (1980): Calcofluor White and Congo Red Inhibit Chitin Microfibril Assembly of *Poteroochromonas*: Evidence for a Gap between Polymerization and Microfibril Formation. *Journal of Cell Biology* 87, 442 - 450.
- HEUBNER, U. (2000): Mikrobiologisch beeinflusste Korrosion nichtrostender Stähle und ihre Vermeidung. *Chemie Ingenieur Technik* 72, 1439 - 1444.
- HOCH, H.C., GALVANI, C.D., SZAROWSKI, D.H. & TURNER, J.N. (2005): Two new fluorescent dyes applicable for visualization of fungal cell walls. *Mycologia* 97 (3), 580 - 588.
- HOFBAUER, W.K., BREUER, K. & SEDLBAUER, K. (2003): Algen, Flechten, Moose und Farne auf Fassaden. *Bauphysik* 25, 383 - 396.
- HOWARD, R.J., FERRARI, M.A., ROACH, D.H. & MONEY, N.P. (1991): Penetration of hard substrates by a fungus employing enormous turgor pressures. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America (PNAS)* 88, 11281 - 11284.
- HUECK, H.J. (1965): The biodeterioration of materials as part of hylobiology. *Material und Organismen* 1 (1), 5 - 34.
- HUECK, H.J. (1969): The biodeterioration of materials - an appraisal. *International Biodeterioration & Biodegradation* 48, 5 - 11.
- HUGHES, J. & McCULLY, M.E. (1975): The use of an optical brightener in the study of plant structure. *Stain Technology* 50 (5), 319 - 329.
- IMSHENETSKY, A.A., LYSENKO, S.V. & KAZAKOV, G.A. (1978): Upper Boundary of the Biosphere. *Applied and environmental microbiology* 35 (1), 1 - 5.
- JACOBY, W.A., MANESS, P.C., WOLFRUM, E.J., BLAKE, D.M. & FENNELL, J.A. (1998): Mineralization of Bacterial Cell Mass on a Photocatalytic Surface in Air. *Environmental science & technology* 32 (17), 2650 - 2653.
- JANSHOFF, A., NEITZERT, M., OBERDÖRFER, Y. & FUCHS, H. (2000): Kraftspektroskopie an molekularen Systemen - Einzelmolekülspektroskopie an Polymeren und Biomolekülen. *Angewandte Chemie* 112, 3346 - 3374.

- JAY, J.M. (2005): Intrinsic and Extrinsic Parameters of Food That Affect Microbial Growth. In: Jay, J.M., ed. *Modern Food Microbiology*. New York: Springer, 39 - 59.
- JEANMOUQUIN, M. & CIVATTE, J. (1987): Dosimetry of solar ultraviolet radiation. Daily and monthly changes in Paris. *Annales de dermatologie et de vénéréologie* 114 (5), 671 - 676.
- JOHNSON, K.E., POMETTO, A.L. & NIKOLOV, Z.L. (1993): Degradation of Degradable Starch-Polyethylene Plastics in a Compost Environment. *Applied and environmental microbiology* 59 (4), 1155 - 1161.
- JONES, R., POLLOCK, H.M., CLEAVER, J.A.S. & HODGES, C.S. (2002): Adhesion Forces between Glass and Silicon Surfaces in Air Studied by AFM: Effects of Relative Humidity, Particle Size, Roughness, and Surface Treatment. *Langmuir* 18, 8045 - 8055.
- JOPP, J., GRÜLL, H. & YERUSHALMI-ROZEN, R. (2004): Wetting behavior of water droplets on hydrophobic microtextures of comparable size. *Langmuir* 20, 10015 - 10019.
- KAISER, J.-P., TRÜMLER, S. & RASCHLE, P. (1994): Mikrobielle Werkstoffzerstörung - Simulation, Schadensfälle und Gegenmaßnahmen für anorganische nichtmetallische Werkstoffe: Wachstum von *Taeniolina deightonii* auf mittelalterlichen Gläsern. *Materials and Corrosion* 45 (2), 125 - 127.
- KAPPL, M. & BUTT, H.-J. (2002): The Colloidal Probe Technique and its Application to Adhesion Force Measurements. *Particle & Particle Systems Characterization* 19 (3), 129 - 143.
- KASTIEN, H.K. (1999): Algen und Pilze an mineralischen Fassaden. *Fassade* 8 (10-11), 57 - 62.
- KENNEDY, M.J. (1988): Adhesion and association mechanisms of *Candida albicans*. In: McGinnis, M.R., ed. *Current topics in medical mycology*, Vol. 2. New York: Springer, 73 - 169.
- KERN, W. (1990): The Evolution of Silicon Wafer Cleaning Technology. *Journal of the Electrochemical Society* 137 (6), 1887 - 1892.

- KIRK, P.M., CANNON, P.F., DAVID, J.C. & STALPERS, J.A., eds. (2001): *Ainsworth & Bisby's Dictionary of the Fungi*. Wallingford: CABI Publishing, 655.
- KNAPP, H.F., TAMI, A., BRUNNER, M. & STEMMER, A. (1998): Hydrophobic Surface Coatings on Tools Used for Handling of Micro-Particles. *4th International Conference on Motion and Vibration Control*. Zürich.
- KÖHLER, W., SCHACHTEL, G. & VOLESKE, P. (2002): *Biostatistik*. Berlin: Springer Verlag, 301.
- KRUMBEIN, W.E. & PETERSEN, K. (1990): Mikroorganismen beschleunigen den Zerfall mittelalterlicher Wandgemälde. *Arbeitshefte zur Denkmalpflege in Niedersachsen* 8 (Schäden an Wandmalereien und ihre Ursachen), 115 - 121.
- KRUMBEIN, W.E., BODE-WARSCHEID, K., BRAAMS, J., CHAMIER, B., GEHRMANN, K., GROTE, G., GROSS, M., LAU, R., SCHOSTAK, V., PETERSEN, K., WARSCHEID, T., GRÜNDGEN, E., PILZEN, M. & SCHULTE, A. (1992): Mikrobiologie an Natursteinmonumenten - Schadenspotential, Wechselwirkung mit Behandlungen. 39 - 66.
- KÜNZEL, H.M. & FITZ, C. (2006): Bauphysikalische Eigenschaften und Beanspruchung von Putzoberflächen und Anstrichstoffen. *Hindelanger Baufachkongress*, Vol. 28. Hindelang: Wissenschaftlich-Technische Arbeitsgemeinschaft für Bauwerkserhaltung und Denkmalpflege e.V., 49 - 72.
- LAFUMA, A. & QUÉRÉ, D. (2003): Superhydrophobic states. *Nature Materials* 2, 457-460.
- LEAHY, J.G. & COLWELL, R.R. (1990): Microbial Degradation of Hydrocarbons in the Environment. *Microbiological Reviews* 54 (3), 305 - 315.
- LI, S., LI, H., WANG, X., SONG, Y., LIU, Y., JIANG, L. & ZHU, D. (2002): Superhydrophobicity of large-area honeycomb-like aligned carbon nanotubes. *The journal of physical chemistry B* 106, 9274 - 9276.
- LI, X.-M., REINHOUDT, D. & CREGO-CALAMA, M. (2007): What do we need for a superhydrophobic surface? A review on the recent progress in the preparation of superhydrophobic surfaces. *Chemical Society Reviews* 36, 1350 - 1368.
- LIN, C.-Y. & LI, C.-S. (2003): Inactivation of Microorganisms on the Photocatalytic Surfaces in Air. *Aerosol Science and Technology* 37, 939 - 946.

- LINSEBIGLER, A.L., LU, G. & YATES, J.T. (1995): Photocatalysis on TiO<sub>2</sub> Surfaces: Principles, Mechanisms, and Selected Results. *Chemical reviews* 95, 735 - 758.
- LIU, K.-K. (2006): Deformation behaviour of soft particles: a review. *Journal of Physics D: Applied Physics* 39, R189 - R199.
- LUDLAM, R.H. (1967): Circulation of air, water and particles in the troposphere. In: Gregory, P.H., Monteith, J.L., eds. *Airborne Microbes. 17th Symposium of the Society for general Microbiology*. London: Cambridge University Press, 1 - 17.
- LUNDGREN, D.G. (1989): Biotic and abiotic release of inorganic substances exploited by bacteria. In: Pointdexter, J.S., Leadbetter, E.R., eds. *Bacteria in nature*, Vol. 3: Structure, physiology and genetic adaptability. New York: Plenum Press, 293 - 335.
- LYON, F.L. & EVERSMEYER, M.G. (1984): Variation of airspora in the atmosphere due to weather conditions. *Grana* 23, 177 - 181.
- MACHIDA, M., NORIMOTO, K. & KIMURA, T. (2005): Antibacterial Activity of Photocatalytic Titanium Dioxide Thin Films with Photodeposited Silver on the Surface of Sanitary Ware. *Journal of the American Ceramic Society* 88 (1), 95 - 100.
- MAEDA, H. & ISHIDA, N. (1967): Specificity of Binding of Hexopyranosyl Polysaccharides with Fluorescent Brightener. *The Journal of Biochemistry* 62 (2), 276 - 278.
- MAHESHWARI, R., BHARADWAJ, G. & BHAT, M.K. (2000): Thermophilic Fungi: Their Physiology and Enzymes. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 64 (3), 461 - 488.
- MATSUNAGA, T., TOMODA, R., NAKAJIMA, T. & WAKE, H. (1985): Photoelectrochemical sterilization of microbial cells by semiconductor powders. *FEMS Microbiology Letters* 29, 211 - 214.
- MAZURKEVICH, Y.S. & KOBASA, I.M. (2001): ZrO<sub>2</sub> – TiO<sub>2</sub> Materials. *Inorganic Materials* 37 (12), 1505 - 1509.
- MCCULLAGH, C., ROBERTSON, J.M.C., BAHNEMANN, D.W. & ROBERTSON, P.K.J. (2007): The application of TiO<sub>2</sub> photocatalysis for disinfection of water contaminated

- with pathogenic micro-organisms: a review. *Research on Chemical Intermediates* 33 (3), 359 - 375.
- MENDGEN, K., HAHN, M. & DEISING, H. (1996): Morphogenesis and mechanisms of penetration by plant pathogenic fungi. *Annual Review of Phytopathology* 34, 367 - 386.
- MENGE, D. (2002): Biozidemissionen aus Dach- und Fassadenfarben. *Jahresbericht 2001*. Essen: Landesumweltamt Nordrhein-Westfalen, 132.
- MERCURE, E.W., LEITE, B. & NICHOLSON, R.L. (1994): Adhesion of ungerminated conidia of *Colletotrichum graminicola* to artificial hydrophobic surfaces. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 45, 421 - 440.
- MESSAL, C. & GERBER, T. (1998): Biodeterioration an oxidischen Gläsern: Teil I: Glaspest an Mecklenburger Waldgläsern als Spezialfall der Biodeterioration an oxidischen Gläsern. *Materials and Corrosion* 49, 870 - 876.
- MIWA, M., NAKAJIMA, A., FUJISHIMA, A., HASHIMOTO, K. & WATANABE, T. (2000): Effects of the Surface Roughness on Sliding Angles of Water Droplets on Superhydrophobic Surfaces. *Langmuir* 16 (13), 5754 - 5760.
- MOLDENHAUER, J. (2005): Rechtzeitig kontrollieren - Blattkrankheiten in Zuckerrüben bekämpfen. *Agravis aktuell* 3/05, 16.
- MONHEIT, J.E., COWAN, D.F. & MOORE, D.G. (1984): Rapid detection of fungi in tissues using calcofluor white and fluorescence microscopy. *Archives of pathology and laboratory medicine* 108, 616 - 618.
- MORRIS, G.J. & CLARKE, A. (1987): Cells at low Temperature. In: Grout, B.W.W., Morris, G.J., eds. *The Effects of Low Temperatures on Biological Systems*. London: Edward Arnold, 72.
- MÜCKE, W. & LEMMEN, C. (2000): *Schimmelpilze: Vorkommen, Gesundheitsgefahren, Schutzmaßnahmen*. Landsberg: ecomed, 192.
- MÜLLER, E. & LOEFFLER, W. (1992): *Mykologie*. Stuttgart: Thieme, 367
- NABORS, M.N. (2004): *Introduction to Botany*. San Francisco: Pearson Education, 656.

- NAY, M. & RASCHLE, P. (2002): Wie lassen sich Algen und Pilze an Fassaden verhindern? *12. Schweizerisches Status-Seminar 2002 - Energie- und Umweltforschung im Bauwesen*. Zürich: EMPA, 131 - 138.
- NEINHUIS, C. & BARTHLOTT, W. (1997): Characterization and distribution of water-repellent, self-cleaning plant surfaces. *Annals of Botany* 79, 667 - 677.
- NEINHUIS, C. & BARTHLOTT, W. (1998): Seasonal changes of leaf surface contamination in beech, oak and ginkgo in relation to leaf micromorphology and wettability. *New Phytologist* 138, 91 - 98.
- NIELSEN, K.A., NICHOLSON, R.L., CARVER, T.L.W., KUNOH, H. & OLIVER, R.P. (2000): First touch: an immediate response to surface recognition in conidia of *Blumeria graminis*. *Physiol. Mol. Pl. Pathol.* 56, 63 - 70.
- NUN, E., OLES, M. & SCHLEICH, B. (2002): Lotus-Effect<sup>®</sup>-surfaces. *Macromolecular Symposia* 187, 677 - 682.
- O'BRIEN, W.J. & HERMANN, J.J. (1963): The Strength of Liquid Bridges Between Dissimilar Materials. *Journal of Adhesion* 5 (2), 91 - 103.
- O'NEILL, T.B. (1988): Succession and Interrelationships of Microorganisms on Painted Surfaces. *International Biodeterioration* 24 (4-5), 373 - 379.
- ONDA, T., SHIBUICHI, S., SATOH, N. & TSUJII, K. (1996): Super-water-repellent fractal surfaces. *Langmuir* 12 (9), 2125 - 2127.
- PANCOTT, V.A., SALA, O.E., CABELLO, M., LOPEZ, N.I., ROBSONS, T.M., BALLARÉ, C.L., CALDWELL, M.M. & SCOPEL, A.L. (2003): Solar UV-B decreases decomposition in herbaceous plant litter in Tierra del Fuego, Argentina: potential role of an altered decomposer community. *Global Change Biology* 9, 1465 - 1474.
- PARKIN, I.P. & PALGRAVE, R.G. (2004): Self-cleaning coatings. *Journal of materials chemistry* 15, 1689 - 1695.
- PATANKAR, N.A. (2004): Transition between superhydrophobic states on rough surfaces. *Langmuir* 20, 7097 - 7102.
- PAULUS, W. (1995): Mikrobizide. In: Brill, H., ed. *Mikrobielle Materialzerstörung und Materialschutz*. Jena: Gustav Fischer Verlag, 232 - 278.

- PAZ, Y., LUO, Z., RABENBERG, L. & HELLER, A. (1995): Photooxidative self-cleaning transparent titanium dioxide films on glass. *Journal of Materials Research* 10 (11), 2842 - 2848.
- PERRICHET, A. (1987): Biodeterioration Study of Facade Materials with Hydraulic Binders. In: Society, B., ed. *The Biodeterioration of constructional materials*, Vol. 3. Kew, 55 - 59.
- POMMER, E.H. (1995): Synthetische organische Materialien. In: Brill, H., ed. *Mikrobielle Materialzerstörung und Materialschutz*. Jena: Gustav Fischer Verlag, 111 - 150.
- PRATER, C.B., MAIVALD, P.G., KJOLLER, K.J. & HEATON, M.G. (1995): Probing Nano-Scale Forces with the Atomic Force Microscope (AN08). *Application Notes 8*. Santa Barbara, USA: Veeco Instruments Inc., 1 - 15.
- PUZENAT, E. & PICHAT, P. (2003): Studying TiO<sub>2</sub> coatings on silica-covered glass by O<sub>2</sub> photosorption measurements and FTIR–ATR spectrometry Correlation with the self-cleaning efficacy. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* 160, 127 - 133.
- QI, K., DAOUD, W.A., XIN, J.H., MAK, C.L., TANG, W. & CHEUNG, W.P. (2006): Self-cleaning cotton. *Journal of materials chemistry* 16, 4567 - 4574.
- RAYNER, A.D.M. & BODDY, L. (1988): *Fungal Decomposition of Wood*. Chichester: Wiley, 587.
- REDELLE, P., SPAIN, A.V. & HOPKINS, M. (1997): Dipersal of Spores of Mycorrhizal Fungi in Scats of Native Mammals in Tropical Forests of Northeastern Australia. *Biotropica* 29 (2), 184 - 192.
- REDECKER, D., KODNER, R. & GRAHAM, L.E. (2000): Glomalean Fungi from the Ordovician. *Science* 289, 1920 - 1921.
- REIB, J. (1998): Materialzerstörung durch Schimmelpilze. *Schimmelpilze Lebensweise, Nutzen, Schaden, Bekämpfung*. Berlin [u. a.]: Springer, 231-253.
- ROHRINGER, R., KIM, W.K., SAMBORSKI, D.J. & HOWES, N.K. (1977): Calcofluor: an optical brightener for fluorescence microscopy of fungal plant parasites in leaves. *Phytopathology* 67, 808 - 810.

- RÖLLEKE, S. (1999): Identifikation von Mikroorganismen als Verursacher von Schäden an Bauwerken. *Feuchtetag '99*. Berlin: Deutsche Gesellschaft für Zerstörungsfreie Prüfung e. V., Vortrag H1.
- ROMÉAS, V., PICHAT, P., GUILLARD, C., CHOPIN, T. & LEHAUT, C. (1999): Degradation of palmitic (hexadecanoic) acid deposited on TiO<sub>2</sub>-coated self-cleaning glass : kinetics of disappearance, intermediate products and degradation pathways. *New Journal of Chemistry* 23, 365 - 373.
- RONCERO, C. & DURAN, A. (1985): Effect of Calcofluor White and Congo Red on fungal cell wall morphogenesis: in vivo activation of chitin polymerization. *Journal of bacteriology* 163 (3), 1180 - 1185.
- RÜCHEL, R., DELLMANN, A., SCHAFFRINSKI, M. & DONHUIJSEN, K. (2004): Vereinfachte Pilzdetektion - Screeningmethode mit optischem Aufheller. *Der Pathologe* 25, 235 - 237.
- SACHS, L. & HEDDRICH, J. (2006): *Angewandte Statistik*. Heidelberg: Springer Verlag, 702.
- SAND, W. (1994): Mikrobielle Schädigungsmechanismen. *Werkstoffe und Korrosion* 45, 10 - 16.
- SAND, W. (1995): Mineralische Werkstoffe. In: Brill, H., ed. *Mikrobielle Materialzerstörung und Materialschutz*. Jena: Gustav Fischer Verlag, 78 - 110.
- SAND, W. & BOCK, E. (1991): Biodeterioration of Ceramic Materials by Biogenic Acids. *International Biodeterioration* 27, 175 - 183.
- SAUTOUR, M., DANTIGNY, P., DIVIES, C. & BENSOUSSAN, M. (2001a): A temperature-type model for describing the relationship between fungal growth and water activity. *International Journal of Food Microbiology* 67, 63 - 69.
- SAUTOUR, M., ROUGET, A., DANTIGNY, P., DIVIES, C. & BENSOUSSAN, M. (2001b): Prediction of conidial germination of *Penicillium chrysogenum* as influenced by temperature, water activity and pH. *Letters in Applied Microbiology* 32, 131 - 134.
- SAVIA, M., ZHOU, Q. & KOIVO, H.N. (2004): Simulating adhesion forces between arbitrarily shaped objects in micro/nano-handling operations. *International Conference on Intelligent Robots and Systems*. Sendai, Japan, 1722 - 1727.

- SCHAULE, G., GRIEBE, T. & FLEMMING, H.-C. (1999): Steps in biofilm sampling and characterization in biofouling cases. In: Flemming, H.-C., Szewzyk, U., Griebe, T., ed. *Biofilms: Investigative Methods and Applications*. Lancaster: Technomic Publishing, 1 - 18
- SCHERGE, M. & GORB, S.N. (2001): *Biological Micro- and Nanotribology*. Berlin, Heidelberg, New York: Springer, 304.
- SCHROEDER, J., SCHAFFRINSKI, M. & RÜCHEL, R. (2006): Optische Aufheller in der Pilzdiagnostik. *Mycoses* 49 (Suppl. 2), 14 - 17.
- SEDLBAUER, K., KRUS, M., BREUER, K. & HOFBAUER, W. (2004): Algenbildung aufgrund Tauwasser an Außenfassaden – Welche Einflussmöglichkeiten gibt es? *Hindelanger Baufachkongress*. Bad Hindelang: BaumiBayosan.
- SELITRENNIMOFF, C.P. (1984): Calcofluor White inhibits Neurospora Chitin Synthetase Activity. *Experimental Mycology* 8, 269 - 272.
- SMITH, D. (1993): Tolerance to Freezing and Thawing. In: Jennings, D.H., ed. *Stress Tolerance of Fungi*. New York: Marcel Dekker, 145 - 171.
- SOKAL, R. & ROHLF, F.J. (1998): *Biometry: the principles and practice of statistics in biological research* New York: Freeman, 887.
- STALEY, J.T., PALMER, F. & ADAMS, J.B. (1982): Microcolonial Fungi: Common Inhabitans on Desert Rocks? *Science* 215 (4536), 1093 - 1095.
- STERN, M., DA SILVA LACAZ, C. & HALBE, H.W. (1956): Growth of Contaminating Fungi in Bidistilled Water. *Hospital (Rio de Janeiro)* 49, 501.
- STRASBURGER, E. & SITTE, P., eds. (2002): *Lehrbuch der Botanik für Hochschulen*. Heidelberg: Spektrum Akademischer Verlag, 1123.
- SUN, T., WANG, G., LIU, H., FENG, L., JIANG, L. & ZHU, D. (2003): Control over the wettability of an aligned carbon nanotube film. *Journal of American Chemical Society* 125, 14996 - 14997.
- SUPSAKULCHAI, A., MA, G.H., NAGAI, M. & OMI, S. (2003): Performance of titanium dioxide microcapsules as a photo-oxidation catalyst for decolourization of methylene blue. *Journal of Microencapsulation* 20 (1), 19 - 33.

- TADANAGA, K., MORINAGA, J., MATSUDA, A. & MINAMI, T. (2000): Superhydrophobic-Superhydrophilic Micropatterning on Flowerlike Alumina Coating Film by the Sol-Gel Method. *Chem. Mater.* 12 (3), 590 - 592.
- TAKAGI, K., MAKIMOTO, T., HIRAIWA, H. & NEGESHI, T. (2001): Photocatalytic, antifogging mirror. *Journal of Vacuum Science and Technology* 19 (6), 2931 - 2935.
- TALBOT, N.J. (2001): *Fungal Hydrophobins*. Berlin: Springer Verlag, 307.
- TANSEY, M.R. & BROCK, T.D. (1972): The Upper Temperature Limit for Eukaryotic Organisms. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America (PNAS)* 69 (9), 2426 - 2428.
- TEARE, D.O.H., SPANOS, C.G., RIDLEY, P., KINMOND, E.J., ROUCOULES, V. & BADYAL, J.P.S. (2002): Pulsed Plasma Deposition of Super-Hydrophobic Nanospheres. *Chem. Mater.* 14 (11), 4566 - 4571.
- THRANE, C., OLSSON, S., NIELSEN, T.H. & SØRENSEN, J. (1999): Vital fluorescent stains for detection of stress in *Pythium ultimum* and *Rhizoctonia solani* challenged with viscosinamide from *Pseudomonas fluorescens* DR54. *FEMS Microbiology Ecology* 30, 11 - 23.
- TRAUTMANN, C., GABRIO, T., DILL, I., WEIDNER, U. & BAUDISCH, C. (2005): Hintergrundkonzentrationen von Schimmelpilzen in Luft. *Bundesgesundheitsblatt - Gesundheitsforschung - Gesundheitsschutz* 48, 12 - 20.
- TRIBE, H.T. & MABADEJE, S.A. (1972): Growth of Moulds on Media Prepared Without Organic Nutrients. *Transactions Of The British Mycological Society* 58, 127.
- TUCKER, S.L. & TALBOT, N.J. (2001): Surface Attachment and Pre-Penetration Stage Development by Plant Pathogenic Fungi. *Annual Review of Phytopathology* 39, 385 - 417.
- TUNO, N. (1998): Spore dispersal of Dictyophora fungi (Phallaceae) by flies. *Ecological Research* 13, 7 - 15.
- UELZEN, T. & MÜLLER, J. (2003): Wettability enhancement by rough surfaces generated by thin film technology. *Thin Solid Films* 434 (1-2), 311 - 315.

- VAN LOOSDRECHT, M.C.M., LYKLEMA, J., NORDE, W. & ZEHNDER, A.J.B. (1995): Influence of Interfaces on Microbial Activity. *Microbiological Reviews* 54 (1), 75 - 87.
- VENZMER, H. & MESSAL, C. (2003): Algen im Norden - Pilze im Süden? Verbreitung und Intensität der Algenbesiedlung auf frisch sanierten Fassaden - Semiquantitative Analysen und Beispiele aus Norddeutschland. In: Venzmer, H., ed. *Algen an Fassadenbaustoffen II, Ursachen - Schadensausmaß - Lösungsansätze*, Vol. 5/6. Berlin: Verlag Bauwesen, 21 - 27
- VERBAND DER LACKINDUSTRIE (Hrsg.) (1998): VdL-RL 06: Richtlinie zur Bestimmung der Beständigkeit von Beschichtungsstoffen gegen Pilzbefall. Frankfurt-am-Main., 10
- VERMEULEN, C.A. & WESSELS, G.H. (1986): Chitin biosynthesis by a fungal membrane preparation - Evidence for a transient non-crystalline state of chitin. *European Journal of Biochemistry* 158, 411 - 415
- VIDELA, H.A. (1996): *Manual of Biocorrosion*. Boca Raton, New York, London, Tokyo: Lewis Publishers, 273.
- WAINWRIGHT, M. (1993): Oligotrophic Growth of Fungi - Stress or Natural State? In: Jennings, D.H., ed. *Stress Tolerance of Fungi*. New York: Marcel Dekker, 127 - 144.
- WANG, C.-Y., GROENZIN, H. & SHULTZ, M.J. (2003): Molecular Species on Nanoparticulate Anatase TiO<sub>2</sub> Film Detected by Sum Frequency Generation: Trace Hydrocarbons and Hydroxyl Groups. *Langmuir* 19, 7330 - 7334.
- WANG, R., HASHIMOTO, K., FUJISHIMA, A., CHIKUNI, M., KOJIMA, E., KITAMURA, A., SHIMOHIGOSHI, M. & WATANABE, T. (1997): Light-induced amphiphilic surfaces. *Nature* 388, 431 - 432.
- WANG, T.M., ZHENG, S.K., HAO, W.C. & WANG, C. (2002): Studies on photocatalytic activity and transmittance spectra of TiO<sub>2</sub> thin films prepared by r.f. magnetron sputtering method. *Surface and Coatings Technology* 155, 141 - 145.
- WARSCHEID, T. & BRAAMS, J. (2000): Biodeterioration of stone: a review. *International Biodeterioration & Biodegradation* 46 (4), 343 - 368.

- WATSON, R.D., MINTER, D.W. & MCKELVIE, A.D. (1984): Dense growth of Deuteromycetes on and around bonded distillery warehouses in Scotland. *Bulletin of the British Mycological Society* 8 (1), 57 - 58.
- WEI, C., LIN, W.-Y., ZAINAL, Z., WILLIAMS, N.E., ZHU, K., KRUZLC, A.P., SMITH, R.L. & RAJESHWAR, K. (1994): Bactericidal Activity of TiO<sub>2</sub> Photocatalyst in Aqueous Media: Toward a Solar-Assisted Water Disinfection System. *Environmental science & technology* 28, 934 - 938.
- WENZEL, R.N. (1936): Resistance of solid surfaces to wetting by water. *Industrial and Engineering Chemistry* 28 (8), 988 - 994.
- WESSEL, C.J. (1964): Biodeterioration of Plastics. *Polymer Engineering and Science* 4 (3), 193 - 207.
- WESTBROOK, J. (in prep.): Aerobiology. *Guide to Agricultural Meteorological Practices*. Genf: World Meteorological Organization.
- WHEELIS, M.L., CASAGRANDE, R. & MADDEN, L.V. (2002): Biological Attack on Agriculture: Low-Tech, High-Impact Bioterrorism. *BioScience* 52 (7), 569 - 576.
- WIKTOR, V., GROSSEAU, P., GUYONNET, R. & GARCIA-DIAZ, E. (2007): Biodeterioration of cementitious matrix by fungi. *Geophysical Research Abstracts* 9 (09404).
- WOESE, C.R. (2000): Interpreting the universal phylogenetic tree. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America (PNAS)* 97 (15), 8392 - 8396.
- WOLFRUM, E.J., HUANG, J., BLAKE, D.M., MANESS, P.-C., HUANG, Z., FIEST, J. & JACOBY, W.A. (2002): Photocatalytic Oxidation of Bacteria, Bacterial and Fungal Spores, and Model Biofilm Components to Carbon Dioxide on Titanium Dioxide-Coated Surfaces. *Environ. Sci. Technol.* 36 (15), 3412 - 3419.
- WOODWARD, I., SCHOFIELD, W.C.E., ROUCOULES, V. & BADYAL, J.P.S. (2003): Super-hydrophobic surfaces produced by plasma fluorination of polybutadiene films. *Langmuir* 19, 3432 - 3438.
- XIE, Q., XU, J., FENG, L., JIANG, L., TANG, W., LUO, X. & HAN, C.C. (2004): Facile creation of a super-amphiphobic coating surface with bionic microstructure. *Advanced Materials* 16 (4), 302 - 305.

YOUNG, T. (1805): An essay on the cohesion of fluids. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London* 95, 65 - 87.

ZHENG, Q.-S., YU, Y. & ZHAO, Z.-H. (2005): Effects of hydraulic pressure on the stability and transition of wetting modes on superhydrophobic surfaces. *Langmuir* 21, 12207 - 12212.

## 9 Abbildungsverzeichnis

<b>Abbildung 1:</b> Verlauf der Infektion einer Pflanze durch einen pathogenen Pilz, verändert nach MENDGEN <i>et al.</i> (1996) .....	5
<b>Abbildung 2:</b> Pilzlebenszyklus am Beispiel eines Ascomyceten, aus NABORS (2004) .....	11
<b>Abbildung 3:</b> Bildung von sporentragenden Strukturen zur Sporenfreisetzung über der laminaren Grenzschicht (grau schattiert), verändert nach DEACON (2006). 13	
<b>Abbildung 4:</b> Unterschiedliche Möglichkeiten der Sporenverbreitung durch Regentropfen. Verändert nach DEACON (2006) .....	14
<b>Abbildung 5:</b> Verlauf der Biofilmbildung in 4 Phasen nach VAN LOOSDRECHT <i>et al.</i> (1995) .....	18
<b>Abbildung 6:</b> Tageszeitlicher Verlauf der Oberflächentemperaturen im Vergleich zur Taupunkttemperatur zur Verdeutlichung des Einflusses des Dämmstandards auf die nächtliche Unterkühlung einer nach Westen orientierten wärmegeprägten Fassade. Aus SEDLBAUER <i>et al.</i> (2004) .....	20
<b>Abbildung 7:</b> Effekt verschiedener Maßnahmen auf die Dauer der Taupunkttemperaturunterschreitungen im Zeitraum September bis Oktober, aus SEDLBAUER <i>et al.</i> (2004) .....	26
<b>Abbildung 8:</b> Schema der Lichtanregung eines Festkörperhalbleiters und Möglichkeiten der anschließenden Rekombination. Rekombination von Elektron und ‚Loch‘ unter Energiefreisetzung an der a) Halbleiteroberfläche oder b) an der Entstehungsstelle. Reduktion bzw. Oxidation von Atomen auf der Halbleiteroberfläche durch c) das freie Elektron oder d) das ‚Loch‘. Verändert nach LINSEBIGLER <i>et al.</i> (1995) .....	28
<b>Abbildung 9:</b> a) Veränderung des Kontaktwinkels einer TiO <sub>2</sub> Oberfläche nach Bestrahlung mit UV-Licht. b) Regenerierungsgeschwindigkeit des	

ursprünglichen Kontaktwinkels einer TiO <sub>2</sub> Oberfläche in Abhängigkeit von der Temperatur. Verändert nach HASHIMOTO <i>et al.</i> (2005).....	30
<b>Abbildung 10:</b> Die Lotusblume, <i>Nelumbo nucifera</i> Gaertn.....	31
<b>Abbildung 11:</b> Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme eines Blattes der Lotuspflanze <i>Nelumbo nucifera</i> Gaertn. ....	32
<b>Abbildung 12:</b> Darstellung der Energien die die Einstellung des Gleichgewichtskontaktwinkels $\theta$ bestimmen. Grenzflächenenergie: $\sigma_{SG}$ , Festkörper - Luft, $\sigma_{SL}$ Festkörper – Wasser, $\sigma_{LG}$ Wasser - Luft .....	34
<b>Abbildung 13:</b> Grafische Darstellung des Wenzel-Stadiums bei der Benetzung einer strukturierten hydrophoben Oberfläche. a) Aufsicht, b) Querschnitt. Aus DUPUIS und YEOMANS (2005) .....	35
<b>Abbildung 14:</b> Grafische Darstellung des Cassie-Baxter Stadiums bei der Benetzung einer superhydrophoben Oberfläche. a) Aufsicht, b) Querschnitt. Aus DUPUIS und YEOMANS (2005) .....	36
<b>Abbildung 15:</b> Kritischer Druck P und Cassie-Baxter-Kontaktwinkel aufgetragen gegen den Anteil von benetzter Fläche an der Gesamtfläche unter dem Tropfen (f). Bedingungen: Young'scher Kontaktwinkel 114°, Strukturbreite 50µm, – abstand 100µm. Aus ZHENG <i>et al.</i> (2005) .....	37
<b>Abbildung 16:</b> Fortschrittswinkel ( $\theta_F$ ) und Rückschreitwinkel ( $\theta_R$ ) bei einem Wassertropfen auf einer geneigten Oberfläche .....	37
<b>Abbildung 17:</b> Schematische Darstellung der Kontaktfläche eines Partikels a) zu einer mikrostrukturierten Oberfläche und b) zu einem über diese rollenden Wassertropfen .....	38
<b>Abbildung 18:</b> Strukturformel von Calcofluor white M2R in der optisch aktiven trans-Konfiguration. Aus SCHROEDER <i>et al.</i> (2006).....	49

<b>Abbildung 19:</b> In der Untersuchung verwendeter Probekörper: a) im Ursprungszustand, b) mit Pilzsporensuspension beimpft, c) nach 6-wöchigem Wachstum.....	51
<b>Abbildung 20:</b> Flächenzuwachs von <i>Penicillium chrysogenum</i> über 3 Wochen bei Behandlung mit 4 unterschiedlichen Lösungen. Dargestellt sind die Mittelwerte aus 6 Parallelen mit 95%-Konfidenzintervallen.....	53
<b>Abbildung 21:</b> Schematische Darstellung des Aufbaus zur Nass-Inokulation von Probekörpern. Aus CERMAN, Z. (2007).....	61
<b>Abbildung 22:</b> Schematische Darstellung der Verstäubungskammer. Vk = Verstäubungskammer, St = Steigrohr, Pr = Probekörper, Te = rotierender Teller, Mo = Motor, Ms = Motorsteuerung, Fi = Filter, Sk = Sporenkammer, Ko = Kompressor. Aus CERMAN, Z. (2007).....	62
<b>Abbildung 23:</b> Schematische Darstellung der Beregnungskammer. Bk = Beregnungskammer, Re = Reservoir, Pi = Pipettenspitzen, Pr = Probekörper, Te = rotierender Teller, Tr = Treibriemen, Mo = Motor, Ms = Motorsteuerung, Zl = Zuleitung, Vb = Vorratsbehälter, Pu = Pumpe, Ab = Abfluss. Aus CERMAN, Z. (2007).....	64
<b>Abbildung 24:</b> Lagerung der Proben während der Untersuchungen. a) Einzelne Kunststoffbox mit Proben b) Anordnung der Kunststoffboxen in der Klimakammer.....	65
<b>Abbildung 25:</b> Schematische Darstellung des wöchentlichen Versuchsablaufs. Aus CERMAN, Z. (2007).....	70
<b>Abbildung 26:</b> Kontaktwinkelmessung der in diesen Untersuchungen verwendeten Probekörper, a) Dachziegel, b) Fassadenfarben. Dargestellt sind Mittelwerte aus 10 Messungen mit Standardabweichung. Bei Übereinstimmungen von Buchstaben sind Unterschiede nicht signifikant ( $P > 0,05$ ).....	72
<b>Abbildung 27:</b> Prozentuale Belegung von Dachziegelproben mit <i>Penicillium chrysogenum</i> nach 10 Wochen Versuchsdauer. Dargestellt sind Mittelwerte aus	

fünf Parallelen mit Standardabweichung. Bei Übereinstimmungen von Buchstaben sind Unterschiede nicht signifikant ( $P>0,05$ ).....	73
<b>Abbildung 28:</b> Prozentuale Belegung von Fassadenfarbenproben mit <i>Penicillium chrysogenum</i> nach 10 Wochen Versuchsdauer. Dargestellt sind Mittelwerte aus fünf Parallelen mit Standardabweichung. Bei Übereinstimmungen von Buchstaben sind Unterschiede nicht signifikant ( $P>0,05$ ).....	74
<b>Abbildung 29:</b> Prozentuale Belegung von Dachziegelproben mit <i>Penicillium chrysogenum</i> nach 12 Wochen Versuchsdauer. Dargestellt sind Mittelwerte aus fünf Parallelen mit Standardabweichung. Bei Übereinstimmungen von Buchstaben sind Unterschiede nicht signifikant ( $P>0,05$ ).....	75
<b>Abbildung 30:</b> Prozentuale Belegung von Fassadenfarbenproben mit <i>Penicillium chrysogenum</i> nach 12 Wochen Versuchsdauer. Dargestellt sind Mittelwerte aus fünf Parallelen mit Standardabweichung. Bei Übereinstimmungen von Buchstaben sind Unterschiede nicht signifikant ( $P>0,05$ ).....	75
<b>Abbildung 31:</b> Prozentuale Belegung von Fassadenfarbenproben mit <i>Penicillium chrysogenum</i> nach 12 Wochen Versuchsdauer. Dargestellt sind Mittelwerte aus drei Parallelen mit Standardabweichung. Bei Übereinstimmungen von Buchstaben sind Unterschiede nicht signifikant ( $P>0,05$ ).....	77
<b>Abbildung 32:</b> Prozentuale Belegung von Dachziegelproben mit <i>Cladosporium cladosporioides</i> nach 8 Wochen Versuchsdauer. Dargestellt sind Mittelwerte aus fünf Parallelen mit Standardabweichung. Bei Übereinstimmungen von Buchstaben sind Unterschiede nicht signifikant ( $P>0,05$ ).....	78
<b>Abbildung 33:</b> Prozentuale Belegung von Fassadenfarbenproben mit <i>Cladosporium cladosporioides</i> nach 8 Wochen Versuchsdauer. Dargestellt sind Mittelwerte aus fünf Parallelen mit Standardabweichung. Bei Übereinstimmungen von Buchstaben sind Unterschiede nicht signifikant ( $P>0,05$ ).....	78
<b>Abbildung 34:</b> Fluoreszenzmikroskopische Aufnahme calcofluorgefärbten Pilzmyzels. a) Übersichtsaufnahme, b) Detail .....	81

<b>Abbildung 35:</b> Überlebensrate von <i>P. citrinum</i> auf TiO <sub>2</sub> Filterpapier und Objektträger bei einer UV-Bestrahlung unterschiedlicher Intensität. Verändert nach LIN und LI (2003) .....	86
<b>Abbildung 36:</b> Stärke der an der Adhäsion beteiligten Kräfte. Aus SCHERGE und GORB (2001) .....	88
<b>Abbildung 37:</b> Schematische Darstellung des Wassermeniskus zwischen einer Kugel mit dem Radius R und einer Ebene. R <sub>1</sub> und R <sub>2</sub> sind die zwei Hauptradii der Krümmung des Meniskus. θ <sub>1</sub> und θ <sub>2</sub> sind die Kontaktwinkel von Wasser auf der Kugel bzw. der Ebene. Aus BUTT <i>et al.</i> (2005) .....	89
<b>Abbildung 38:</b> Kontakt einer Kugel mit einer glatten und einer rauen Oberfläche. Aus SCHERGE und GORB (2001).....	90
<b>Abbildung 39:</b> Schematische Darstellung der Verteilung eines molekularen Wasserfilms auf einer a) glatten und einer b) mikro- bis nanostrukturierten Oberfläche.....	91
<b>Abbildung 40:</b> Ideализierte Kraft-Weg-Kurve (I) mit den charakteristischen Abschnitten. A) „Non-contact“-Region, B) „jump to contact“, C) Kontakt, D) Adhäsion, E) „pulloff“. Dazugehörige Auslenkungen des Cantilevers (II). II verändert nach PRATER <i>et al.</i> (1995).....	93
<b>Abbildung 41:</b> REM-Aufnahme einer geätzten Siliziumoberfläche.....	95
<b>Abbildung 42:</b> REM-Aufnahme der Blattoberseite von Reis ( <i>Oryza sativa</i> ). Links: Übersicht bei 1000-facher Vergrößerung, rechts Detailaufnahme (Vergrößerung 5000-fach). .....	96
<b>Abbildung 43:</b> REM-Aufnahme der Blattoberseite der Zuckerrübe ( <i>Beta vulgaris</i> subsp. <i>vulgaris</i> ). Links: Übersicht bei 1000-facher Vergrößerung, rechts Detailaufnahme (Vergrößerung 5000-fach). .....	97
<b>Abbildung 44:</b> REM-Aufnahme einer Spore von <i>Alternaria alternata</i> auf einem Siliziumcantilever.....	98

<b>Abbildung 45:</b> REM-Aufnahme eines AFM-Cantilevers mit Polystyrenkugel. a) Aufsicht, b) Seitenansicht .....	99
<b>Abbildung 46:</b> Kontaktwinkel der für die Adhäsionskraftmessungen verwendeten Oberflächen.a) Siliziumoberflächen, Pol. Sil.: Poliertes Silizium, Pol. Sil. hydr.: Poliertes Silizium hydrophobiert, Struk. Sil.: Strukturiertes Silizium, Struk. Sil. hydr.: Strukturiertes Silizium hydrophobiert. b) Pflanzliche Oberflächen. Dargestellt sind Mittelwerte (technische Oberflächen: n = 10 und pflanzliche Oberflächen: n = 20) mit Standardabweichung. Bei Übereinstimmungen von Buchstaben sind Unterschiede nicht signifikant ( $P>0,05$ ).....	103
<b>Abbildung 47:</b> Adhäsionskraftmessung zwischen Glas- bzw. Polystyrenkugel und unterschiedlichen Siliziumoberflächen, Pol. Sil.: Poliertes Silizium, Pol. Sil. hydr.: Poliertes Silizium hydrophobiert, Struk. Sil.: Strukturiertes Silizium, Struk. Sil. hydr.: Strukturiertes Silizium hydrophobiert. Für die Oberfläche ‚strukturiertes Silizium‘ war mit der Polysteyrenkugel keine Messung möglich, da die Adhäsionskräfte den Messbereich überstiegen. Dargestellt sind Mittelwerte von Parallelenzahlen zwischen 10 und 75 mit Standardabweichung. Bei Übereinstimmungen von Buchstaben sind Unterschiede nicht signifikant ( $P>0,05$ ).....	104
<b>Abbildung 48:</b> Adhäsionskraftmessung zwischen Sporen von <i>Alternaria alternata</i> bzw. <i>Pyricularia oryzae</i> und unterschiedlichen Siliziumoberflächen, Pol. Sil.: Poliertes Silizium, Pol. Sil. hydr.: Poliertes Silizium hydrophobiert, Struk. Sil.: Strukturiertes Silizium, Struk. Sil. hydr.: Strukturiertes Silizium hydrophobiert. Dargestellt sind Mittelwerte von Parallelenzahlen zwischen 44 und 87 mit Standardabweichung. Bei Übereinstimmungen von Buchstaben sind Unterschiede nicht signifikant ( $P>0,05$ ). .....	106
<b>Abbildung 49:</b> Adhäsionskraftmessung zwischen Glas- bzw. Polystyrenkugel und Blattoberflächen der Zuckerrübe und von Reis. Dargestellt sind Mittelwerte von Parallelenzahlen zwischen 18 und 65 mit Standardabweichung. Bei Übereinstimmungen von Buchstaben sind Unterschiede nicht signifikant ( $P>0,05$ ).....	107

<b>Abbildung 50:</b> Adhäsionskraftmessung zwischen Sporen von <i>Alternaria alternata</i> bzw. <i>Pyricularia oryzae</i> und Blattoberflächen der Zuckerrübe und von Reis. Dargestellt sind Mittelwerte von Parallelenzahlen zwischen 21 und 94 mit Standardabweichung. Bei Übereinstimmungen von Buchstaben sind Unterschiede nicht signifikant ( $P > 0,05$ ). .....	108
<b>Abbildung 51:</b> Maßstabsgetreue Darstellung der Größenverhältnisse der Oberflächenstruktur des strukturierten Siliziumwafers und der Glas- bzw. Styrenkugel, sowie möglicher Kontaktstellen.....	112
<b>Abbildung 52:</b> REM-Aufnahmen der Cantilever mit technischen Partikeln, nach der Adhäsionskraftmessung. Anhaftende Verschmutzungen die durch die Messung entstanden sind. a) Glaskugel, b) Polystyrenkugel.....	116
<b>Abbildung 53:</b> Schematische Darstellung der Änderung der Kontaktfläche eines Partikels bei zunehmender Strukturierung der Oberfläche. Verändert nach CERMAN <i>et al.</i> (2004).....	117

## 10 Tabellenverzeichnis

<b>Tabelle 1:</b> Systematische Stellung der in dieser Arbeit verwendeten Pilzarten.....	3
<b>Tabelle 2:</b> Hauptarten der Symbiosen mit Pilzbeteiligung, verändert nach DEACON (2006) .....	7
<b>Tabelle 3:</b> Effekte von Mikroorganismen auf Baustoffe. Verändert nach GAYLARDE <i>et al.</i> (2003) .....	22
<b>Tabelle 4:</b> Überlebensraten unterschiedlicher Mikroorganismen in einer Suspension mit TiO <sub>2</sub> bei Bestrahlung mit einer Halogen-Metaldampflampe. Verändert nach MATSUNAGA <i>et al.</i> (1985).....	29
<b>Tabelle 5:</b> Einfluss unterschiedlicher Wachsbeschichtungen auf den Wasserkontaktwinkel. Verändert nach WENZEL (1936).....	34
<b>Tabelle 6:</b> In der vorliegenden Arbeit verwendete Pilzarten mit Katalognummer der Deutschen Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen (DSMZ Nr.).....	42
<b>Tabelle 7:</b> In der vorliegenden Arbeit verwendete pflanzliche Proben .....	43
<b>Tabelle 8:</b> In der vorliegenden Arbeit verwendete Fassadenfarbenproben.....	43
<b>Tabelle 9:</b> In der vorliegenden Arbeit verwendete Dachziegelproben.....	44
<b>Tabelle 10:</b> In der vorliegenden Arbeit verwendete sonstige technische Proben.....	44
<b>Tabelle 11:</b> Fluoreszenzeigenschaften verschiedener Polysaccharide nach der Färbung mit Calcofluor white M2R. Verändert nach MAEDA und ISHIDA (1967)	49
<b>Tabelle 12:</b> Untersuchungsvarianten. CFW = Calcofluor white.....	52
<b>Tabelle 13:</b> Unterschiede zwischen den vier Behandlungsvarianten hinsichtlich des Flächenzuwachses von <i>Penicillium chrysogenum</i> über den Versuchszeitraum von 3 Wochen. Signifikanzniveaus nach einfaktorieller Varianzanalyse.....	53

<b>Tabelle 14:</b> Zusammenstellung der abiotischen Parameter in der Klimakammer während der unterschiedlichen Teilversuche. ....	66
<b>Tabelle 15:</b> Analysemethoden des Pilzbewuchses der Proben und ihre Zuordnung zu den verschiedenen Versuchsteilen .....	67
<b>Tabelle 16:</b> Boniturskala zur Sichtbonitierung des Probenbewuchses.....	69
<b>Tabelle 17:</b> Ermittelte ideale Parameter und Methoden für ein Labortestverfahren zum Vergleich des Pilzbewuchses funktionaler Oberflächen untereinander und mit nicht-funktionalen.....	71
<b>Tabelle 18:</b> Auflistung der für die Adhäsionskraftmessungen verwendeten Cantilever mit Angabe der werksseitigen bzw. berechneten Federkonstanten, sowie der Untersuchungen für die sie verwendet wurden. <i>Pyr. ory.</i> = <i>Pyricularia oryzae</i> , <i>Alt. alt.</i> = <i>Alternaria alternata</i> .....	100

## 11 Anhang

A: Untersuchungen zum Einfluss der Calcofluorfärbung auf das Pilzwachstum

B: Untersuchungen zum Wachstum von *Penicillium chrysogenum* und *Cladosporium cladosporioides* auf technischen Materialien

C: Adhäsionskräfte von technischen Partikeln und Pilzsporen auf technischen und pflanzlichen Oberflächen

## Anhang A

**Tabelle A1:** Zunahme der durch *Penicillium chrysogenum* bewachsenen Fläche in mm<sup>2</sup> bezogen auf die Woche 0

Behandlungsvariante	Parallele	Woche		
		1	2	3
Calcofluor + Aqua dest.	1	119,44	291,67	11,11
	2	111,11	355,56	194,44
	3	175,00	397,22	583,33
	4	136,11	138,89	388,89
	5	158,33	327,78	222,22
	6	194,44	416,67	161,11
Calcofluor + Phosphat-Puffer	1	572,22	877,78	1477,78
	2	286,11	550,00	1477,78
	3	269,44	683,33	1480,56
	4	288,89	1083,33	1480,56
	5	361,11	694,44	1494,44
	6	361,11	702,78	1488,89
Phosphat-Puffer	1	408,33	555,56	1369,44
	2	327,78	550,00	1372,22
	3	383,33	519,44	1341,67
	4	411,11	688,89	1344,44
	5	352,78	616,67	1313,89
	6	305,56	652,78	1350,00
Aqua dest.	1	191,67	191,67	497,22
	2	83,33	222,22	11,11
	3	97,22	336,11	141,67
	4	102,78	358,33	258,33
	5	97,22	255,56	163,89
	6	91,67	341,67	80,56

## Anhang B

**Tabelle B1:** Kontaktwinkel der verwendeten Baustoffe.

a) Dachziegel, b) Fassadenfarben

a)		Parallele									
Probe	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
Standard rot	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Standard schwarz	48,7	45,6	47,1	50,2	47,1	40,9	40,2	45,3	40,1	38,1	
Lotus-Effect	143,7	143,8	144,3	144,5	143,9	143,9	144,4	145	144,3	144,1	

b)		Parallele										
Probe	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	
Silikonharz	135,1	136,3	134,9	135,2	134,6	134,1	134,4	131,4	133,2	134,5	134,3	
Silikat	99,9	124	116,4	118,2	119,5	104,3	113,4	109,4	118	127,4	126,3	
Dispersion	132,6	137,1	126,7	134,7	123,5	135,8	132,6	137,9	138,1	131,8	133,1	
Lotus-Effect	141,1	141,7	138,7	139,2	140	144	134,9	140,2	138,2	140,8	139,8	
Photokat.	123,1	123,7	121,5	120,8	118,7	122,8	122,1	118,7	117,9	123,1	121,2	

**Tabelle B2:** Prozentualer Bewuchs der Baustoffoberflächen im 1. Teilversuch:  
Nassinokulation *Penicillium chrysogenum* Thom., a) Dachziegel,  
b) Fassadenfarben

a)

Variante	Parallele	Belegung [%]
Standard rot	1	7,35
	2	24,7
	3	7,58
	4	4,71
	5	4,37
Standard schwarz	1	1,33
	2	0,05
	3	0
	4	0
	5	8,45
Lotus-Effect®	1	0,2
	2	0,38
	3	0,02
	4	0,04
	5	0,08

b)

Variante	Parallele	Belegung [%]
Silikonharz	1	81,75
	2	85,78
	3	85,31
	4	97,97
	5	97,61
Silikat	1	98,46
	2	95,8
	3	99,29
	4	97,46
	5	93,65
Dispersion	1	96,98
	2	98,88
	3	98,69
	4	96
	5	98,48
Lotus-Effect®	1	71,13
	2	33,02
	3	79,96
	4	54,11
	5	39,91
Photokatalyse	1	58,34
	2	58,49
	3	54,65
	4	45
	5	48,04

**Tabelle B3 a-b:** Prozentualer Bewuchs der Baustoffoberflächen im 2. Teilversuch:  
Nassinokulation *Penicillium chrysogenum* Thom., variiert.  
a) Dachziegel, b) Fassadenfarben

**a) Dachziegel**

Variante	Parallele	Belegung [%]
Standard rot	1	0,16
	2	0,02
	3	0,05
	4	0,04
	5	0,05
Standard schwarz	1	0,02
	2	0,01
	3	0,02
	4	0,04
	5	0,03
Lotus-Effect®	1	0,00
	2	0,00
	3	0,00
	4	0,00
	5	0,00

**b) Fassadenfarben**

Variante	Parallele	Belegung [%]
Silikonharz	1	40,21
	2	5,75
	3	9,38
	4	2,58
	5	10,02
Silikat	1	78,09
	2	55,08
	3	67,20
	4	49,91
	5	25,79
Dispersion	1	6,78
	2	14,53
	3	10,15
	4	43,17
	5	33,57
Lotus-Effect®	1	0,02
	2	0,01
	3	0,00
	4	0,02
	5	0,01
Photokatalyse	1	5,80
	2	15,00
	3	6,29
	4	5,49
	5	32,43

**Tabelle B4:** Prozentualer Bewuchs der Fassadenfarboberflächen im 3. Teilversuch: Trockeninokulation *Penicillium chrysogenum* Thom.

Variante	Parallele	Belegung [%]
Dispersion	1	0,53
	2	0,63
	3	0,65
Lotus-Effect®	1	0,12
	2	0,16
	3	0,15

**Tabelle B5 a-b:** Prozentualer Bewuchs der Baustoffoberflächen im 4. Teilversuch: Nassinokulation von *Cladosporium cladosporioides* Fresen.  
a) Dachziegel, b) Fassadenfarben

**a) Dachziegel**

Variante	Parallele	Bewuchs [%]
Standard rot	1	3
	2	3
	3	3
	4	3
	5	3
Lotus-Effect®	1	0,5
	2	0,5
	3	0,5
	4	0,5
	5	0,5

**b) Fassadenfarben**

Variante	Parallele	Bewuchs [%]
Silikonharz	1	3
	2	8,8
	3	8,8
	4	3
	5	3
Silikat	1	62,5
	2	87,5
	3	87,5
	4	37,5
	5	62,5
Dispersion	1	62,5
	2	37,5
	3	62,5
	4	37,5
	5	62,5
Lotus-Effect®	1	3
	2	3
	3	3
	4	3
	5	3
Photokatalyse	1	8,8
	2	8,8
	3	3
	4	0,5
	5	3

## Anhang C

**Tabelle C1:** Kontaktwinkel von a) Siliziumoberflächen und b) pflanzlichen Oberflächen

### a) Siliziumoberflächen

Oberfläche	Kontaktwinkel [°]
<b>Poliertes Silizium</b>	43,59
	49,14
	47,51
	48,75
	47,42
	50,33
	51,83
	53,48
	48,20
	55,33
<b>Poliertes Silizium (hydrophobiert)</b>	121,64
	119,27
	121,32
	121,30
	114,74
	119,40
	121,10
	121,93
	113,31
	118,72
<b>Strukturiertes Silizium</b>	100,34
	104,20
	102,19
	91,30
	99,62
	93,58
	97,50
	92,74
	99,79
	101,64

### b) pflanzliche Oberflächen

Oberfläche	Kontaktwinkel [°]
<b>Zuckerrübenblatt</b>	62,16
	66,10
	65,56
	64,93
	75,34
	83,31
	81,01
	79,33
	77,62
	82,22
	90,69
	84,88
	81,54
	91,16
	93,01
	81,51
<b>Reisblatt</b>	80,72
	80,78
	87,76
	82,70
	145,86
	156,91
	165,43
	160,98
	159,08
	154,65
152,29	
168,42	
162,36	
163,37	

Fortsetzung C1a

Oberfläche	Kontaktwinkel [°]
<b>Strukturiertes Silizium (hydrophobiert)</b>	153,80
	141,11
	151,19
	139,60
	151,37
	138,52
	153,49
	141,91
	143,32
	149,37

Fortsetzung C1b

Oberfläche	Kontaktwinkel [°]
<b>Reisblatt</b>	155,70
	167,03
	148,14
	157,83
	168,00
	129,56
	127,33
	129,98
	129,86
	133,03

**Tabelle C3 a-b:** Adhäsionskraftmessungen mit a) Glaskugel und b) Polystyrenkugel auf unterschiedlichen Siliziumoberflächen

a) Glaskugel

Oberfläche	Adhäsionskraft [nN]
Poliertes Silizium	22,44
	22,44
	23,38
	24,99
	25,20
	25,62
	26,46
	27,27
	27,37
	27,09
	27,76
	28,04
	28,32
	27,86
	28,60
	27,86
	29,09
	28,91
	28,39
	29,47
	29,16
	29,82
	28,84
	28,98
	29,54
	31,33
	32,13
	18,20
34,86	
39,55	
40,60	
44,10	

b) Polystyrenkugel

Oberfläche	Adhäsionskraft [nN]
Poliertes Silizium	85,40
	83,30
	82,25
	82,25
	81,90
	81,90
	81,90
	82,25
	82,60
	82,25
Poliertes Silizium (hydrophobiert)	95,90
	98,00
	99,40
	98,70
	98,70
	99,05
	98,70
	99,05
	99,05
	99,05
	99,05
	100,80
	101,15
	101,50
	101,50
	101,15
	105,35
	105,35
96,95	
96,95	
97,30	
98,00	
98,00	

Fortsetzung C3a

Oberfläche	Adhäsionskraft [nN]
Poliertes Silizium	45,15
	40,60
	43,05
	31,26
	31,26
	29,82
	29,75
	30,84
	30,66
	30,91
	29,65
	29,82
	31,05
	30,38
Poliertes Silizium (hydrophobiert)	49,21
	51,43
	66,23
	67,34
	62,90
	74,74
	69,93
	69,56
	67,71
	62,53
	62,16
	65,86
	68,45
	68,08
68,45	
74,00	
79,18	
75,48	

Fortsetzung C3b

Oberfläche	Adhäsionskraft [nN]
Poliertes Silizium (hydrophobiert)	98,35
	98,00
	99,05
Strukturiertes Silizium	Keine Messung möglich
Strukturiertes Silizium (hydrophobiert)	99,40
	88,90
	88,90
	87,15
	87,15
	86,80
	89,95
	89,95
	92,40
	89,25
	88,90
	82,95
	82,95
	83,65
	86,10
	90,65
	92,40
	94,85
	94,85
	95,20
	94,50
	94,50
	94,85
94,85	
94,50	
94,15	
89,60	
89,60	

Fortsetzung C3a

Oberfläche	Adhäsionskraft [nN]
Strukturiertes Silizium	46,25
	65,49
	65,49
	65,86
	67,71
	69,19
	64,38
	68,45
	68,08
	71,78
	73,26
	68,08
	75,85
	73,26
	66,97
	71,04
	77,33
	62,90
	52,91
	51,06
	48,84
	44,03
	42,18
	38,85
	35,34
	33,04
	30,49
	29,23
	23,94
	22,05
22,57	
42,92	
59,57	

Fortsetzung C3b

Oberfläche	Adhäsionskraft [nN]
Strukturiertes Silizium (hydrophobiert)	91,00
	95,90
	95,90
	96,60
	96,95
	99,05
	97,65
	98,35
	98,35
	98,70
	100,80
	100,80
	101,15
101,85	

Fortsetzung C3a

Oberfläche	Adhäsionskraft [nN]
<b>Strukturiertes Silizium</b>	59,20
	67,34
	67,71
	70,67
	73,26
	72,52
	72,89
	71,78
	71,41
	68,45
	66,97
	67,34
	68,82
	69,19
	68,82
	67,34
	63,64
	58,46
	54,39
	53,65
	40,70
	30,90
	20,28
	41,81
	61,42
	56,98
	47,73
	56,61
	59,57
	58,09
56,98	
57,35	
45,88	

Fortsetzung C3a

<b>Oberfläche</b>	<b>Adhäsionskraft [nN]</b>
<b>Strukturiertes Silizium</b>	55,50
	65,86
	79,92
	77,33
	78,07
	80,66
	78,81
	75,11
	76,59
<b>Strukturiertes Silizium (hydrophobiert)</b>	87,50
	84,00
	83,65
	83,30
	85,05
	85,05
	85,75
	85,75
	85,40
	84,70
	85,05
	84,70
	84,70
	84,70
	85,40
	85,40
	85,75
	85,40
	86,10
	86,10
	86,10
87,50	
78,05	
78,05	

Fortsetzung C3a

Oberfläche	Adhäsionskraft [nN]
Strukturiertes Silizium (hydrophobiert)	86,10
	85,05
	57,05
	45,15
	72,45
	68,60
	90,65
	87,85
	85,75
	83,65
	47,25

**Tabelle C4 a-b:** Adhäsionskraftmessungen mit Spore von a) *Alternaria alternata* und b) *Pyricularia oryzae* auf unterschiedlichen Siliziumoberflächen

a) *Alternaria alternata*

Oberfläche	Adhäsionskraft [nN]
Poliertes Silizium	299,33
	300,44
	304,51
	304,14
	303,03
	300,81
	304,51
	301,92
	306,73
	308,95
	306,73
	307,47
	304,88
	303,77
	307,10
304,51	

b) *Pyricularia oryzae*

Oberfläche	Adhäsionskraft [nN]
Poliertes Silizium	258,72
	262,68
	262,35
	261,36
	261,69
	263,01
	262,35
	262,02
	261,03
	262,02
	261,03
	260,37
	256,41
	258,72
	259,38
258,72	

Fortsetzung C4a	
Oberfläche	Adhäsionskraft [nN]
Poliertes Silizium	304,14
	303,77
	302,29
	298,96
	299,70
	297,11
	301,92
	290,82
	294,89
	278,98
	312,28
	312,28
	313,02
	314,87
	320,79
	327,82
	330,78
	331,15
	334,85
	338,55
	340,03
	346,32
	346,32
	356,31
	355,57
	361,49
364,45	
369,26	
373,70	
Poliertes Silizium (hydrophobiert)	225,70
	225,70
	232,36

Fortsetzung C4b	
Oberfläche	Adhäsionskraft [nN]
Poliertes Silizium	258,72
	261,36
	262,35
	262,35
	262,35
	265,32
	264,66
	264,66
	265,65
	271,59
	271,26
	273,24
	274,23
	275,88
	278,19
	278,19
	277,20
	277,53
	278,85
	276,54
	275,88
	277,20
	277,53
	277,53
	276,87
	267,63
261,69	
262,02	
Poliertes Silizium (hydrophobiert)	234,96
	234,96
	238,26
	242,88

Fortsetzung C4a

Oberfläche	Adhäsionskraft [nN]
<b>Poliertes Silizium (hydrophobiert)</b>	225,7
	225,7
	232,36
	234,58
	236,43
	256,04
	251,97
	256,04
	257,89
	259,74
	264,55
	265,66
	268,25
	271,21
	270,84
	270,84
	271,58
	272,69
	276,02
	204,98
	205,72
	213,49
	224,22
	222,37
	229,40
	233,10
	229,40
	233,10
	233,47
	239,39
234,58	
239,02	
240,50	

Fortsetzung C4b

Oberfläche	Adhäsionskraft [nN]
<b>Poliertes Silizium (hydrophobiert)</b>	234,96
	238,26
	242,88
	243,87
	246,51
	248,16
	249,81
	250,14
	252,45
	251,13
	252,45
	252,45
	254,43
	255,75
	255,75
	255,75
	253,44
	254,76
	254,43
	254,76
	254,43
	254,43
	254,76
	254,76
	255,42
	232,98
	232,98
	231,00
	231,66
	229,35
231,00	
230,67	
230,01	

Fortsetzung C4a

Oberfläche	Adhäsionskraft [nN]
<b>Poliertes Silizium (hydrophobiert)</b>	243,83
	243,09
	245,31
	244,57
	249,75
	252,34
	251,60
	254,93
	254,19
	257,15
	254,19
	256,78
	259,37
	257,89
	216,82
	218,30
	218,30
	222,74
	229,77
	231,25
	233,47
	233,84
	234,58
	235,32
	237,17
	238,65
	239,02
	239,39
	239,02
	237,91
238,65	
240,87	
240,87	

Fortsetzung C4b

Oberfläche	Adhäsionskraft [nN]
<b>Poliertes Silizium (hydrophobiert)</b>	232,98
	232,32
	233,64
	232,65
	232,98
	232,32
	230,67
	231,33
	230,67
	230,34
	231,66
	232,98
	<b>Strukturiertes Silizium</b>
305,58	
303,93	
302,61	
305,25	
303,93	
302,61	
302,28	
304,59	
304,59	
305,91	
304,26	
304,59	
304,59	
304,26	
304,26	
303,93	
306,57	
306,90	
305,91	
305,58	

Fortsetzung C4a

Oberfläche	Adhäsionskraft [nN]
<b>Poliertes Silizium (hydrophobiert)</b>	240,87
	244,20
	243,83
	242,72
	247,16
	246,42
	246,05
<b>Strukturiertes Silizium</b>	202,02
	210,53
	206,83
	257,89
	258,63
	257,15
	260,85
	278,24
	274,91
	271,95
	304,88
	301,18
	308,58
	308,58
	359,27
	359,27
	370,00
	370,00
	458,8
	458,8
451,4	
455,1	
492,1	
473,6	
268,62	

Fortsetzung C4b

Oberfläche	Adhäsionskraft [nN]
<b>Strukturiertes Silizium</b>	305,58
	305,25
	305,25
	304,92
	307,23
	307,89
	315,48
	317,79
	318,45
	343,20
	339,90
	333,30
	339,90
	339,90
	339,90
	339,90
	339,90
336,60	
349,80	
349,80	
349,80	
346,50	
346,50	
343,20	
346,50	
<b>Strukturiertes Silizium (hydrophobiert)</b>	188,43
	188,43
	188,10
	186,45
	190,41
	191,73
	195,36

Fortsetzung C4a

Oberfläche	Adhäsionskraft [nN]
<b>Strukturiertes Silizium</b>	268,62
	258,26
	264,92
	254,56
	225,70
	230,88
	200,91
	180,56
	181,67
	186,11
	177,97
	171,31
	159,47
	164,28
	172,79
	163,54
	162,80
	332,63
	332,63
	335,96
	339,29
	347,06
	349,65
	349,65
	355,57
	355,94
	355,94
	358,16
	360,38
	362,23
361,49	
363,71	
366,67	

Fortsetzung C4b

Oberfläche	Adhäsionskraft [nN]
<b>Strukturiertes Silizium (hydrophobiert)</b>	198,00
	199,32
	199,65
	204,93
	204,60
	206,58
	208,56
	209,22
	210,87
	208,56
	213,18
	216,81
	216,15
	217,14
	220,44
	218,79
	222,75
	225,06
	225,72
	227,04
	228,03
	229,02
	229,68
	230,34
	229,35
	230,01
	228,03
	227,37
	229,68
	229,02
225,06	
229,35	
231,00	

Fortsetzung C4a

Oberfläche	Adhäsionskraft [nN]
Strukturiertes Silizium	358,53
	359,64
	361,12
	363,71
	364,08
	365,56
	384,80
	384,80
	384,80
	384,80
	384,80
	384,80
	388,50
	384,80
	384,80
	381,10
	410,70
	410,70
	407,00
	407,00
	407,00
	403,30
	403,30
	403,30
403,30	
403,30	
403,30	
403,30	
410,70	
414,40	
Strukturiertes Silizium (hydrophobiert)	266,03
	266,03
	208,31
	162,80

Fortsetzung C4b

Oberfläche	Adhäsionskraft [nN]
Strukturiertes Silizium (hydrophobiert)	162,03
	159,06
	175,23
	192,06
	199,32
	212,19
	226,38
	235,62
	243,54
	254,10
	262,02
	267,96
	273,90
	274,56
	284,46
	281,82
	274,56
	283,14
283,14	
285,45	

Fortsetzung C4a

Oberfläche	Adhäsionskraft [nN]
<b>Strukturiertes Silizium (hydrophobiert)</b>	266,03
	266,03
	208,31
	162,8
	148,37
	140,23
	320,05
	320,05
	299,33
	321,16
	209,05
	176,49
	204,24
	295,26
	295,26
	292,67
	289,34
	287,12
	290,45
	304,14
	297,11
	301,92
	294,52
	297,11
	292,67
	292,67
	300,81
	296,37
	216,08
	227,92
228,66	
233,47	
233,84	

Fortsetzung C4a

Oberfläche	Adhäsionskraft [nN]
Strukturiertes Silizium (hydrophobiert)	226,44
	222,37
	224,96
	247,16
	288,23
	269,73
	253,82
	240,87
	224,96
	219,04
	218,67
	220,15
	225,33

**Tabelle C5 a-b:** Adhäsionskraftmessungen mit a) Glaskugel und b) Polystyrenkugel auf unterschiedlichen pflanzlichen Oberflächen

a) Glaskugel

Oberfläche	Adhäsionskraft [nN]
Zuckerrübenblatt	125,80
	125,80
	107,30
	85,84
	74,74
	92,87
	112,48
	132,09
	105,82
	87,32
	72,89
	68,08

b) Polystyrenkugel

Oberfläche	Adhäsionskraft [nN]
Zuckerrübenblatt	61,60
	38,85
	38,85
	36,75
	42,35
	40,95
	45,15
	48,30
	54,25
	59,85
	46,20
	46,20

Fortsetzung C5a

Oberfläche	Adhäsionskraft [nN]
	77,70
	86,21
	94,72
	103,97
	122,10
	140,97
	157,99
	130,61
	110,26
	120,99
	132,83
	111,00
	95,46
	103,60
	112,48
<b>Zuckerrübenblatt</b>	95,09
	82,51
	87,69
	93,98
	102,49
	110,26
	118,40
	98,42
	107,30
	117,66
	99,16
	106,93
	114,33
	125,43
	135,79
	112,85

Fortsetzung C5b

Oberfläche	Adhäsionskraft [nN]
	43,05
	46,55
<b>Zuckerrübenblatt</b>	42,35
	47,95
	57,75
	64,40
	130,55
	130,55
	94,85
	83,65
	65,45
	56,70
	57,05
	79,45
	75,25
	68,60
	59,15
	68,25
<b>Reisblatt</b>	77,35
	74,55
	76,30
	75,95
	77,35
	88,55
	101,15
	128,10
	106,05
	79,10
	66,85
	62,30
	71,75

Fortsetzung C5a

Oberfläche	Adhäsionskraft [nN]
<b>Zuckerrübenblatt</b>	115,44
	102,49
	111,00
	120,99
	95,83
	96,20
<b>Reisblatt</b>	76,96
	76,96
	82,14
	74,37
	83,99
	82,88
	76,22
	79,18
	77,33
	86,21
	91,39
	86,58
	92,50
	80,66
	80,29
	103,97
	109,52
	106,19
	116,55
	121,36
122,84	
126,17	
128,76	
129,13	
111,00	

Fortsetzung C5b

Oberfläche	Adhäsionskraft [nN]
<b>Reisblatt</b>	77,35
	58,10
	53,20
	81,20
	65,80
	86,45
	93,80
	79,80
	74,90
	70,35
	73,15
	87,85
	73,85
	77,35
	85,75
	109,55
	78,05
	74,20
	89,95
	75,60
79,80	
26,11	
26,11	
26,78	
24,19	
23,80	
21,35	
26,53	
25,06	
26,95	

Fortsetzung C5a

Oberfläche	Adhäsionskraft [nN]
Reisblatt	116,18
	116,18
	120,25
	122,47

Fortsetzung C5b

Oberfläche	Adhäsionskraft [nN]
Reisblatt	40,60
	37,10
	34,83
	39,55
	38,85
	38,85
	37,80
	37,80
	40,60

**Tabelle C6 a-b:** Adhäsionskraftmessungen mit Sporen von a) *Alternaria alternata* und b) *Pyricularia oryzae* auf unterschiedlichen pflanzlichen Oberflächen

a) *Alternaria alternata*

Oberfläche	Adhäsionskraft [nN]
Zuckerrübenblatt	121,72
	118,32
	198,90
	198,90
	177,14
	173,06
	199,58
	227,80
	192,10
	193,46
	193,46
	253,98
	222,36
	249,90
	300,56

b) *Pyricularia oryzae*

Oberfläche	Adhäsionskraft [nN]
Zuckerrübenblatt	1419,00
	1392,60
	1260,60
	1135,20
	1069,20
	993,30
	963,60
	1062,60
	1115,40
	1188,00
	1290,30
	1178,10
	1089,00
	1036,20
1089,00	

Fortsetzung C6a

Oberfläche	Adhäsionskraft [nN]
Zuckerrübenblatt	346,80
	418,20
	328,44
	267,92
	296,14
	331,16
	273,02
	306,68
	353,60
	394,40
	445,40
	428,40
	340,00
	397,80
	499,80
	663,00
	445,40
	584,80
	401,20
	312,12
	642,60
	642,60
	391,00
	276,08
	303,62
	353,60
	421,60
	421,60
353,60	
380,80	
510,00	

Fortsetzung C6b

Oberfläche	Adhäsionskraft [nN]
Zuckerrübenblatt	1164,90
	1250,70
	1379,40
	1524,60
	1333,20
	1188,00
	1092,30
	1161,60
	1270,50
	1145,10
	1065,90
	1131,90
	1207,80
	1092,30
	1164,90
	1260,60
	1141,80
	1280,40
	1141,80
	1244,10
	1112,10
	1036,20
	1155,00
	1283,70
	1306,80
	1234,20
	1191,30
	1399,20
1303,50	
1504,80	
1465,20	

Fortsetzung C6a

Oberfläche	Adhäsionskraft [nN]
Zuckerrübenblatt	472,60
	445,40
	408,00
	238,34
	196,52
	272,34
	308,04
	459,00
	431,80
	331,50
	404,60
	537,20
	686,80
	717,40
	533,80
	523,60
	581,40
	652,80
	690,20
	724,20
	663,00
	758,20
	768,40
	894,20
	680,00
	748,00
805,80	
601,80	
625,60	
669,80	

Fortsetzung C6b

Oberfläche	Adhäsionskraft [nN]
Zuckerrübenblatt	1369,50
	1273,80
	1197,90
	1122,00
	1056,00
	1161,60
	1085,70
	1168,20
	1273,80
	1389,30
	1498,20
	1382,70
	1240,80
	1392,60
	1518,00
	1372,80
	1263,90
	1164,90
	1254,00
	1359,60
	1448,70
	1494,90
	1415,70
	1527,90
	1366,20
	1422,30
1610,40	
1425,60	
1306,80	
1461,90	

Fortsetzung C6a

Oberfläche	Adhäsionskraft [nN]
<b>Zuckerrübenblatt</b>	513,40
	554,20
	870,40
	870,40
	676,60
	734,40
	775,20
	809,20
	856,80
	564,40
	710,60
	809,20
	935,00
	625,60
	652,80
	744,60
	581,40
	615,40
<b>Reisblatt</b>	165,12
	165,12
	168,96
	163,52
	156,80
	156,80
	158,40
	218,24
	182,72
	130,24
	141,44
	171,52
	188,16

Fortsetzung C6b

Oberfläche	Adhäsionskraft [nN]
<b>Reisblatt</b>	270,66
	353,34
	401,70
	303,03
	290,55
	245,70
	274,17
	247,65
	198,51
	192,66
	174,72
	191,88
	175,11
	167,31
	184,47
	269,49
	221,52
	221,52
	260,52
	288,21
260,13	
194,22	
188,76	
167,31	
170,04	
184,86	
180,18	
178,23	
201,24	
262,47	
234,00	

Fortsetzung C6a

Oberfläche	Adhäsionskraft [nN]
<b>Reisblatt</b>	176,00
	146,56
	176,00
	146,56
	190,72
	168,32
	162,88
	163,20
	168,00
	158,72

Fortsetzung C6b

Oberfläche	Adhäsionskraft [nN]
<b>Reisblatt</b>	223,08
	205,14
	223,08
	205,14
	203,58
	207,09
	189,93
	192,27
	189,93
	183,30
	194,61
	188,76
	172,38
	178,62
	189,15
	171,99
	170,43
	179,01
	180,18
	165,36
	152,88
	159,12
	187,98
	200,85
	223,47
	218,40
	211,38
	174,33
194,22	
185,64	
173,94	
168,09	
186,42	

Fortsetzung C6b

<b>Oberfläche</b>	<b>Oberfläche</b>
<b>Reisblatt</b>	212,94
	269,88
	316,68
	315,12