(19) Europäisches Patentamt
European Patent Office
Office européen des brevets

(11) **EP 3 232 432 A1**

(12) **EUROPÄISCHE PATENTANMELDUNG**

(43) Veröffentlichungstag:
18.10.2017 Patentblatt 2017/42

(51) Int Cl.:
G10D 1/00 *(2006.01)*

(21) Anmeldenummer: **16164755.7**

(22) Anmeldetag: **11.04.2016**

(84) Benannte Vertragsstaaten:
AL AT BE BG CH CY CZ DE DK EE ES FI FR GB GR HR HU IE IS IT LI LT LU LV MC MK MT NL NO PL PT RO RS SE SI SK SM TR
Benannte Erstreckungsstaaten:
BA ME
Benannte Validierungsstaaten:
MA MD

(71) Anmelder: **EMPA Eidgenössische Materialprüfungs- und Forschungsanstalt**
CH-8600 Dübendorf (CH)

(72) Erfinder: **Die Erfindernennung liegt noch nicht vor**

(74) Vertreter: **Schmauder & Partner AG**
Patent- & Markenanwälte VSP
Zwängiweg 7
8038 Zürich (CH)

(54) **VERFAHREN ZUR VERBESSERUNG DER AKUSTISCHEN EIGENSCHAFTEN VON FICHTEN-KLANGHOLZ**

(57) Bei einem Verfahren zur Verbesserung der akustischen Eigenschaften von Fichten-Klangholz für Musikinstrumente wird mindestens ein Klangholzrohling unter kontrollierten, sterilen Bedingungen einer Behandlung mit *Physisporinus vitreus* unterzogen. Dabei wird der vorgängig sterilisierte Klangholzrohling in ein mit Pilzmyzel angereichertes Flüssigmedium getaucht und darin während einer Einwirkungszeit im Dunkeln gehalten und abschliessend sterilisiert, wobei während der Einwirkungszeit eine Temperatur von 18 bis 26°C und eine relative Luftfeuchte von ungefähr 60 bis ungefähr 80% eingestellt wird. Dadurch, dass das Flüssigmedium nanofibrillierte Cellulose (NFC) in einem Anteil von 200 bis 300 g pro Liter enthält, wird eine reproduzierbare, gleichmässige und von lokalen Fehlstellen freie Verbesserung der akustischen Eigenschaften des Klangholzes gewährleistet.

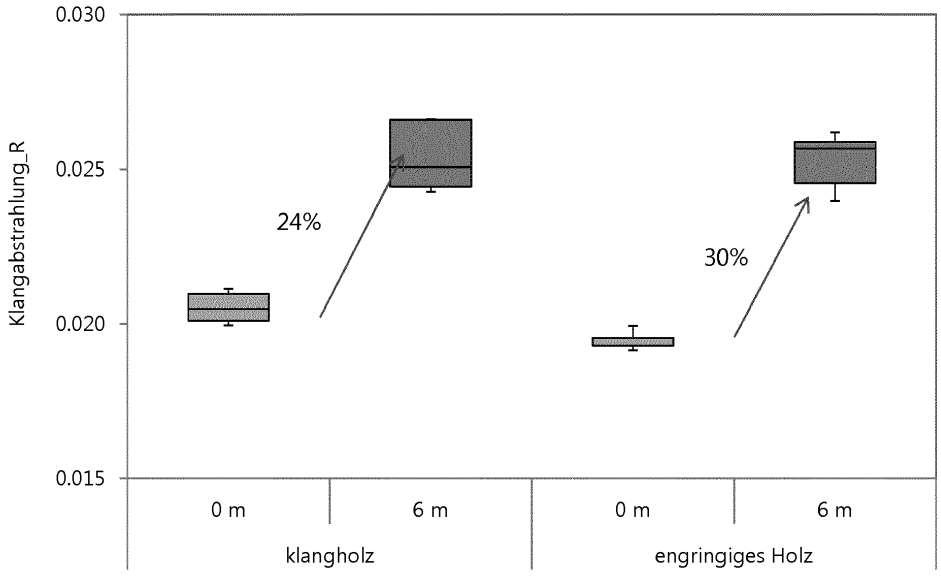


Fig. 5

EP 3 232 432 A1

Beschreibung

Technisches Gebiet

[0001] Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Verbesserung der akustischen Eigenschaften von Fichten-Klangholz für Musikinstrumente. Weiterhin betrifft die Erfindung ein verbessertes Fichten-Klangholz für Musikinstrumente, sowie Musikinstrumente, insbesondere Streichinstrumente, deren Resonanzplatten aus derartigem Fichten-Klangholz bestehen.

Stand der Technik

[0002] Klangholz für Musikinstrumente (sogenanntes Resonanzholz) soll möglichst leicht sein, gleichzeitig aber einen hohen Elastizitätsmodul (E-Modul bzw. Y-oung's Modul) und eine hohe Schallgeschwindigkeit besitzen. Es soll ferner astfrei sein und schmale, homogene Jahrringe sowie einen geringen Spätholzanteil (<20%) aufweisen. Nur wenige, sorgfältig ausgewählte Holzsortimente erfüllen diese strengen Qualitätskriterien.

[0003] Musikinstrumente, die während des späten 17. und frühen 18. Jahrhunderts gebaut wurden, besitzen im Vergleich zu zeitgenössischen Instrumenten vielfach bessere Qualitätseigenschaften. Eine der Hypothesen zur Erklärung dieses Unterschieds führt die besondere Holzqualität dieser Instrumente auf die als Maunder-Minimum bezeichnete Klimasituation zurück, die zwischen 1645 und 1715 herrschte und in der die längeren Winter und kühleren Sommer offenbar eine langsamere und gleichmässigere Holzbildung und damit einen geringeren Spätholzanteil bewirkten. Der berühmte Geigenbauer Antonio Stradivari verwendete in den letzten Dekaden seines Schaffens (der sogenannten "goldenen Ära") vorwiegend Fichtenholz von Bäumen, die während des Maunder-Minimums gewachsen waren. Diese Instrumente gelten seit langem als ein nur ganz selten wieder erreichtes Klangideal.

[0004] Die (akustische) Materialqualität von Klangholz wird allgemein durch den Quotienten c/p definiert, wobei c die Schallgeschwindigkeit und p die Rohdichte des Klangholzes bedeuten (Ono & Norimoto, 1983; 1984; Spycher, 2008; Spycher et al., 2008; Tab. 4). Die Schallgeschwindigkeit entspricht der Quadratwurzel aus dem Verhältnis von E-Modul (für Biegung längs zur Faser) zu Dichte. Der E-Modul ist ein von der Geometrie unabhängiger Materialwert; das Produkt aus E-Modul und Flächenträgheitsmoment ergibt die Biegesteifigkeit des Werkstücks (Ono & Norimoto, 1983; 1984; Spycher, 2008; Spycher et al., 2008). Die Schallgeschwindigkeit z.B. von Fichtenholz beträgt in Längsrichtung 4800 bis 6200 m/s, die mittlere Rohdichte 320 bis 420 kg/m^3. Beide Parameter sind, wie viele andere Holzeigenschaften abhängig von der Holzfeuchte, was die Anforderungen an die Präzision und Infrastruktur für die Experimente aber auch an die Auswertung der Versuchsergebnisse erhöht. Von besonderem Interesse bei allen Massnahmen zur Verbesserung der Materialqualität ist der Einfluss, den relative Änderungen von E-Modul und Rohdichte auf die Schallgeschwindigkeit haben. Verändert sich bei einer bestimmten Massnahme der E-Modul (in %) etwa proportional zur Veränderung der Rohdichte (in %), so bleibt die Schallgeschwindigkeit annähernd gleich (die Materialqualität erhöht sich dann etwa umgekehrt proportional zu einer Verringerung der Rohdichte); ein solches Verhältnis relativer Änderungen von E-Modul und Rohdichte wird als "eng" bezeichnet (Ono & Norimoto, 1983; 1984; Spycher, 2008; Spycher et al., 2008). Verringert sich dagegen bei einer bestimmten Massnahme der E-Modul (in %) wesentlich weniger als die Rohdichte (in %), so wird die Schallgeschwindigkeit erhöht (die Materialqualität steigt dann mehr als umgekehrt proportional zu einer Verringerung der Rohdichte). Ein solches Verhältnis relativer Änderungen von E-Modul und Rohdichte wird als "weit" oder "gross" bezeichnet und ist zur Erzielung einer hohen Materialqualität von Klangholz sehr erwünscht (Schleske, 1998; Wegst, 2006). Klangholz mit einem weiten E-Modul-Rohdichte-Verhältnis ist jedoch in der Natur selten und folglich teuer (Bond, 1976; Bucur, 2006).

[0005] Es wurden schon diverse Verfahren zur Verbesserung der akustischen Eigenschaften von Klangholz versucht. Insbesondere wurde in der EP 1734504 A1 vorgeschlagen, das Klangholz während einer begrenzten Behandlungszeit der Einwirkung einer holzzersetzenden Pilzart auszusetzen. Dabei seien die Pilzart und die Behandlungsdauer derart zu wählen, dass durch die Behandlung einerseits eine Vergrösserung des Verhältnisses von Schallgeschwindigkeit des Holzes zu Rohdichte des Holzes erreicht wird und andererseits vorgegebene Mindestfestigkeitswerte des Klangholzes nicht unterschritten werden. Als Pilzarten wurden Asco- und Basidiomyceten aus der Familie der *Leotiaceae, Polyporaceae, Schizophyllaceae, Trichlomataceae* und *Xylariaceae* eingesetzt. Zur Durchführung des Verfahrens wurde eine Futterbrettmethode verwendet, bei der das zu behandelnde Klangholz zwischen zwei pilzinfizierten Hölzern gleicher Abmessung platziert wird.

[0006] In der Folge ergaben umfangreiche Untersuchungen, dass eine gegenüber dem Verfahren nach EP 1734504 A1 ausgeprägtere Verbesserung der akustischen Eigenschaften von Klangholz wünschenswert wäre. Insbesondere zeigte sich, dass keine der vorgeschlagenen Pilzarten den Dämpfungsfaktor des Klangholzes zu erhöhen vermag. Eine Erhöhung des Dämpfungsfaktors bei gleichzeitiger Verbesserung der akustischen Materialqualität mindert die hohen Töne des Instruments, die für den Hörer oft schmerzhaft klingen.

[0007] In dieser Hinsicht wurde überraschend gefunden, dass durch eine Behandlung mit *Physisporinus vitreus* eine

Verbesserung der oben erwähnten akustischen Materialqualitätswerte bei gleichzeitiger Erhöhung des Dämpfungsfaktors erzielen lässt, womit insgesamt eine Verbesserung der akustischen Eigenschaften erreicht wird (Schwarze, F.W.M.R., Spycher, M., Fink, S. (2008) Superior wood for violins - wood decay fungi a substitute for cold climate. New Phytologist 179, 1095-1104).

[0008] Ein Nachteil der bisher beschriebenen Verfahren liegt darin, dass sich eine gleichmässige Besiedlung des Holzes durch die ausgewählten Pilze nicht gewährleisten lässt. Eine unregelmässige Besiedlung hat zur Folge, dass die akustische Materialqualität nur uneinheitlich oder sogar überhaupt nicht verbessert wird. Zudem birgt sie die Gefahr von unerwünschten Festigkeitsverlusten, Rissen und Spalten im Holz. Ausserdem hat sich herausgestellt, dass *Physisporinus vitreus* eine nur geringe Kompetitivität gegen andere Pilzarten aufweist und deshalb sehr anfällig auf Kontamination durch andere Spezies ist.

Darstellung der Erfindung

[0009] Aufgabe der Erfindung ist es, ein verbessertes Verfahren zur Herstellung von Fichten-Klangholz für Musikinstrumente anzugeben, welches insbesondere eine Verbesserung der akustischen Eigenschaften, eine kürzere Verfahrensdauer und ein homogeneres Erzeugnis gewährleistet. Weitere Aufgaben der Erfindung bestehen darin, ein verbessertes Klangholz für Musikinstrumente, sowie daraus gefertigte Musikinstrumente bereit zu stellen.

[0010] Diese Aufgaben werden erfindungsgemäss gelöst durch das im Anspruch 1 angegebene Verfahren, durch das im Anspruch 10 definierte Klangholz sowie durch das im Anspruch 11 definierte Musikinstrument.

[0011] Gemäss einem ersten Aspekt der Erfindung wird zur Verbesserung der akustischen Eigenschaften von Fichten-Klangholz für Musikinstrumente ein Klangholzrohling unter kontrollierten, sterilen Bedingungen einer Behandlung mit *Physisporinus vitreus* unterzogen. Dabei wird der vorgängig sterilisierte Klangholzrohling in ein mit Pilzmyzel angereichertes Flüssigmedium getaucht und darin unter Lichtausschluss während einer Einwirkungszeit gehalten und abschliessend sterilisiert. Das Flüssigmedium enthält nanofibrillierte Cellulose (NFC) in einem Anteil von 200 bis 300 g pro Liter. Unter "kontrollierten, sterilen Bedingungen" wird im vorliegenden Zusammenhang eine Umgebung verstanden, in der zumindest die Temperatur und die relative Luftfeuchte in einem vordefinierten Bereich gehalten werden und eine Kontamination mit fremden Pilzspezies verhindert wird. Erfindungsgemäss wird eine Temperatur von 18 bis 26°C und eine relative Luftfeuchte von ungefähr 60 bis ungefähr 80% eingestellt.

[0012] Durch die anfängliche Sterilisation und die anschliessende Behandlung mit *Physisporinus vitreus* unter sterilen Bedingungen in einem geeigneten Inkubations-behälter wird sichergestellt, dass der Prozess nicht durch Kontaminationen beeinträchtigt wird. Mit der abschliessenden Sterilisation wird die Wirkung von *Physisporinus vitreus* auf kontrollierte Art und Weise gestoppt. Dadurch, dass das Flüssigmedium nanofibrillierte Cellulose (NFC) in einem Anteil von 200 bis 300 g pro Liter enthält, wird eine wesentlich verbesserte Effizienz des Prozesses erzielt, welcher somit deutlich schneller und homogener abläuft.

[0013] Durch die erfindungsgemässen Massnahmen wird eine reproduzierbare, gleichmässige und von lokalen Fehlstellen freie Verbesserung der akustischen Eigenschaften des Klangholzes gewährleistet.

[0014] Als Klangholzrohling ist generell ein plattenförmiger Abschnitt aus einem geeigneten Klangholz zu verstehen, der insbesondere zur Herstellung der Decke oder des Bodens eines Streich- oder Zupfinstrumentes vorgesehen ist. Im vorliegenden Zusammenhang handelt es sich ausnahmslos um Fichtenholz.

[0015] Als Inkubationsbehälter für die Verfahrensführung unter sterilen Bedingungen ist generell ein verschliessbarer mediumdichter Behälter aus sterilisierbaren Materialien, beispielsweise aus einem autoklavierbaren Kunststoff geeignet. Weiterhin muss der Behälter so ausgerüstet sein, dass im Inneren eine kontrollierte Atmosphäre vorgegebener Feuchtigkeit einstellbar ist. Für die kontrollierte Zufuhr von Luft ist mindestens ein mit einem sterilen Mikrofilter ausgestaltetes Ventil vorgesehen.

[0016] Als mit Pilzmyzel angereichertes Flüssigmedium wird in an sich bekannter Weise eine gepufferte wässrige Lösung mit Nährstoffen verstanden, die mit Myzelproben einer Reinkultur von *Physisporinus vitreus* versetzt und danach während einer geeigneten Zeit angezüchtet wurde.

[0017] Erfindungsgemäss enthält das Flüssigmedium einen Anteil von 200 bis 300 g nanofibrillierte Cellulose (NFC) pro Liter Flüssigmedium. Im vorliegenden Zusammenhang sind unter dem Begriff "nanofibrillierte Cellulose", auch als "NFC" abgekürzt, Cellulosefasern mit einem Durchmesser von ungefähr 3 nm bis ungefähr 200 nm und einer Länge von mindestens 500 nm sowie einem Aspektverhältnis (Länge : Durchmesser) von mindestens 100 zu verstehen. Typischerweise haben die NFC Fasern einen Durchmesser von 10 bis 100 nm, durchschnittlich 50 nm und eine Länge von mindestens einigen Mikrometern, und das Aspektverhältnis kann auch 1'000 oder mehr betragen. NFC wird allgemein durch ein mechanisches Zerkleinerungsverfahren aus Holz- und anderen Pflanzenfasern gewonnen; erste Beschreibungen gehen auf Herrick et al. (Herrick, F.W.; Casebier, R.L.; Hamilton, J.K.; Sandberg, K.R. Microfibrillated cellulose: Morphology and accessibility. J. Appl. Polym. Sci. Appl. Polym. Symp. 1983, 37, 797-813) sowie Turback et al. (Turbak, A.F.; Snyder, F.W.; Sandberg, K.R. Microfibrillated cellulose, a new cellulose product: Properties, uses, and commercial potential. J. Appl. Polym. Sci. Appl. Polym. Symp. 1983, 37, 815-827) im Jahr 1983 zurück. Das neue Material wurde

anfänglich als mikrofibrillierte Cellulose (MFC) bezeichnet. Heutzutage sind jedoch neben dem Begriff MFC unterschiedliche Bezeichnungen wie Cellulose-Nanofasern (CNF), nanofibrillierte Cellulose (NFC) sowie Cellulose Nano- oder Mikrofibrillen gebräuchlich. Es handelt sich dabei um ein semikristallines cellulosehaltiges Material aus Cellulosefasern mit hohem Aspektverhältnis (= Verhältnis von Länge zu Durchmesser), geringerem Polymerisationsgrad verglichen mit intakten Pflanzenfasern und entsprechend stark erhöhter Oberfläche, das beispielsweise durch einen Homogenisierungs- oder Mahlprozess gewonnen wird (Andresen, M.; Johansson, L.S.; Tanem, B.S.; Stenius, P. Properties and characterization of hydrophobized micro-fibrillated cellulose. Cellulose 2006, 13, 665-677). Im Gegensatz zu den geradlinigen "Cellulose-Whiskern", welche auch als "Cellulose-Nanokristalle" bezeichnet werden und die eine stabförmige Gestalt mit einer Länge von meist 100 bis 500 nm (je nach Cellulosequelle gibt es auch bis zu 1 μm lange Kristalle) haben, sind Cellulose-Nanofasern lang und biegsam. Die daraus gebildete NFC enthält in der Regel kristalline und amorphe Domänen und weist aufgrund starker Wasserstoffbrückenbindungen eine Netzwerkstruktur auf (siehe z.B. Lu, J.; Askeland, P.; Drzal, L.T. Surface modification of microfibrillated cellulose for epoxy composite applications. Polymer 2008, 49, 1285-1298; Zimmermann, T.; Pöhler, E.; Geiger, T. Cellulose fibrils for polymer reinforcement. Adv. Eng. Mat. 2004, 6, 754-761, Iwamoto, S.; Kai, W.; Isogai, A.; Iwata, T. Elastic modulus of single cellulose microfibrils from tunicate measured by atomic force microscopy. Biomacromolecules 2009, 10, 2571-2576).

[0018] Es versteht sich, dass das erfindungsgemässe Verfahren grundsätzlich mit einem einzigen Klangholzrohling durchgeführt werden kann. In aller Regel werden jedoch allein schon aus Gründen der Effizienz mehrere Klangholzrohlinge gleichzeitig behandelt. Hierfür ist der Inkubationsbehälter zweckmässigerweise mit entsprechenden Ausnehmungen und Auflageelementen ausgestattet. Zweckmässigerweise kann das Verfahren insbesondere mit zwei Klangholzrohlingen durchgeführt werden, die zusammen eine Decke für eine Geige bilden.

[0019] Bevorzugte Ausführungsformen des Verfahrens sind in den abhängigen Ansprüchen definiert.

[0020] Vorteilhafterweise wird die Behandlung mit *Physisporinus vitreus EMPA 642* durchgeführt (Anspruch 2).

[0021] Vorteilhafterweise wird während der Einwirkungszeit eine Temperatur von ungefähr 22°C, insbesondere im Bereich von 21°C bis 23°C, und eine relative Luftfeuchte von ungefähr 70%, insbesondere im Bereich von 65 bis ungefähr 75% eingestellt (Anspruch 3).

[0022] Bei der Durchführung des Verfahrens wird die Einwirkungszeit vorzugsweise derart gewählt, dass folgende Festigkeitswerte des Klangholzes erfüllt sind (Anspruch 4):

- Modul für Biegung längs zur Faser mindestens 7 GPa, vorzugsweise mindestens 10 GPa;
- Druckfestigkeit längs zur Faser mindestens 24 N/mm^2, vorzugsweise mindestens 34 N/mm^2; und
- Druckfestigkeit quer zur Faser mindestens 3 N/mm^2, vorzugsweise mindestens 4.2 N/mm^2.

[0023] Durch die erfindungsgemässen Massnahmen lässt sich die Herstellung von Klangholz mit hervorragenden Eigenschaften unter Verwendung einer vergleichsweise kurzen Einwirkungszeit von 4 bis 6 Monaten bewerkstelligen (Anspruch 5).

[0024] Das für das erfindungsgemässe Verfahren verwendete Flüssigmedium wird vorzugsweise durch Inkubation eines mit *Physisporinus vitreus* beimpften NFC-haltigen Nährmediums unter kontrollierten pH-Bedingungen gewonnen (Anspruch 6). Vorteilhafterweise wird hierfür ein wässriges Nährmedium mit Fichtenholzextrakt und nanofibrillierter Cellulose vorgelegt und mit einer pilzhaltigen Flüssigmedium-Kultur oder mit pilzbewachsenen Sägemehlteilchen beimpft.

[0025] Die nach der mehrmonatigen Einwirkungszeit durchzuführende Sterilisierung des Klangholzrohlings kann grundsätzlich auf bekannte Art und Weise erfolgen. Vorzugsweise wird hierfür Ethylenoxid verwendet (Anspruch 7).

[0026] Als Folge des erfindungsgemässen Verfahrens kommt es zu einer Erhöhung des Farbindexes der behandelten Klangholzrohlinge. Vorzugsweise wird der im Farbraum (L*,a*,b*) definierte Farbindex E* um mindestens 14 erhöht (Anspruch 8). Ausserdem wird vorteilhafterweise eine Farbänderung des Holzes bewirkt, welche durch einen im Farbraum (L*,a*,b*) definierten Farbabstand ΔE* von mindestens 11 gekennzeichnet ist (Anspruch 9).

[0027] Gemäss einem weiteren Aspekt der Erfindung zeichnet sich das mit dem erfindungsgemässen Verfahren hergestellte Fichten-Klangholz für Musikinstrumente dadurch aus, dass im Vergleich zu unbehandeltem Klangholz die Klangabstrahlung in Longitudinalrichtung um mindestens 20%, vorzugsweise um mindestens 24% erhöht ist und die Dämpfung in Longitudinalrichtung um mindestens 25%, vorzugsweise um mindestens 29% erhöht ist. Wie allgemein im Zusammenhang mit Holz üblich, wird auch im vorliegenden Fall zwischen "Longitudinal-", "Radial- " und "Tangentialrichtung" unterschieden. Die Longitudinalrichtung entspricht der Richtung des Baumwachstums, während sich die Radial- und Tangentialrichtungen auf die annähernd kreisförmigen Jahrringe beziehen. Beim Klangholz sind die Eigenschaften in Longitudinalrichtung für dessen akustische Eigenschaften, insbesondere also für den Klang einer Geige, besonders wichtig.

[0028] Noch ein weiterer Erfindungsaspekt betrifft ein Musikinstrument, insbesondere ein Streichinstrument, mit wenigstens einer Resonanzplatte aus erfindungsgemäss verbessertem Klangholz. Im vorliegenden Zusammenhang ist "Musikinstrument" im breitesten Sinn zu verstehen; insbesondere können derartige Resonanzplatten auch für Holzmem-

branen bei Lautsprecherboxen verwendet werden.

Kurze Beschreibung der Zeichnungen

[0029] Ausführungsbeispiele der Erfindung werden nachfolgend anhand der Zeichnungen näher beschrieben, dabei zeigen:

Fig. 1 gelelektrophoretische Auftrennung der RAPD-Fragmente unter Verwendung des Primers 08/9328; die Proben sind mit Untersuchunsgnummern gekennzeichnet (Tabelle 1), die Negativkontrolle (kein Templat-DNA) ist mit N bezeichnet; als DNA-Molekulargewichtsmarker wurde eine 100bp-Leiter (M) verwendet;

Fig. 2 Massenverluste in Holzproben nach 12-monatiger Inkubationszeit mit *Physisporinus vitreus:* Rohdichte ρ_R (Balken) und Massenverlust Δm (Linie mit Quadraten) für drei verschiedene Holzarten;

Fig. 3 (a) Beispiel für die Relaxation der Spannung (Stress) σ im Holz in Abhängigkeit von der Zeit; (b) Aufnahme einer Holzprobe vor und nach der Mikro-Biegebelastung;

Fig. 4 Spannungsrelaxation in Abhängigkeit zur Verformung unter Last in frisch geschlagenem Holz (Kontrolle), in pilzbehandeltem Fichtenholz und in alten Holzproben (Testore, Rougemont);

Fig. 5 Zunahme der Klangabstrahlung in longitudinaler Richtung in Holzproben nach 12-monatiger Inkubationszeit mit *Physisporinus vitreus*;

Fig. 6 Zunahme der Dämpfung in longitudinaler Richtung in Holzproben nach 12-monatiger Inkubationszeit mit *Physisporinus vitreus*;

Fig. 7 Veränderung der Gesamtfarbe (grün) und der Helligkeit (grau) von Klangholz (a) und Bauholz (b) nach unterschiedlicher Dauer (4-12 Monate) der Pilzbehandlung oder Lagerzeit; (c) frischgeschlagenes Holz (oben), 12 Monate pilzbehandelte Proben(mitte), alte Holzproben aus Rougemont (unten);

Fig. 8 Farbabstand ΔE^* von Klangholz (offene Kreise) und Bauholz (gefüllte Kreise) nach unterschiedlicher Dauer (4-12 Monate) der Pilzbehandlung gegenüber dem unbehandelten Zustand; die gestrichelte Linie zeigt den Farbabstand einer alten Holzprobe (Rougemont) gegenüber einer frischgeschnittenen Probe derselben Holzart; und

Fig. 9 Qualitativer Vergleich der FT-IR Spektralabsorption für unbehandeltes Holz (Kontrolle), 12 Monate pilzbehandeltes Holz und altes Holz (Testore und Rougemont) bei verschiedenen Wellenzahlen. Bei einer Wellenzahl von 1508 und 1738 cm^{-1} wurden Spitzenwerte gemessen (gestrichelte Linien).

Wege zur Ausführung der Erfindung

Molekularbiologische Pilzbestimmung

[0030] Für die molekularbiologische Bestimmung von *Physisporinus vitreus* wurde ein klonspezifischer Primer entworfen und synthetisiert. Dadurch kann in einer Echt-Zeit-Polymerase-Kettenreaktion (Echt-Zeit-PCR, Real-time-PCR) eine Sensitiviät von 10^{-5} erreicht werden. Der Nachweis von *P. vitreus* durch den Einsatz artspezifischer Primer in Kombination mit Pilz DNS-Extraktionstechniken direkt aus Holz wird erheblich vereinfacht, da bei der Durchführung der Identifizierung eine normale Standard PCR mit anschliessender Gelelektrophorese genügt. Der Zeitaufwand dieses Verfahrens umfasst wenige Stunden und ist somit im Vergleich mit der konventionellen Methode deutlich schneller und effektiver, da auf die Herstellung von Reinkulturen verzichtet werden kann. Zudem ist die Gefahr der Fremdkontamination bei der Probenentnahme durch die Verwendung des spezifischen Primerpaares deutlich minimiert.

[0031] Um das Vorhandensein und die Eindringtiefe von *P. vitreus* zu detektieren wurden nach der herkömmlichen Methode kleine Proben aus dem Holzinneren unter sterilen Bedingungen entnommen und auf Nährmedien übertragen. Anschliessend wurden die Proben im Klimaraum für mehrere Tage inkubiert und auf Myzelwachstum des Pilzes untersucht. Als Bestimmungsmerkmale dienten makro- und mikroskopische Charakteristika des Myzels. Dieses Vorgehen bedarf mehrere Tage bis Wochen und ist mit Risiken der Fremdkontamination verbunden, die eine (Re-) Identifizierung von *P vitreus* erschweren. Als Alternative zu diesem zeitaufwendigen Verfahren können molekularbiologische Methoden dienen, die den 80er-Jahren zur Charakterisierung von Pilzen erarbeitet wurden (Schmidt and Moreth, 2006).

[0032] Um den oben erwähnten Qualitätskriterien einer zuverlässigen Identifizierungsmethode gerecht zu werden, wurden stammspezifische Primer für den eindeutigen Nachweis des Pilzes *P. vitreus* konstruiert. In Tabelle 1 sind die in diesen Studien eingesetzten Pilzarten aufgelistet. Die DNS Extraktion für die molekularbiologischen Studien erfolgte mittels dem Extract-N-Amp™ Plant PCR Kit der Firma Sigma Aldrich nach den Herstellerangaben.

Tabelle 1: Verwendete Pilzarten

Pilze		Isolate-Nr.	Herkunft
1	*Physisporinus lineatus*	CBS 701.94	Centraalbeureau voor Schimmelcultures
2	*Physisporinus ulmarius*	CBS 186.60	Centraalbeureau voor Schimmelcultures
3	*Physisporinus laetus*	CBS 101079	Centraalbeureau voor Schimmelcultures
4	*Physisporinus sanguilentum*	CBS 193.76	Centraalbeureau voor Schimmelcultures
5	*Physisporinus vinctus*	CBS 153.84	Centraalbeureau voor Schimmelcultures
6	*Physisporinus rigidus*	CBS 160.64	Centraalbeureau voor Schimmelcultures
7	*Physisporinus vitreus*	EMPA 642	BFH-Hamburg
8	*Physisporinus vitreus*	EMPA 643	Albert-Ludwigs-Universität Freiburg
9	*Physisporinus vitreus*	EMPA 674	BFH-Hamburg
10	*Physisporinus vitreus*	EMPA 675	BFH-Hamburg
11	*Physisporinus vitreus*	EMPA 676	Centraalbeureau voor Schimmelcultures

[0033] Im ersten Schritt wurde für eine Stammdifferenzierung der eingesetzten Pilzarten eine RAPD-(Randomly Amplified Polymorphic DNA) PCR durchgeführt. Durch den Einsatz sehr kurzer Oligonukleotidprimer werden bei diesem Verfahren mittels PCR spezifische DNS-Bandenmuster erzeugt und für die Differenzierung verwendet. Hierbei handelt es sich um einige der gängigsten Methoden um eine schnelle Verwandtschaftsanalyse durchzuführen und unterschiedliche Isolate einer Art zu identifizieren (Schmidt and Moreth, 1998; Schmidt and Moreth, 2006). Insgesamt wurden DNA-Proben aus 11 Pilzarten (Tabelle 1) mit 10 Zufalls-10mer-Primern amplifiziert, und die elektrophoretisch aufgetrennten Bandenmuster ausgewertet (Fig. 1).

[0034] Für die Entwicklung eines spezifischen Primerpaares für P. vitreus wurde zunächst mittels der ITS 1/ITS 4-Primerkombination von White et al. (1990) die ITS1-5,8S-ITS2-Region der eingesetzten Pilzarten mit einem Thermocycler der Fa. Biometra amplifiziert. Zielregion der verwendeten Primer war die ribosomale DNA (rDNA). Sie besteht unter anderem aus kodierenden Genabschnitten 18S-, 5.8S- und 28S rRNA (bei Pilzen und anderen Eukaryoten), die konservativ sind (Schmidt and Moreth, 2006). Diese drei kodierenden Genabschnitte sind durch hochvariable Introns, die Internal Transcribed Spacers (ITS1 und ITS2) voneinander getrennt.

[0035] Die erhaltenen PCR Produkte wurden anschliessend kommerziell gereinigt und sequenziert (Synergene, Zürich). Die Sequenz der ITS-Region von P. vitreus 642 wurde in der internationalen Datenbank EMBL hinterlegt (Zugangs-Nr. FM202494). Auf Grund der Artspezifität des ITS-Bereichs wurde die Sequenz von P. vitreus 642 verwendet, um mit Hilfe des Programm Clustal X sowie dem Basic Local Alignment Search Tool (Primer-BLAST) des National Center for Biotechnology Information (NCBI, http://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/) kurze DNS-Folgen (20 Basen) zu isolieren, die ausschliesslich bei der Pilzart P. vitreus vorkommen. Diese kurzen DNS-Sequenzen wurden synthetisiert (Fa. Microsynth) und als P. vitreus-spezifisches Primerpaar verwendet. Dadurch wird *P. vitreus* nicht mehr allein durch ein Bandenmuster unterschieden, sondern durch eine artspezifische PCR, bei welcher nur DNS von *P. vitreus,* für den das Primerpaar konstruiert wurde, die Erzeugung eines PCR-Produktes von 426 Basenpaaren zulässt. Die Auswertung bzw. die Differenzierung ist eindeutig, da sie nur entweder ein positives bzw. negatives Ergebnis liefert (Schmidt and Moreth, 2000; Schmidt and Moreth, 2006).

Hinterlegung von biologischem Material

[0036] Eine Probe des oben erwähnten Stamms *Physisporinus vitreus EMPA* 642 wurde beim Centraalbureau voor Schimmelcultures Fungal Biodiversity Centre (CBS-KNAW), einer anerkannten Hinterlegungsstelle (International Depository Authority (IDA)) gemäss Budapest Treaty seit 1981, erfolgreich hinterlegt. Dem hinterlegten Material wurde die Accession Number (Zugangsnummer) FM202494 zugewiesen.

Beispiele

1. Pilzvorkultivierung

[0037] Zur Pilzanzucht wurde *Physisporinus vitreus* (EMPA Stamm Nr. 642 oder 643) auf einem geeigneten, sterilen Malz-Agar-Nährboden in Petrischalen (Ø 9cm) vorkultiviert. Sobald der Nährboden komplett vom Pilzmyzel von *P. vitreus* überwachsen war (nach ca. 12-16 Tagen) wurde in der Mitte des Nährbodens in jeder Petrischale unter sterilen Bedingungen ca. 2g steriles Fichten-Sägemehl (Teilchengröße < 2mm) eingefüllt. Nach weiteren 4 - 6 Wochen wurde das von *P. vitreus* komplett durchwachsene Sägemehlsubstrat zur Beimpfung des Flüssigmediums verwendet.

1.1 Nährbodenzusammensetzung

[0038]

- Malzextrakt 40g/Liter
- Agar (rein) 25g/Liter

1.2 Inkubationsbedingungen

[0039]

22° C und 70 ± 5 % rel. Feuchte (im Dunkeln)

1.3 Herstellung von Flüssigmedium

[0040] Ein nanofibrilliertes cellulosehaltiges Nährmedium hat sich aufgrund von Vorversuchen als besonderes geeignetes Flüssigmedium zur Anzucht von *P. vitreus* erwiesen.

2. Nährmedium-Zusammensetzung

[0041] In Leitungswasser mit 10% Fichtenholzextrakt [1)]:

- 300 g Nano-fibrillierte Cellulose / Liter
- 5.0 g Malzextrakt / Liter
- 7.1 g KCl / Liter

[1)] Fichtenholzextrakt (ca. 200g Fichteholzsägemehl in 1 Liter Leitungswasser während 30 Minuten ausgekocht; 24 Std bei Raumtemperatur stehen gelassen und abfiltriert)

2.1 Beimpfung des Flüssigmediums

[0042] 1200 ml nanofibrilliertes cellulosehaltiges Flüssigmedium wurde im Dampfautoklaven für 20-30 Minuten bei 121 ° C sterilisiert und mit ca. 100 ml pilzhaltigem (nicht mehr als 8 Wochen alten) Flüssigmedium-Kultur (mit gleicher Zusammensetzung) oder bei der Beimpfung einer Flüssigmedium-Erstkultur mit frischen pilzbewachsenen Sägemehlteilchen (ca. 1 - 2 g) wie unter Abs. 2 beschriebenen mit *P. vitreus* beimpft.

2.2 Inkubation

[0043] Die Inkubation des nanofibrillierten cellulosehaltigen Flüssigmediums erfolgte unter sterilen Bedingungen mit P. vitreus in einem Bioreaktor unter kontrollierten pH-Bedingungen (pH eingestellt auf 6.8 - 7.2 bzw. fakultativ unter kontrollierter Sauerstoffzufuhr). Die Drehzahl des Rührwerkes wurde gering eingestellt. Alternativ kann das Nährmedium auch als Steh- bzw. Schüttelkultur in geeigneten Erlenmeyerkolben mit Wattestopfen auf einem Horizontalschüttler (50 u/min) während 4 bis 8 Wochen in einer Klimakammer im Dunkeln bei 22° C. und 70 ± 5% rel. Feuchte hergestellt werden.

3. Pilzbehandlung von Fichtenholz

[0044] Das Einbringen des pilzhaltigen Flüssigmediums sowie die eigentliche Einwirkungszeit oder Pilzbehandlung des Fichtenholzes (Geigen-Deckenbretter aus Fichtenholz) erfolgte unter sterilen Bedingungen in einem speziell dafür

angefertigten Inkubator.

3.1 Aufbau des Inkubators

[0045] Der Inkubator besteht aus einem hitzebeständigen Behälter aus Kunststoff (PPC) mit Innenabmessungen von 554 mm x 354 mm x 141 mm (Bezugsquelle: WEZ Kunststoffwerk AG, CH-5036 Oberentfelden; Art. Nr. 6413.007) und einem passenden, modifizierten Deckel mit Sichtglas. In diesem Inkubator befanden sich zwei in ihrer Dimensionen und Form der zu behandelnden Klangholzrohlinge (Geigendecken) angepasste Behandlungsbehälter aus rostfreiem Edelstahl und passend eingelassenen Haltern (Auflagervorrichtungen) mit je einem dazu gehörigen Einfüllrohr mit 3 bis 4 Auslauföffnungen, welche innerhalb des Inkubatorbehälters mit einem Schlauchsystem (aus hitzebeständigen Material) und einem Einlass-Ventil verbunden sind. Mit diesem Aufbau lässt sich das pilzhaltige Flüssigmedium unter sterilen Bedingungen in den Inkubator füllen.

3.2 Vorbereitungen vor dem Einbringen des Flüssigmediums

[0046] Die beiden zu behandelnden Klangholzrohlinge (für eine Geigendecke) werden in die passenden Auflagevorrichtungen in Behandlungsbehälter aus rostfreiem Edelstahl gelegt. Die Gesamtmenge des später zur Befüllung notwendigen pilzhaltigen Flüssigmediums kann reduziert werden, indem optional im unteren Bereich des Behandlungsbehälters einige Glasperlen als Platzhalter (Volumenverdränger) eingefüllt werden.

[0047] Die Einfüllschläuche wurden innerhalb des Inkubatorbehälters mit den Einfüllventilen verbunden.

[0048] Der Inkubator wurde mit den Deckeln (mit Sichtglas) dicht verschlossen und der gesamte Behälter inkl. den darin plazierten Klangholzrohlinge unter geringer Wärmeeinwirkung z.B. mit ionisierender Strahlung sterilisiert.

3.3 Einbringen des pilzhaltigen Flüssigmediums

[0049] Der zuvor sterilisierte und mit den zu behandelnden Klangholzrohlingen (Geigendecken) ausgerüstete Inkubator wurde unter sterilen Bedingungen einem 10% Unterdruck (ca. 100 mbar) ausgesetzt. Durch den Unterdruck im Inkubator kann unter sterilen Bedingungen über die zuvor ebenfalls sterilisierten Kunststoffschläuche und Ventile, welche direkt mit dem Bioreaktor oder einer Schüttel- bzw. Stehkultur verbunden sind, das pilzhaltige Flüssigmedium über das Einfüllrohr in die Behandlungsbehälter mit den Klangholzrohlingen zugeleitet werden.

[0050] Sobald (über das Sichtglas im Deckel feststellbar) die Klangholzrohlinge gleichmässig von einer ca. 5 bis 10 mm dicken Schicht von pilzhaltigem Flüssigmedium bedeckt sind, wurde die Zuleitung gestoppt und die Zuleitungsschläuche entleert. Der Inkubator wurde dann mit einem sterilen Mikrofilter versehenen Ventil auf Normaldruck belüftet und als Ganzes für die vorgesehene Pilzbehandlung (Einwirkungszeit) in einer geeigneten Klimakabine inkubiert.

3.4 Inkubation von frischgeschlagenen, pilzbehandelten und alten Fichtenholzproben

[0051] Zwillingsproben mit Dimensionen von 12 x 2.5 x 150 mm (Radial x Tangential x Longitudinal) von einer Rotfichte *(Picea abies* L.) entnommen. Der Baum wurde im Herbst 2009 in der Region Sufers gefällt. Die Rohdichte des Holzes betrug 370 kg/m^3 bei einer relativen Holzfeuchte von 65 %. Die Holzproben hatten schmale Jahrringe und das Klangholz konnte der Qualitätsabstufung 'Master fine' zugeordnet werden. Einige Holzproben wurden als unbehandelte Kontrollen genutzt, die anderen wurden im Dunkeln bei 22°C und 70% relative Luftfeuchte mit *P. vitreus* inkubiert. Für vergleichende Studien wurden alte Holzproben von einem Cello (Baujahr 1700, Geigenbauer Catenes) und von einem Balken aus einem historischen Haus in Rougemont (datiert auf 1756, Schweiz) welches für den Bau eines Cellos verwendet wurde, entnommen. Bei einer relativen Luftfeuchtigkeit von 65% betrug die Rohdichte der Holzproben von Testore and Rougemont 410 und 456 kg/m^3. Ausserdem wurden Zwillingsproben von engringigem und weitringigesm Holz vor und nach der Pilzbehandlung untersucht. Ausserdem wurden Proben von weit- und engringigem Holz angefertigt.

[0052] Von allen Holzproben wurden vor und nach der Behandlung Präparate mit einer Schnittstärke von 0.06 mm, 15 mm Länge und 1.5 mm Breite mit einem Rotationsmikroskop angefertigt. Der Inkubator mit den darin von dem pilzhaltigen, nanofibrillierten cellulosehaltigen Flüssigmedium umgebenen Holzproben wurde für die erforderliche Einwirkungszeit (Pilzbehandlung) in einer geeigneten Klimakabine bei 22° C (und 70 $\pm$ 5% rel. F.) für 12 Monate inkubiert. Im Intervall von 2 bis 4 Wochen wurde unter sterilen Bedingungen über das Ventil mit dem sterilen Mikrofilter frische, sauerstoffreiche Luft zugeführt. Nach 12 monatiger Inkubationszeit wurden die Holzproben gereinigt und anschliessend mit Ethylenoxid sterilisiert. Von jeder Probenvariante wurde ein Minimum von 5 Replikaten in einem mikromechanischen Messgerät zur Bestimmung der Spannungsrelaxation untersucht. Anschliessend wurden die Proben mittels Fourier-Transformations-Infrarotspektrometer (FT-IR) und Dynamischer Wasserdampfsorption (DVS) untersucht.

4. Entnahme und Nachbehandlung des modifizierten Holzes

[0053] Nach erfolgter Pilzbehandlung wird der Inkubator geöffnet. Die in dem Behandlungsbehälter liegenden, pilzbehandelten Holzproben wurden aus dem komplett vom Pilzmyzel durchwachsenen nanofibrillierten cellulosehaltigen Flüssigmedium entnommen und mechanisch (mit einem Metallspatel) sorgfältig von oberflächlich anhaftendem Myzel gereinigt.

4.1 Trocknung des Fichtenholzes nach der Pilzbehandlung

[0054] Die frisch entnommenen, pilzmodifizierten Klangholzrohlinge (Geigendecken) weisen einen relativ hohen Wassergehalt von z.T. mehr als 150 bis 250 % auf und müssen anschließend zwecks Vermeidung von Rissbildung (Ringschäle) schonend getrocknet werden.

[0055] Zu diesem Zweck lagern die Fichtenbretter erst in einem Klimaraum (20°C) und 80 % rel. Feuchte (evtl. zuvor in einem Behälter mit einer xylolhaltigen Atmosphäre zur Verhinderung von Schimmelpilzbewuchs) und werden dann über einen Zeitraum von mehreren Wochen sukzessive in einem Klimaraum bei 65 % und später bei 50 % rel. Feuchte heruntergetrocknet.

4.2 Sterilisation der pilzbehandelten Klangholzrohlinge

[0056] Nach der Trocknung und vor der Bearbeitung der pilzmodifizierten Klangholzrohlinge für den Instrumentenbau können diese fakultativ z.B. mit ionisierender Strahlung (unter geringer Wärmeeinwirkung) sterilisiert werden.

5. Masseverluste in pilzbehandeltem Holz

[0057] Die Rohdichte ρ_R der verschiedenen Holzproben vor und nach der Pilzbehandlung ist in Fig. 2 ersichtlich. Der durchschnittliche Masseverlust Δm der pilzbehandelten Holzproben betrug 3.3 %$\pm$0.9 %. Aus der Fig. 2 ist erkennbar, dass mit abnehmender Rohdichte des Holzes geringere Masseverluste verzeichnet wurden. Im hochwertigen Klangholz (geringe Rohdichte) wurden die höchsten, im minderwertigen Holz (hohe Rohdichte), die geringsten Masseverluste verzeichnet.

6. Spannungsrelaxation in pilzbehandeltem Holz

[0058] Mikromechanische Untersuchungen wurden unter Biegebelastung gemäss Burgert et al (2003) durchgeführt. Die Stärke der Holzproben wurde in der Mitte und an den Seiten der Proben mit einem Mikrometer Messschieber ermittelt. Breite und Länge (~10 mm), wurden unter dem Durchlicht-Hellfeld-Mikroskop vermessen. Die Proben wurden mit einer maximalen Belastung von 50 N belastet und die Versuche wurden mit einer Geschwindigkeit von 1 μm/s durchgeführt (Fig. 3). Bei bestimmten Belastungsebenen wurde der Motor für 120 Sekunden ausgeschaltet um die Spannungsrelaxation zu messen. Die relative Spannungsrelaxation wurde wie folgt kalkuliert:

$$\frac{\sigma_0 - \sigma_t}{\sigma_0}$$

wobei σ_0 die Initialspannung und σ_t die Spannung nach 120 Sekunden Relaxation ist.

[0059] In Fig. 4 wird die Spannungsrelaxation von frischgeschlagenem (Kontrolle), pilzbehandeltem und altem Holz verglichen. Die Spannungsrelaxation wurde anhand der Minderung zwischen der initialen und der effektiven Spannung nach 2 Minuten kalkuliert. Obwohl eine gewisse Streuung der gemessenen Daten verzeichnet wurde (Bestimmtheitsmass: R = 0.6-0.82), ist zweifelsfrei ersichtlich, dass das pilzbehandelte Holz eine höhere Spannungsrelaxation besitzt als frisch geschlagenes Holz.

[0060] Das zeitabhängige, mechanische Verhalten eines Materials wie etwa die Spannungsrelaxation ermöglicht Rückschlüsse auf die Grösse und die Neuausrichtung wichtiger Zellelemente auf verschiedenen zeitlichen und räumlichen Ebenen (Cosgrove 1993). In den mikromechanischen Spannungsrelaxation-Tests wurde eine schrittweise Verminderung beobachtet, was vermutlich auf die Neuausrichtung verschiedener Zellwandbestandteile im Holz zurückzuführen ist. Wir vermuten, dass es zu einer Neuausrichtung der Holzfasern kommt, die über die Mittellamelle miteinander verbunden sind, wobei die Verzögerung auf die Einbettung der Zelllulosefibrillen in die amorphen Matrix von Hemizellulose und Lignin zurückzuführen ist. Die Unterschiede im Relaxationsverhalten zwischen frischgeschnittenem Holz, pilzbehandel-

tem Holz und altem Holz legen nahe, dass ein Materialabbau auf submikroskopischer Ebene erfolgt, welcher vor allem auf einem Abbau von Lignin und Hemizelluose beruht. Dies hat eine Spannungsrelaxation im Holz zur Folge (Köhler et al, 2002; Sedighi Gilani and Navi 2007). Der Abbau der Zellwandmatrix (Hemizellulose und Lignin) um die eingebetteten Zellulosefibrillen herum hat wiederum einen Einfluss auf die Schwingungseigenschaften bzw. verändert die Dämpfungseigenschaften des Holzes (Noguchi et al. 2012).

7. Klangabstrahlung und Dämpfung

[0061] Die wichtigsten akustischen Eigenschaften, die für die Selektion von Klangholz für Musikinstrumente herangezogen werden sind die Dämpfung ($\tan\delta$) und die Klangabstrahlung (R). Hochwertiges Klangholz hat eine hohe Klangabstrahlung (R). R beschreibt wie stark die Schwingungen eines Körpers auf Grund der Klangabstrahlung gedämpft werden. Die Dämpfung des Schalls bezeichnet dagegen jede Art von Verringerung der Schallintensität, die nicht notwendigerweise mit einer Verringerung der Schallenergie zu tun haben muss, zum Beispiel durch Divergenz, also durch Verteilung der Schallenergie auf eine grössere Fläche. Beide Eigenschaften wurden an unbehandelten Kontrollen und pilzbehandeltem Holz untersucht. Die Schwingungseigenschaften von Holzproben wurden vor und nach der Pilzbehandlung (wie unter 5.4 beschrieben) bei einer relativen Holzfeuchte von 65 % gemessen. Die Resultate zeigen, dass sowohl die Klangabstrahlung als auch die Dämpfung im pilzbehandeltem Holz signifikant zunehmen (Fig. 5-6).

8. Farbmessungen

[0062] Die Farbmessungen wurden an Holzproben mit einem Tristimulus-Colorimeter (Konica Minolta) bei Wellenlängen zwischen 360 - 740 nm durchgeführt. Das Gerät erlaubt die berührungslose Messung von Helligkeit und Farbe bei einem Messwinkel von 1°. Die Farbkoordinaten wurden für pilzbehandeltes und frischgeschlagenes Holz ermittelt und der Farbindex wie folgt kalkuliert:

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

[0063] Wobei L* die Helligkeit von 0 (schwarz) bis 100 (weiss) definiert während a* das Verhältnis von rot (+60) zu grün (-60) und b* das Verhältnis von gelb (+60) zu blau (-60) angeben.
von Klangholz (a) und Bauholz (b)

[0064] Aus Fig. 7 können der Farbindex E^*_{ab} und die Helligkeit L* für frischgeschlagenes sowie für pilzbehandeltes Klangholz (a) und Bauholz (b) nach 4 bis 12 Monaten entnommen werden. Mit zunehmender Dauer der Pilzbehandlung nimmt der Farbindex zu, gleichzeitig nimmt die Helligkeit ab. Im Originalzustand wurde ein E* Index von 29.9 ($\pm$0.8) für frischgeschlagenes Klangholz (a) und Bauholz (b) ermittelt (Fig. 7a-b). Nach 12-monatiger Pilzbehandlung konnte ein Anstieg des E* Indexes von 44.5 ($\pm$1.2) für pilzbehandeltes Klangholz (Fig. 7a) und von 41.6($\pm$0.6) für pilzbehandeltes Bauholz (Fig. 7b) verzeichnet werden.

[0065] Aus ästhetischer Sicht ist ein hoher Farbindex (E*) von Vorteil beim Geigenbau, da das Holz nach der Pilzbehandlung eine ältere Farberscheinung aufweist. Vergleichende Studien mit Farbmessungen an alten Holzproben (Rougemont von 1756, Schweiz) ergaben einen Farbindex E* = 37.2 und einen Helligkeitsindex L* = 73.7.

[0066] Die hier interessierenden Farbänderungen werden aber üblicherweise nicht nur durch die Änderung des Wertes von E* beschrieben, bei dem es sich definitionsgemäss um die Länge eines Vektors im von L*, a* und b* aufgespannten Farbraum handelt, Aussagekräftig ist insbesondere auch die Länge des Änderungsvektors ΔE^*, der den Farbpunkt (L_0^*, a_0^*, b_0^*) vor Farbänderung mit dem Farbpunkt (L_1^*, a_1^*, b_1^*) nach Farbänderung verbindet:

$$\Delta E^* = \sqrt{(L_1^* - L_0^*)^2 + (a_1^* - a_0^*)^2 + (b_1^* - b_0^*)^2}$$

[0067] Die Grösse ΔE^* wird auch als Farbabstand bezeichnet. In der Fig. 8 ist der zeitliche Verlauf des Farbabstandes ΔE^* von Klangholz (offene Kreise) und Bauholz (gefüllte Kreise) nach unterschiedlicher Dauer (4-12 Monate) der Pilzbehandlung gegenüber dem unbehandelten Zustand dargestellt. Zum Vergleich ist als gestrichelte Linie der Farbabstand einer alten Holzprobe (Rougemont) gegenüber einer frischgeschnittenen Probe derselben Holzart dargestellt.

9. FT-IR Analysen

[0068] In Fig. 9 sind die FT-IR Spektren von pilzbehandeltem Holz sowie von frischgeschlagenem Holz und von altem Holz (Testore und Rougemont) in der Region 1800-800 cm^{-1} abgebildet, wobei die Absorption bei 1508 cm^{-1}, welche von der aromatischen Ringschwingung (C=C) von Lignin stammt, normiert wurde. Im alten Holz ist eine signifikante Erhöhung des Lignin-Polysaccharid-Verhältnisses bei einer Wellenzahl von 1738 cm^{-1} ersichtlich, welches auf einen Abbau von Hemizellulose zurückzuführen ist (Garcia Esteban et al. 2006, Nagyvary et al. 2006, Ganne-Chedeville et al. 2012). Ähnliche Abbauprozesse wurden mittels FT-IR auch am pilzbehandelten Holz verzeichnet. Die Messungen ergaben, dass die absoluten Werte der Wellenzahlen 818, 589, 1051, die repräsentativ für Hemizellulose und Lignin sind, verringert waren. Obwohl die Abbauprozesse der Polysaccharide und Lignin während der Pilzbehandlung und der natürlichen Alterung nicht identisch sind, kann angenommen werden, dass im Vergleich zum frischgeschlagenen Holz die physikalischen Eigenschaften und das Sorptionsverhalten bzw. das Quell-und Schwindverhalten vergleichbar ist.

[0069] Im Vergleich zu frisch geschlagenem Holz konnten mittels FTIR Analysen deutliche Veränderungen im Verhältnis von Lignin/Polysacchariden in pilzbehandeltem und altem Holz verzeichnet werden (Lehringer et al. 2011; Sedighi Giliani et al. 2014a; Sedighi Gilani et al. 2014b). Ein deutlicher Unterschied war der geringere Anteil von Hemizellulose im alten Holz. Qualitative Studien bestätigen, dass sowohl Lignin als auch Hemizellulose zu unterschiedlichen Anteilen während der Delignifizierung des Holzes abgebaut werden (Lehringer et al. 2011). Obwohl die Abbauprozesse von Lignin und Hemizellulose nach einer selektiven Delignifizierung und natürlichen Alterung nicht identisch sind, kann angenommen werden, dass sich ihre Zusammensetzung deutlich von frischgeschlagenem Holz unterscheidet. Vermutlich hat die unterschiedliche Zusammensetzung von frischgeschlagenem Holz einen Einfluss auf die Interaktion mit Feuchtigkeit z.B. Sorptionsdynamik, Feuchtekapazität und Formstabilität des Materials. Diese Veränderungen werden auch einen Einfluss auf die Holzanatomie und die supermolekulare Struktur der Zellwände haben, die wiederum einen wesentlichen Einfluss auf die vibromechanischen Eigenschaften des Holzes ausüben. Studien zeigen, dass eine zunehmende anatomische Homogenität der Holzstruktur die Vibrationseigenschaften, Biegesteifigkeit und Dämpfung des Holzes vorteilhaft beeinflussen (Jakiela et al., 2008, Stoel and Borman, 2008).

[0070] Wenn Wassermoleküle in die verholzte Zellwand eindringen, werden sie von den Oberflächen der Zellulosemikrofibrillen und der Matrix, die aus Lignin und Hemizellulose besteht, aufgenommen. Die Aufnahme von Wassermolekülen über die Hydroxylgruppen zwischen den Holzpolymeren hat eine Reduktion der Biegesteifigkeit von Hemizellulose und Lignin in der Zellwand zur Folge, welche die Vibration und mechanischen Eigenschaften des Materials beeinflussen. Die Dämpfung des Holzes wird mit zunehmender Erhöhung der relativen Feuchte signifikant erhöht (Hunt and Gril 1996, Sedighi Gilani et al 2014b), was sich negativ auf die Klangeigenschaften des Holzes auswirkt. Durch den Abbau von Hemizelluose in altem und pilzbehandeltem Holz wird der Einfluss der Feuchtesorption auf Vibrationen und mechanische Eigenschaften des Materials verringert (mechano-sorptivity). Diese Erkenntnis wurde vor kurzem an mit *P. vitreus* inkubiertem Holz bestätigt (Sedighi Gilani et al 2014 b). Eine weitere Folge des Lignin- und Hemizelluloseabbaus in den Zellwänden ist die stärkere Exposition der kristallinen Zellulose und eine verbesserte Sorptionsstabilität des Holzes. Im Vergleich zu frischgeschlagenem Holz konnte an altem und pilzbehandeltem Holz ein beschleunigter Diffusionsprozess von Wassermolekülen mittels dynamischen Sorptionstests verzeichnet werden (Sedighi Gilani et al 2014 b).

[0071] Es ist wahrscheinlich, dass eine höhere Materialstabilität während einem Feuchteaustausch mit der Atmosphäre die Zuverlässigkeit der Vibrationseigenschaften und die zeitabhängigen mechanischen Eigenschaften des Holzes z.B. Spannungsrelaxation und Kriechverhalten verbessern (Hunt and Gril 1996).

[0072] Die hier beschriebene Methode der pilzlichen Holzmodifikation führt zu einer zeitlichen Reduktion der Spannungsrelaxation des Materials unter verschiedenen mechanischen (e.g. tuning) und physikalischen (e.g. Luftfeuchteschwankungen) Grenzbedingungen, was von entscheidender Bedeutung ist für die Stabilität und Klangqualiät von Musikinstrumenten, die aus Holz gefertigt sind. Die erstaunlichen Ähnlichkeiten zwischen natürlich gealtertem und pilzbehandeltem Holz zeigen, dass die Pilzbehandlung ein wertvolles Holzmodifikationsverfahren für die beschleunigte Alterung von Klangholz ist. Der Erfolg einer pilzbehandelten Geige im Blindversuch an den Osnabrücker Baumpflegetagen in 2009 ist sehr wahrscheinlich auf die Ähnlichkeit der mechanischen und hygroskopischen Stabilität von pilzbehandeltem und altem Holz zurückzuführen.

Literatur

[0073]

Anon. (2009) The biotech Stradivarius. Nature Biotechnology News 28: 6. Barlow CY, Edwards PP, Millward GR, Raphael RA, Rubio DJ. (1988) Wood treatment used in Cremonese instruments. Nature 332: 313.

Bucur V. (2006) Acoustics of wood, 2nd edn. Berlin, Germany: Springer Series in Wood Science Springer, Heidelberg 407 S.

Burckle L, Grissino-Mayer HD. (2003) Stradivaris, violins, tree rings, and the Maunder Minimum: a hypothesis. Dendrochronologia 21: 41-45.

Burgert I, Frühmann K, Keckes J, Fratzl P, Stanzl-Tschegg SE. (2003) Microtensile Testing of Wood Fibers Combined with videoextensometry for efficient Strain Detection. Holzforschung 57: 661-664 1.

Bryne .E, Lausmaa J, Ernstsson M, Englund F, Wallinder MEP. (2010) Ageing of modified wood. Part 2: Determination of surface composition of acetylated, furfurylated, and thermally modified wood by XPS and ToF-SIMS. Holzforschung 64:305-313.

Cosgrove DJ. (1993) Wall extensibility: its nature, measurement and relationship to plant cell growth. New Phytol 124:1-23.

Dimigen H, Dimigen E. (2014) Zum Alterungsverhalten von Tonholz Holztechnologie 1:16-21.

Esper J, Cook ER, Schweingruber FH. (2002) Low-frequency signals in long tree-ring chronologies for reconstructing past temperature variability. Science 295: 2250-2252.

Ebrahimzadeh PR, Kubat DG. (1993) Effects of humidity changes on damping and stress relaxation in wood. J Mater Sci 28: 5668-5674.

Ganne-Chédeville C, ääskelänen AS, Froidevaux J, Hughes M, Navi P. (2012) Natural and artificial ageing of spruce wood as observed by FTIR-ATR and UVRR spectroscopy. Holzforschung 66:163-170

Garcia Esteban L, Fernandez FG, Casasus AG, De Palacios P, Gril J. (2006) Comparison of the hygroscopic behaviour of 205-year-old and recently cut juvenile wood from Pinus sylvestris L. Ann For Sci 63: 309- 317

Gug R. (1991) Choosing resonance wood. The Strad 102: 60-64.

Hunt DG, Gril J. (1996) Evidence of a physical ageing phenomenon in wood. J Mater Sci Lett 15:80-92

Holz D. (1966) Untersuchungen an Resonanzhölzern. 1. Mitteilung: Beurteilung von Fichtenresonanzhölzern auf der Grundlage der Rohdichteverteilung und der Jahrringbreite. Archiv für Forstwesen 15: 1287-1300.

Jakiela S, Bratasz L, Kozlowski R. (2008) Numerical modeling of moisture movement and related stress field in lime wood subjected to changing climate conditions. Wood Sci. Technol. 42, 21-37.

Kataoka Y, Kiguchi M. (2001) Depth profiling of photo-induced degradation in wood by FT-IR microspectroscopy, J Wood Sci 47:325-327.

Köhler L, Spatz HC. (2002) Micromechanics of plant tissues beyond the linearelastic range, Planta, 215: 33-40

Lehringer C, Koch G, Adusumalli RB, Mook WM, Richter K, Militz H. (2011) Effect of Physisporinus vitreus on wood properties of Norway spruce. Part 1: aspects of delignification and surface hardness. Holzforschung 65:711-719

Matsuo M, Yokoyama M, Umemura K, Sugiyama J, Kawai S, Gril J, Kubodera S, Mitsutani T, Ozaki H, Sakamoto M, Imamura M. (2011) Aging of wood: analysis of color changes during natural aging and heat treatment. Holzforschung 65:361-368.

Meyer HG. (1995) A practical approach to the choice of tone wood for the instruments of the violin family. Catgut Acoustical Society Journal 2: 9-13.

Müller HA. (1986) How violin makers choose wood and what this procedure means from a physical point of view. In: Hutchins CM, ed. Research Papers in Violin Acoustics: 1975-1993, volume 1. Woodbury, NY, USA: Acoustical Society of America, paper 92.

Nagyvary J, DiVerdi JA, Owen OI, Dennis Tolley H. (2006) Wood used by Stradivari and Guarneri. Nature 444, 565.

Noguchi T, Obataya, E, Ando K. (2012) Effects of aging on the vibrational properties of wood. Journal of Cultural Heritage 13: 21-25.

Ono T, Norimoto M. (1983) Study on Young's modulus and internal friction of wood in relation to the evaluation of wood for musical instruments. Japan Journal of Applied Physics 22: 611-614.

Ono T, Norimoto M. (1984) On physical criteria for the selection of wood for soundboards of musical instruments. Rheol Acta 23: 652-656.

Pfriem A, Eichelberger K, Wagenführ A. (2007) Acoustic properties of thermally modified spruce for use of violins. J Violin Soc Am 21:102-111.

Roth K. (2009) Das chemische Geheimnis der Geigenvirtuosen Mit Stradivari, Kunstsaiten und Kolophonium. Chem. Unserer Zeit 43: 168-181.

Schleske M. (1998) On the acoustical properties of violin varnish. Catgut Acoustical Society Journal 3: 15-24.

Schmidt, O, MORETH, U. (1998). Characterization of indoor rot fungi byRAPD analysis. Holzforschung 52: 229-233.

Schmidt, O. Moreth, U. (2000). Species-specific priming PCR in the rDNA-ITS region as a diagnostic tool for Serpula lacrymans. Mycol. Research 104: 69-72.

Schmidt, O. Moreth, U. (2006) Molekulare Untersuchungen an Hausfäulepilzen. Zeitschrift für Mykologie 72:137-152.

Schwarze FWMR, Lonsdale D, Mattheck C. (1995) Detectability of wood decay caused by Ustulina deusta in comparison with other tree-decay fungi. European Journal of Forest Pathology 25: 327-341.

Schwarze FWMR, Spycher M, Fink S. (2008) Superior wood for violins - wood decay fungi as a substitute for cold climate. New Phytologist 179: 1095-1104.

Sedighi Gilani M, Navi P. (2007) Experimental observations and micromechanical modeling of successive-damaging phenomenon in wood cells tensile behavior. Wood Sci Technol, 41 (1): 69-85.

Sedighi Gilani, M., Boone, M.N., Mader, K., Schwarze, F.W.M.R. (2014). Synchrotron X-ray micro-tomography imaging and analysis of wood degraded by Physisporinus vitreus and Xylaria longipes Journal of Structural Biology 187: 149-157.

Sedighi Gilani, M., Tingaut P., Heeb M., Schwarze, F.W.M.R. (2014). Influence of moisture on the vibro-mechanical properties of bio-engineered wood. Journal of Material Science. 49: 7679-7687.

Spycher M. (2008) The application of wood decay fungi to improve the acoustic properties of resonance wood for violins. PhD thesis. Freiburg, Germany: Albert-Ludwigs-Universität Freiburg.

Spycher M, Schwarze FWMR, Steiger R. (2008) Assessment of resonance wood quality by comparing the physical and histological properties. Wood Science and Technology 42, 325-342.

Stoel BC, Borman TM. (2008) Comparison of Wood Density between Classical Cremonese and Modern Violins. PLoS ONE 3: 1-7.

Topham TJ, McCormick MD. (2000) A dendrochronological investigation of stringed instruments of the Cremonese School (1666-1757) including 'The Messiah' violin attributed to Antonio Stradivari. Journal of Archaeological Science 27: 183-192.

Wagenführ A, Pfriem A, Eichelberger K. (2005a) Der Einfluss einer thermischen Modifikation von Holz auf im Musikinstrumentenbau relevante Eigenschaften. Teil I: spezielle anatomische und physikalische Eigenschaften. Holztechnologie 46: 36-42.

Wagenführ A, Pfriem A, Eichelberger K. (2005b.) Der Einfluss einer thermischen Modifikation von Holz auf im

Musikinstrumentenbau relevante Eigenschaften. Teil 2: technologische Eigenschaften, Herstellung und Prüfung von Musikinstrumentenbauteilen. Holztechnologie 47: 39-43.

Wegst UGK. (2006) Wood for sound. American Journal of Botany 93: 1439-1448.

White TJ, Bruns T, Lee S, Taylor J. (1990) Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: PCR Protocols: a Guide to Methods and Applications (eds Innis MA, Gelfand DH, Sninsky JJ, White TJ), pp. 315-321. Academic Press, San Diego, California.

Windeisen E, Bachle H, Zimmer B, Wegener G. (2009) Relations between chemical changes and mechanical properties of thermally treated wood 10th EWLP, Stockholm, Sweden, August 25-28, 2008. Holzforschung 63:773-778.

Yano H, Kajita H, Minato K. (1994) Chemical treatment of wood for musical instruments. Journal of the Acoustical Society of America 96: 3380-3391.

Patentansprüche

1. Verfahren zur Verbesserung der akustischen Eigenschaften von Fichten-Klangholz für Musikinstrumente, wobei mindestens ein Klangholzrohling unter kontrollierten, sterilen Bedingungen einer Behandlung mit *Physisporinus vitreus* unterzogen wird, **dadurch gekennzeichnet, dass** der vorgängig sterilisierte Klangholzrohling in ein mit Pilzmyzel angereichertes Flüssigmedium getaucht und darin während einer Einwirkungszeit im Dunkeln gehalten und abschliessend sterilisiert wird, wobei während der Einwirkungszeit eine Temperatur von 18 bis 26°C und eine relative Luftfeuchte von ungefähr 60 bis ungefähr 80% eingestellt wird und wobei das Flüssigmedium nanofibrillierte Cellulose (NFC) in einem Anteil von 200 bis 300 g pro Liter enthält.

2. Verfahren nach Anspruch 1, wobei die Behandlung mit *Physisporinus vitreus EMPA* 642 durchgeführt wird.

3. Verfahren nach Anspruch 1 oder 2, wobei während der Einwirkungszeit eine Temperatur von 21°C bis 23°C und eine relative Luftfeuchte von ungefähr 65 bis ungefähr 75% eingestellt wird.

4. Verfahren nach Ansprüche 1 bis 3, wobei die Einwirkungszeit derart gewählt wird, dass folgende Festigkeitswerte des Klangholzes erfüllt sind:

   - Modul für Biegung längs zur Faser mindestens 7 GPa, vorzugsweise 10 GPa;
   - Druckfestigkeit längs zur Faser mindestens 24 N/mm^2, vorzugsweise 34 N/mm^2; und
   - Druckfestigkeit quer zur Faser mindestens 3 N/mm^2, vorzugsweise 4.2 N/mm^2.

5. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 4, wobei die Einwirkungszeit 4 bis 6 Monate beträgt.

6. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 5, wobei das Flüssigmedium durch Inkubation eines mit *Physisporinus vitreus* beimpften NFC-haltigen Nährmediums unter kontrollierten pH-Bedingungen gewonnen wurde.

7. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 6, wobei die Sterilisierung des Klangholzrohlings mit Ethylenoxid durchgeführt wird.

8. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 7, wobei eine Erhöhung des im Farbraum (L*,a*,b*) definierten Farbindexes E* um mindestens 14 bewirkt wird.

9. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 8, wobei eine Farbänderung des Holzes bewirkt wird, welche durch einen im Farbraum (L*,a*,b*) definierten Farbabstand ΔE* von mindestens 11 gekennzeichnet ist.

10. Verbessertes Fichten-Klangholz für Musikinstrumente, hergestellt mit dem Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 9, wobei im Vergleich zu unbehandeltem Klangholz die Klangabstrahlung in Longitudinalrichtung um mindestens 20%, vorzugsweise um mindestens 24% erhöht ist und die Dämpfung in Longitudinalrichtung um mindestens 25%, vorzugsweise um mindestens 29% erhöht ist.

11. Musikinstrument, insbesondere Streichinstrument, mit wenigstens einer Resonanzplatte aus verbessertem Fichten-Klangholz gemäss Anspruch 10.

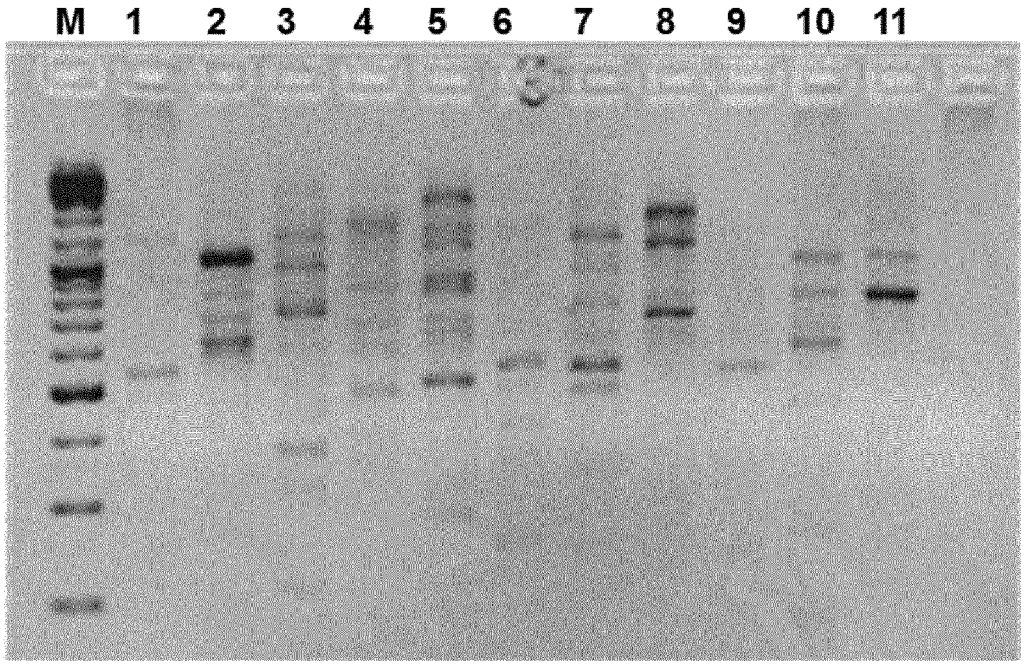


Fig. 1a

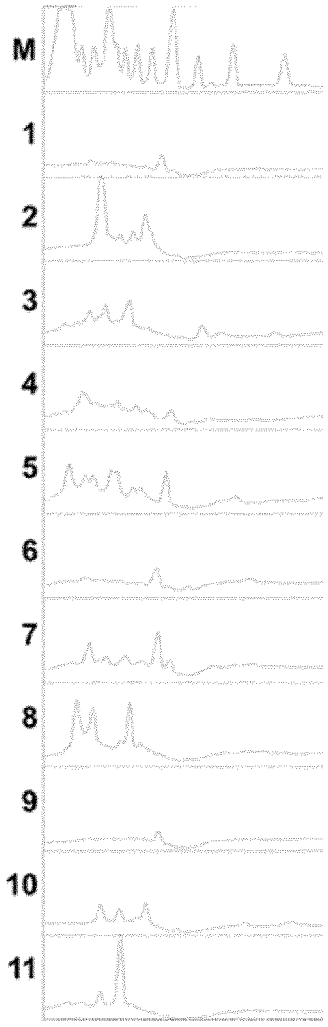


Fig. 1b

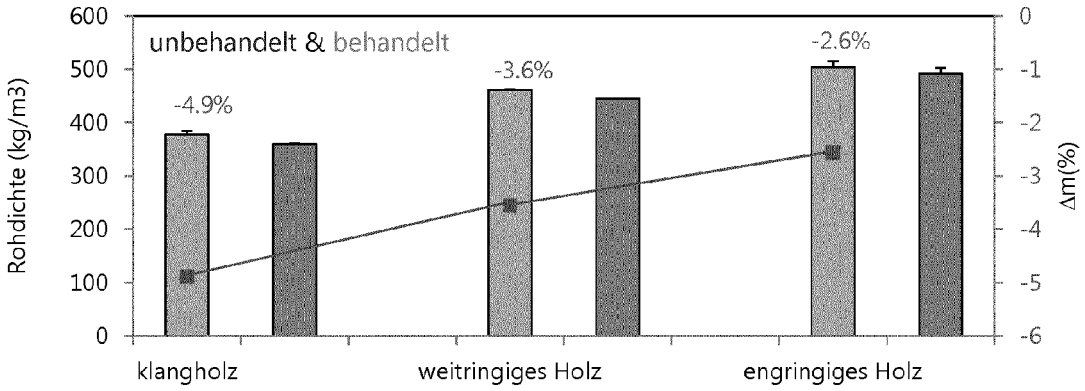


Fig. 2

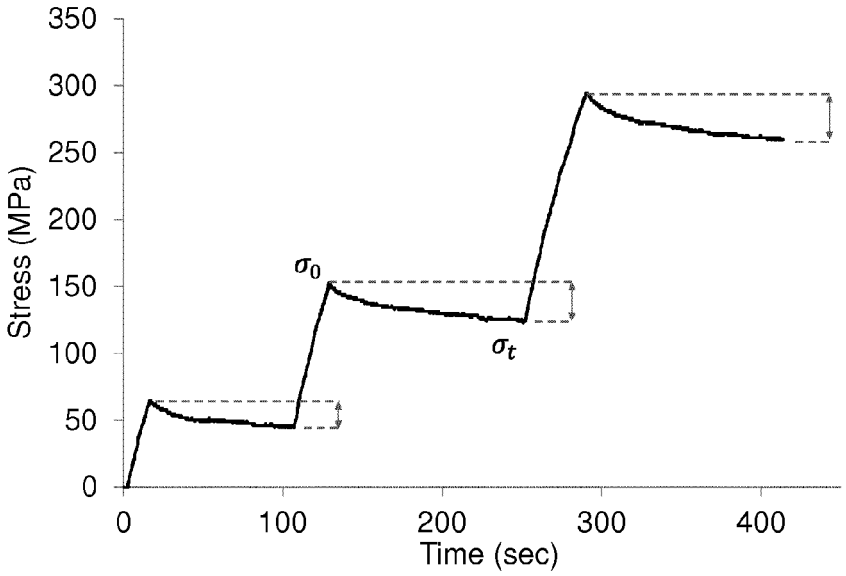


Fig. 3a

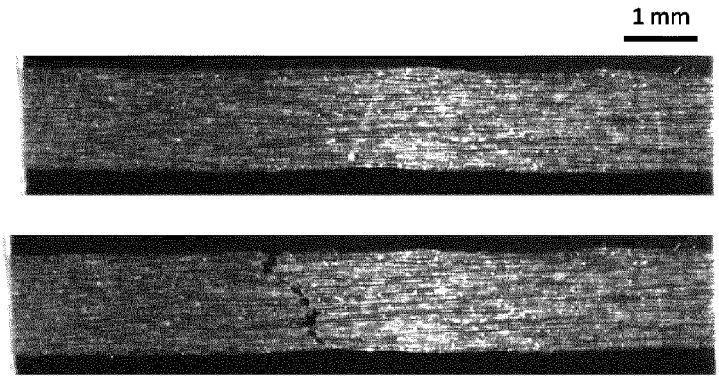


Fig. 3b

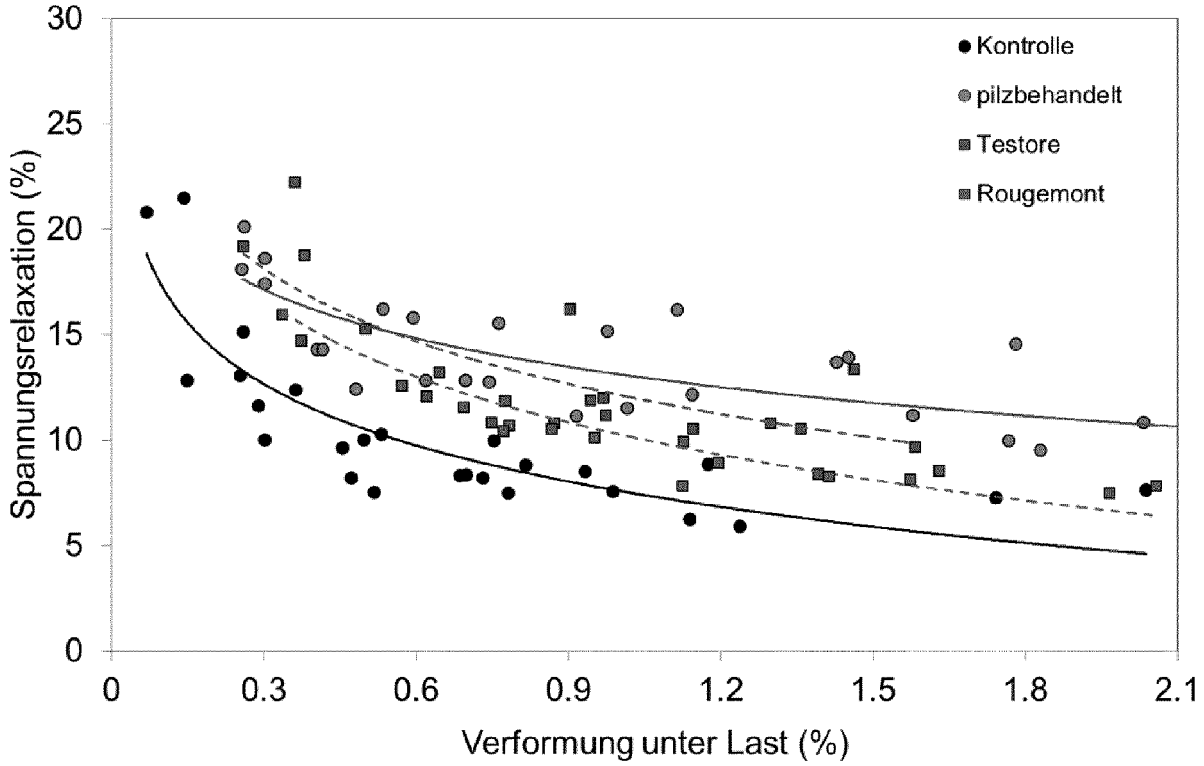

Spannungsrelaxation (%)
30
25
20
15
10
5
0
0
0.3
0.6
0.9
1.2
1.5
1.8
2.1
Verformung unter Last (%)
Kontrolle
pilzbehandelt
Testore
Rougemont

Fig. 4

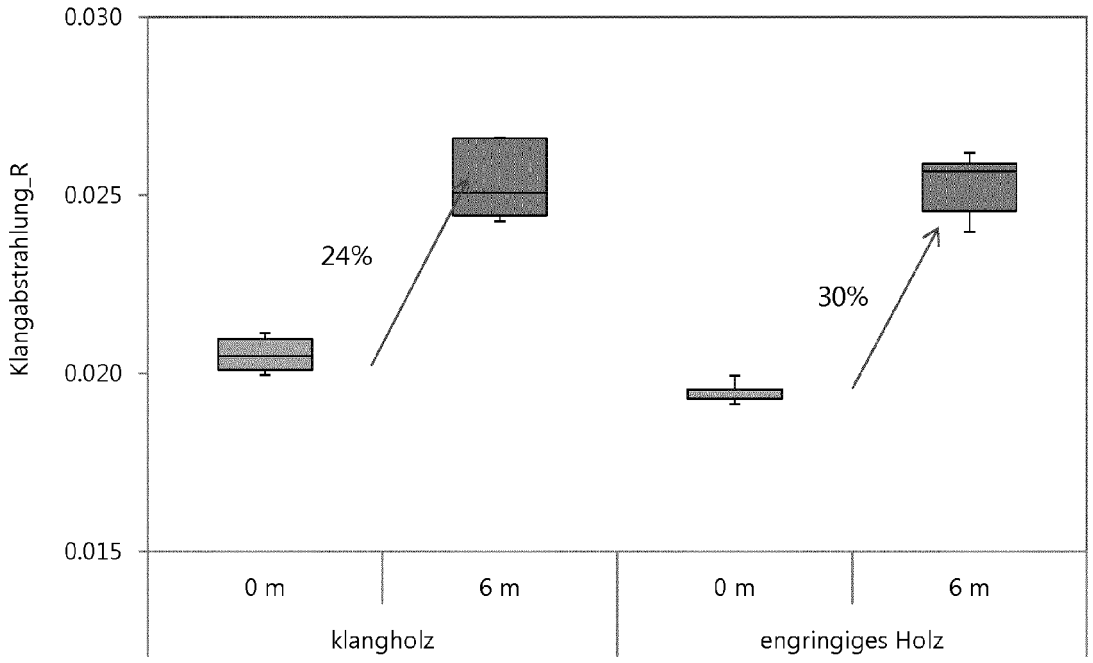

Klangabstrahlung_R
0.030
0.025
0.020
0.015
24%
30%
0 m
6 m
0 m
6 m
klangholz
engringiges Holz

Fig. 5

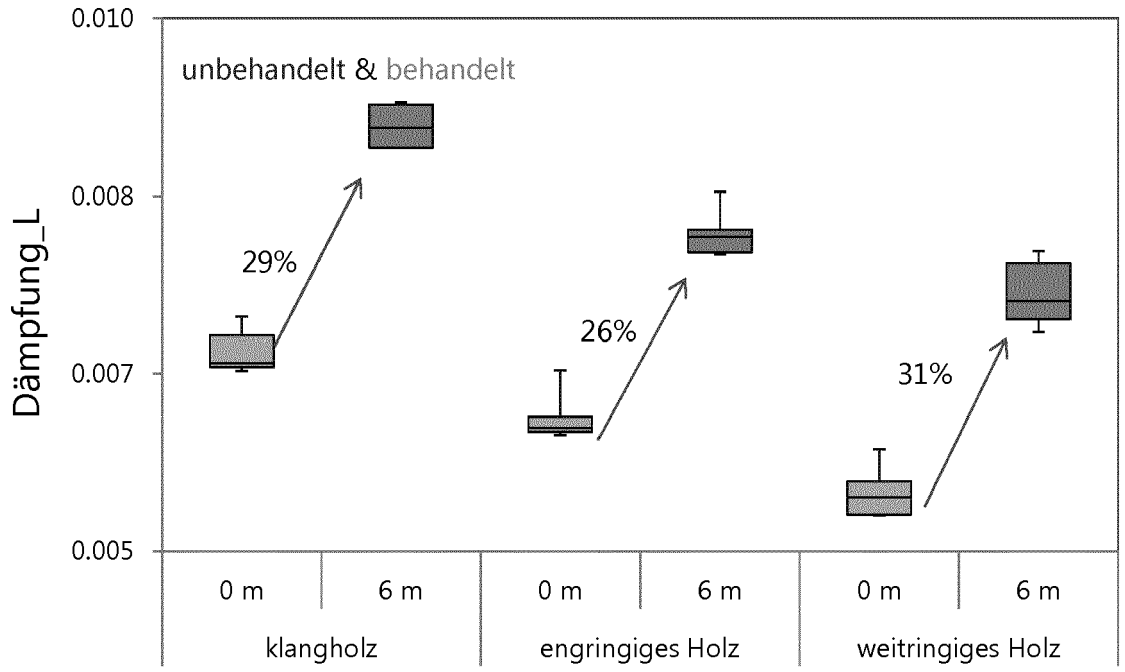

0.010
0.008
0.007
0.005
Dämpfung_L
unbehandelt & behandelt
29%
26%
31%
0 m
6 m
0 m
6 m
0 m
6 m
klangholz
engringiges Holz
weitringiges Holz

Fig. 6

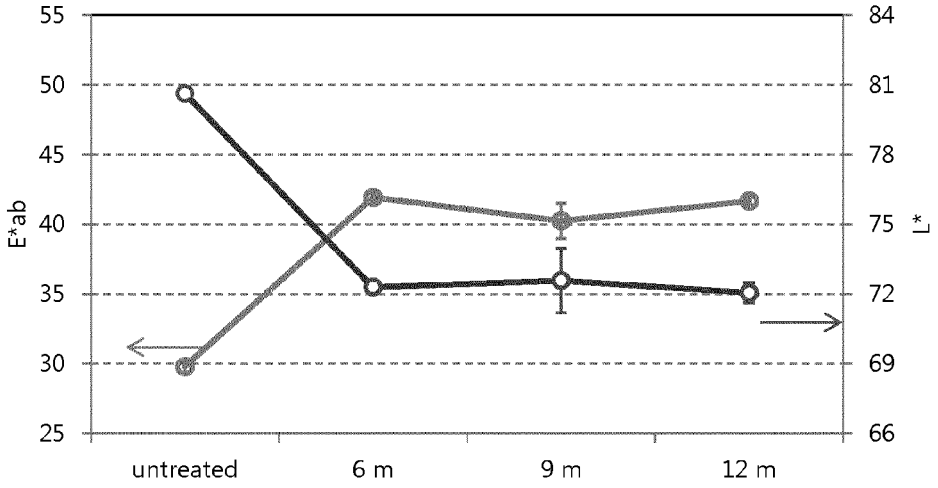


Fig. 7a

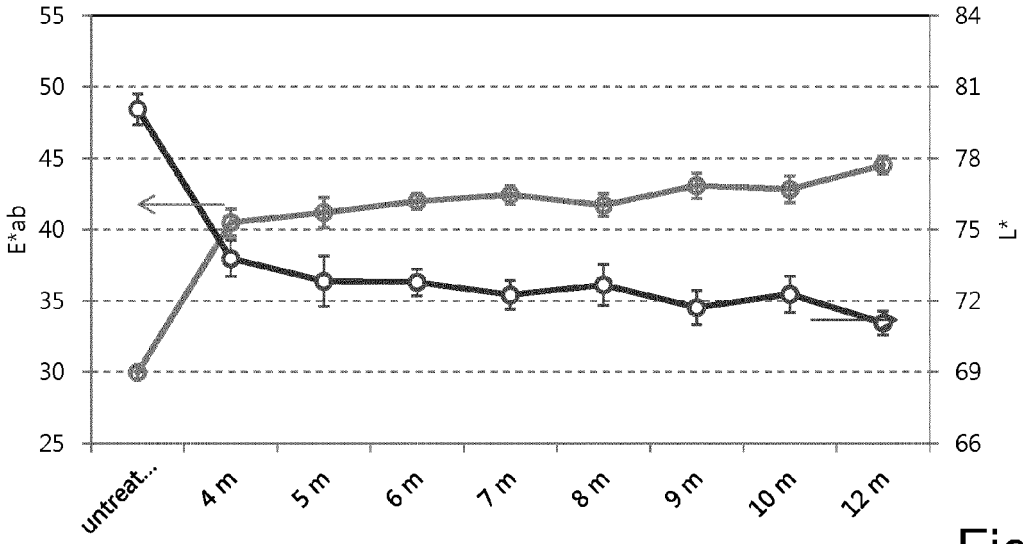


Fig. 7b

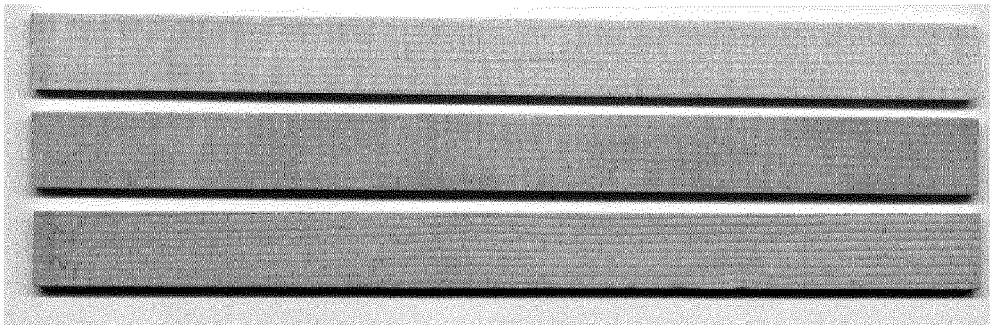


Fig. 7c

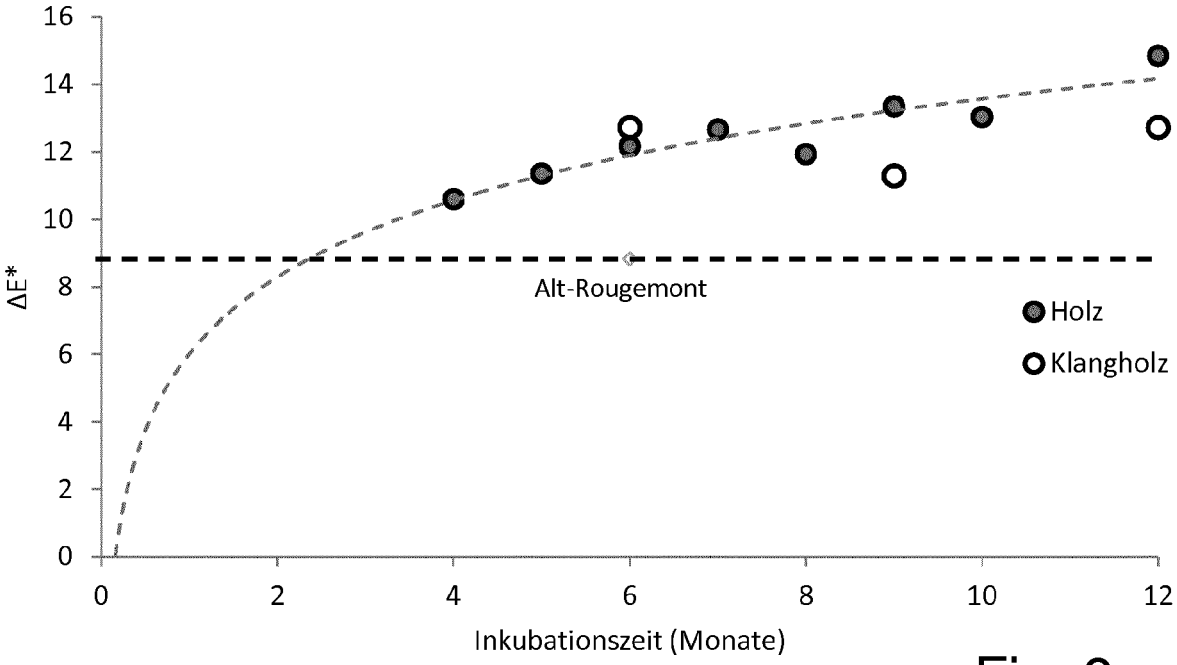

ΔE*
Alt-Rougemont
Holz
Klangholz
Inkubationszeit (Monate)

Fig. 8

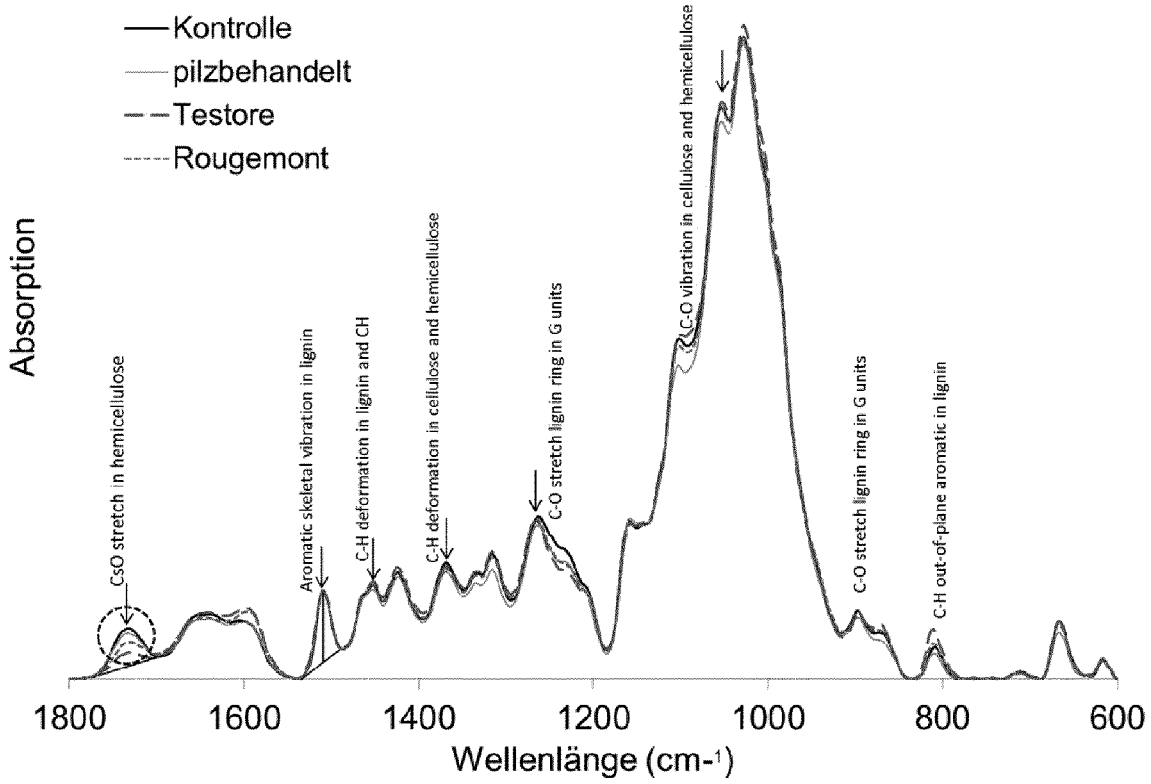

Kontrolle
pilzbehandelt
Testore
Rougemont
Absorption
CsO stretch in hemicellulose
Aromatic skeletal vibration in lignin
C-H deformation in lignin and CH
C-H deformation in cellulose and hemicellulose
C-O stretch lignin ring in G units
C-O vibration in cellulose and hemicellulose
C-O stretch lignin ring in G units
C-H out-of-plane aromatic in lignin
Wellenlänge (cm-1)

Fig. 9

Europäisches Patentamt
European Patent Office
Office européen des brevets

EUROPÄISCHER RECHERCHENBERICHT

Nummer der Anmeldung
EP 16 16 4755

EINSCHLÄGIGE DOKUMENTE

Kategorie	Kennzeichnung des Dokuments mit Angabe, soweit erforderlich, der maßgeblichen Teile	Betrifft Anspruch	KLASSIFIKATION DER ANMELDUNG (IPC)
X	SCHWARZE FRANCIS W M R ET AL: "Superior wood for violins - wood decay fungi as a substitute for cold climate", NEW PHYTOLOGIST, CAMBRIDGE UNIVERSITY PRESS, CAMBRIDGE, GB, Bd. 179, Nr. 4, 1. September 2008 (2008-09-01), Seiten 1095-1104, XP002611438, ISSN: 0028-646X, DOI: 10.1111/J.1469-8137.2008.02524.X [gefunden am 2008-06-28]	10,11	INV. G10D1/00
A	* das ganze Dokument * * Tabelle 2 *	1-9	
A	FUHR M J ET AL: "Automated quantification of the impact of the wood-decay funguson the cell wall structure of Norway spruce by tomographic microscopy", WOOD SCIENCE AND TECHNOLOGY ; JOURNAL OF THE INTERNATIONAL ACADEMY OF WOOD SCIENCE, SPRINGER, BERLIN, DE, Bd. 46, Nr. 4, 26. August 2011 (2011-08-26), Seiten 769-779, XP035068957, ISSN: 1432-5225, DOI: 10.1007/S00226-011-0442-Y * das ganze Dokument *	1-11	RECHERCHIERTE SACHGEBIETE (IPC) G10D
A	LEHRINGER C ET AL: "Anatomy of bioincised Norway spruce wood", INTERNATIONAL BIODETERIORATION AND BIODEGRADATION, ELSEVIER LTD, GB, Bd. 64, Nr. 5, 1. August 2010 (2010-08-01) , Seiten 346-355, XP027067388, ISSN: 0964-8305, DOI: 10.1016/J.IBIOD.2010.03.005 [gefunden am 2010-06-01] * das ganze Dokument *	1-11	

-/--

Der vorliegende Recherchenbericht wurde für alle Patentansprüche erstellt

Recherchenort	Abschlußdatum der Recherche	Prüfer
Den Haag	23. September 2016	Mirkovic, Olinka

KATEGORIE DER GENANNTEN DOKUMENTE

X : von besonderer Bedeutung allein betrachtet
Y : von besonderer Bedeutung in Verbindung mit einer anderen Veröffentlichung derselben Kategorie
A : technologischer Hintergrund
O : nichtschriftliche Offenbarung
P : Zwischenliteratur

T : der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundsätze
E : älteres Patentdokument, das jedoch erst am oder nach dem Anmeldedatum veröffentlicht worden ist
D : in der Anmeldung angeführtes Dokument
L : aus anderen Gründen angeführtes Dokument

& : Mitglied der gleichen Patentfamilie, übereinstimmendes Dokument

EPO FORM 1503 03.82 (P04C03)

Europäisches Patentamt
European Patent Office
Office européen des brevets

EUROPÄISCHER RECHERCHENBERICHT

Nummer der Anmeldung
EP 16 16 4755

EINSCHLÄGIGE DOKUMENTE

Kategorie	Kennzeichnung des Dokuments mit Angabe, soweit erforderlich, der maßgeblichen Teile	Betrifft Anspruch	KLASSIFIKATION DER ANMELDUNG (IPC)
A,D	EP 1 734 504 A1 (SCHLESKE MARTIN [DE]) 20. Dezember 2006 (2006-12-20) * das ganze Dokument *	1-11	
A	WO 2012/056109 A2 (UPM KYMMENE CORP [FI]; YLIPERTTULA MARJO [FI]; LAUREN PATRICK [FI]; BH) 3. Mai 2012 (2012-05-03) * Seite 3, Zeilen 23-29 * * Seite 4, Zeilen 6-23 * * Seite 9, Zeilen 10-11,32-34,36-38 *	1-11	
A	FRANZISKA GRÜNEBERGER ET AL: "Nanofibrillated cellulose in wood coatings: mechanical properties of free composite films", JOURNAL OF MATERIALS SCIENCE, Bd. 49, Nr. 18, 18. Juni 2014 (2014-06-18) , Seiten 6437-6448, XP055304069, Dordrecht ISSN: 0022-2461, DOI: 10.1007/s10853-014-8373-2 * Introduction *	1-11	

RECHERCHIERTE SACHGEBIETE (IPC)

Der vorliegende Recherchenbericht wurde für alle Patentansprüche erstellt

Recherchenort	Abschlußdatum der Recherche	Prüfer
Den Haag	23. September 2016	Mirkovic, Olinka

KATEGORIE DER GENANNTEN DOKUMENTE

X : von besonderer Bedeutung allein betrachtet
Y : von besonderer Bedeutung in Verbindung mit einer anderen Veröffentlichung derselben Kategorie
A : technologischer Hintergrund
O : nichtschriftliche Offenbarung
P : Zwischenliteratur

T : der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundsätze
E : älteres Patentdokument, das jedoch erst am oder nach dem Anmeldedatum veröffentlicht worden ist
D : in der Anmeldung angeführtes Dokument
L : aus anderen Gründen angeführtes Dokument

& : Mitglied der gleichen Patentfamilie, übereinstimmendes Dokument

EPO FORM 1503 03.82 (P04C03)

ANHANG ZUM EUROPÄISCHEN RECHERCHENBERICHT ÜBER DIE EUROPÄISCHE PATENTANMELDUNG NR. EP 16 16 4755

In diesem Anhang sind die Mitglieder der Patentfamilien der im obengenannten europäischen Recherchenbericht angeführten Patentdokumente angegeben.
Die Angaben über die Familienmitglieder entsprechen dem Stand der Datei des Europäischen Patentamts am
Diese Angaben dienen nur zur Unterrichtung und erfolgen ohne Gewähr.

23-09-2016

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
EP 1734504 A1	20-12-2006	DE 102005027424 A1	28-12-2006
		EP 1734504 A1	20-12-2006
		US 2006278061 A1	14-12-2006
WO 2012056109 A2	03-05-2012	AU 2011322363 A1	13-06-2013
		BR 112013010377 A2	05-07-2016
		CA 2815276 A1	03-05-2012
		CN 103354834 A	16-10-2013
		DK 2632493 T3	14-03-2016
		DK 2633032 T3	04-05-2015
		EP 2632493 A2	04-09-2013
		EP 2633032 A2	04-09-2013
		EP 2633033 A2	04-09-2013
		EP 2975115 A1	20-01-2016
		ES 2537268 T3	05-06-2015
		ES 2565958 T3	07-04-2016
		FI 20106121 A	28-04-2012
		HK 1188466 A1	18-09-2015
		JP 2013540804 A	07-11-2013
		JP 2013541956 A	21-11-2013
		RU 2013122757 A	10-12-2014
		SG 189966 A1	28-06-2013
		US 2013330379 A1	12-12-2013
		US 2013344036 A1	26-12-2013
		US 2014010790 A1	09-01-2014
		WO 2012056109 A2	03-05-2012
		WO 2012056110 A2	03-05-2012
		WO 2012056111 A2	03-05-2012

EPO FORM P0461

Für nähere Einzelheiten zu diesem Anhang : siehe Amtsblatt des Europäischen Patentamts, Nr.12/82

IN DER BESCHREIBUNG AUFGEFÜHRTE DOKUMENTE

Diese Liste der vom Anmelder aufgeführten Dokumente wurde ausschließlich zur Information des Lesers aufgenommen und ist nicht Bestandteil des europäischen Patentdokumentes. Sie wurde mit größter Sorgfalt zusammengestellt; das EPA übernimmt jedoch keinerlei Haftung für etwaige Fehler oder Auslassungen.

In der Beschreibung aufgeführte Patentdokumente

- EP 1734504 A1 **[0005] [0006]**

In der Beschreibung aufgeführte Nicht-Patentliteratur

- **SCHWARZE ; F.W.M.R. ; SPYCHER, M. ; FINK, S.** Superior wood for violins - wood decay fungi a substitute for cold climate. *New Phytologist,* 2008, vol. 179, 1095-1104 **[0007]**
- **HERRICK, F.W. ; CASEBIER, R.L. ; HAMILTON, J.K. ; SANDBERG, K.R.** Microfibrillated cellulose: Morphology and accessibility. *J. Appl. Polym. Sci. Appl. Polym. Symp.,* 1983, vol. 37, 797-813 **[0017]**
- **TURBAK, A.F. ; SNYDER, F.W. ; SANDBERG, K.R.** Microfibrillated cellulose, a new cellulose product: Properties, uses, and commercial potential. *J. Appl. Polym. Sci. Appl. Polym. Symp.,* 1983, vol. 37, 815-827 **[0017]**
- **ANDRESEN, M. ; JOHANSSON, L.S. ; TANEM, B.S. ; STENIUS, P.** Properties and characterization of hydrophobized micro-fibrillated cellulose. *Cellulose,* 2006, vol. 13, 665-677 **[0017]**
- **LU, J. ; ASKELAND, P. ; DRZAL, L.T.** Surface modification of microfibrillated cellulose for epoxy composite applications. *Polymer,* 2008, vol. 49, 1285-1298 **[0017]**
- **ZIMMERMANN, T. ; PÖHLER, E. ; GEIGER, T.** Cellulose fibrils for polymer reinforcement. *Adv. Eng. Mat.,* 2004, vol. 6, 754-761 **[0017]**
- **IWAMOTO, S. ; KAI, W. ; ISOGAI, A. ; IWATA, T.** Elastic modulus of single cellulose microfibrils from tunicate measured by atomic force microscopy. *Biomacromolecules,* 2009, vol. 10, 2571-2576 **[0017]**
- **ANON.** The biotech Stradivarius. *Nature Biotechnology News,* 2009, vol. 28, 6 **[0073]**
- **BARLOW CY ; EDWARDS PP ; MILLWARD GR ; RAPHAEL RA ; RUBIO DJ.** Wood treatment used in Cremonese instruments. *Nature,* 1988, vol. 332, 313 **[0073]**
- **BUCUR V.** Acoustics of wood. Springer Series in Wood Science Springer, 2006, 407 **[0073]**
- **BURCKLE L ; GRISSINO-MAYER HD.** Stradivaris, violins, tree rings, and the Maunder Minimum: a hypothesis. *Dendrochronologia,* 2003, vol. 21, 41-45 **[0073]**
- **BURGERT I ; FRÜHMANN K ; KECKES J ; FRATZL P ; STANZL-TSCHEGG SE.** Microtensile Testing of Wood Fibers Combined with videoextensometry for efficient Strain Detection. *Holzforschung,* 2003, vol. 57, 661-664 1 **[0073]**
- **BRYNE .E ; LAUSMAA J ; ERNSTSSON M ; ENGLUND F ; WALLINDER MEP.** Ageing of modified wood. Part 2: Determination of surface composition of acetylated, furfurylated, and thermally modified wood by XPS and ToF-SIMS. *Holzforschung,* 2010, vol. 64, 305-313 **[0073]**
- **COSGROVE DJ.** Wall extensibility: its nature, measurement and relationship to plant cell growth. *New Phytol,* 1993, vol. 124, 1-23 **[0073]**
- **DIMIGEN H ; DIMIGEN E.** *Zum Alterungsverhalten von Tonholz Holztechnologie,* 2014, vol. 1, 16-21 **[0073]**
- **ESPER J ; COOK ER ; SCHWEINGRUBER FH.** Low-frequency signals in long tree-ring chronologies for reconstructing past temperature variability. *Science,* 2002, vol. 295, 2250-2252 **[0073]**
- **EBRAHIMZADEH PR ; KUBAT DG.** Effects of humidity changes on damping and stress relaxation in wood. *J Mater Sci,* 1993, vol. 28, 5668-5674 **[0073]**
- **GANNE-CHÉDEVILLE C ; ÄÄSKELÄNEN AS ; FROIDEVAUX J ; HUGHES M ; NAVI P.** Natural and artificial ageing of spruce wood as observed by FT-IR-ATR and UVRR spectroscopy. *Holzforschung,* 2012, vol. 66, 163-170 **[0073]**
- **GARCIA ESTEBAN L ; FERNANDEZ FG ; CASASUS AG ; DE PALACIOS P ; GRIL J.** Comparison of the hygroscopic behaviour of 205-year-old and recently cut juvenile wood from Pinus sylvestris L. *Ann For Sci,* 2006, vol. 63, 309-317 **[0073]**
- **GUG R.** Choosing resonance wood. *The Strad,* 1991, vol. 102, 60-64 **[0073]**
- **HUNT DG ; GRIL J.** Evidence of a physical ageing phenomenon in wood. *J Mater Sci Lett,* 1996, vol. 15, 80-92 **[0073]**
- **HOLZ D.** Untersuchungen an Resonanzhölzern. 1. Mitteilung: Beurteilung von Fichtenresonanzhölzern auf der Grundlage der Rohdichteverteilung und der Jahrringbreite. *Archiv für Forstwesen,* 1966, vol. 15, 1287-1300 **[0073]**

- **JAKIELA S ; BRATASZ L ; KOZLOWSKI R.** Numerical modeling of moisture movement and related stress field in lime wood subjected to changing climate conditions. *Wood Sci. Technol.,* 2008, vol. 42, 21-37 **[0073]**
- **KATAOKA Y ; KIGUCHI M.** Depth profiling of photo-induced degradation in wood by FT-IR microspectroscopy. *J Wood Sci,* 2001, vol. 47, 325-327 **[0073]**
- **KÖHLER L ; SPATZ HC.** Micromechanics of plant tissues beyond the linearelastic range. *Planta,* 2002, vol. 215, 33-40 **[0073]**
- **LEHRINGER C ; KOCH G ; ADUSUMALLI RB ; MOOK WM ; RICHTER K ; MILITZ H.** Effect of Physisporinus vitreus on wood properties of Norway spruce. Part 1: aspects of delignification and surface hardness. *Holzforschung,* 2011, vol. 65, 711-719 **[0073]**
- **MATSUO M ; YOKOYAMA M ; UMEMURA K ; SUGIYAMA J ; KAWAI S ; GRIL J ; KUBODERA S ; MITSUTANI T ; OZAKI H ; SAKAMOTO M.** Aging of wood: analysis of color changes during natural aging and heat treatment. *Holzforschung,* 2011, vol. 65, 361-368 **[0073]**
- **MEYER HG.** A practical approach to the choice of tone wood for the instruments of the violin family. *Catgut Acoustical Society Journal,* 1995, vol. 2, 9-13 **[0073]**
- How violin makers choose wood and what this procedure means from a physical point of view. **MÜLLER HA.** Research Papers in Violin Acoustics. Acoustical Society of America, 1986, vol. 1, 92 **[0073]**
- **NAGYVARY J ; DIVERDI JA ; OWEN OL ; DENNIS TOLLEY H.** Wood used by Stradivari and Guarneri. *Nature,* 2006, vol. 444, 565 **[0073]**
- **NOGUCHI T ; OBATAYA, E ; ANDO K.** Effects of aging on the vibrational properties of wood. *Journal of Cultural Heritage,* 2012, vol. 13, 21-25 **[0073]**
- **ONO T ; NORIMOTO M.** Study on Young's modulus and internal friction of wood in relation to the evaluation of wood for musical instruments. *Japan Journal of Applied Physics,* 1983, vol. 22, 611-614 **[0073]**
- **ONO T ; NORIMOTO M.** On physical criteria for the selection of wood for soundboards of musical instruments. *Rheol Acta,* 1984, vol. 23, 652-656 **[0073]**
- **PFRIEM A ; EICHELBERGER K ; WAGENFÜHR A.** Acoustic properties of thermally modified spruce for use of violins. *J Violin Soc Am,* 2007, vol. 21, 102-111 **[0073]**
- **ROTH K.** Das chemische Geheimnis der Geigenvirtuosen Mit Stradivari, Kunstsaiten und Kolophonium. *Chem. Unserer Zeit,* 2009, vol. 43, 168-181 **[0073]**
- **SCHLESKE M.** On the acoustical properties of violin varnish. *Catgut Acoustical Society Journal,* 1998, vol. 3, 15-24 **[0073]**
- **SCHMIDT, O ; MORETH, U.** Characterization of indoor rot fungi byRAPD analysis. *Holzforschung,* 1998, vol. 52, 229-233 **[0073]**
- **SCHMIDT, O. ; MORETH, U.** Species-specific priming PCR in the rDNA-ITS region as a diagnostic tool for Serpula lacrymans. *Mycol. Research,* 2000, vol. 104, 69-72 **[0073]**
- **SCHMIDT, O. ; MORETH, U.** Molekulare Untersuchungen an Hausfäulepilzen. *Zeitschrift für Mykologie,* 2006, vol. 72, 137-152 **[0073]**
- **SCHWARZE FWMR ; LONSDALE D ; MATTHECK C.** Detectability of wood decay caused by Ustulina deusta in comparison with other tree-decay fungi. *European Journal of Forest Pathology,* 1995, vol. 25, 327-341 **[0073]**
- **SCHWARZE FWMR ; SPYCHER M ; FINK S.** Superior wood for violins - wood decay fungi as a substitute for cold climate. *New Phytologist,* 2008, vol. 179, 1095-1104 **[0073]**
- **SEDIGHI GILANI M ; NAVI P.** Experimental observations and micromechanical modeling of successive-damaging phenomenon in wood cells tensile behavior. *Wood Sci Technol,* 2007, vol. 41 (1), 69-85 **[0073]**
- **SEDIGHI GILANI, M. ; BOONE, M.N. ; MADER, K. ; SCHWARZE, F.W.M.R.** Synchrotron X-ray micro-tomography imaging and analysis of wood degraded by Physisporinus vitreus and Xylaria longipes. *Journal of Structural Biology,* 2014, vol. 187, 149-157 **[0073]**
- **SEDIGHI GILANI, M. ; TINGAUT P. ; HEEB M. ; SCHWARZE, F.W.M.R.** Influence of moisture on the vibro-mechanical properties of bio-engineered wood. *Journal of Material Science,* 2014, vol. 49, 7679-7687 **[0073]**
- The application of wood decay fungi to improve the acoustic properties of resonance wood for violins. **SPYCHER M.** PhD thesis. Freiburg. Albert-Ludwigs-Universität Freiburg, 2008 **[0073]**
- **SPYCHER M ; SCHWARZE FWMR ; STEIGER R.** Assessment of resonance wood quality by comparing the physical and histological properties. *Wood Science and Technology,* 2008, vol. 42, 325-342 **[0073]**
- **STOEL BC ; BORMAN TM.** Comparison of Wood Density between Classical Cremonese and Modern Violins. *PLoS ONE,* 2008, vol. 3, 1-7 **[0073]**
- **TOPHAM TJ ; MCCORMICK MD.** A dendrochronological investigation of stringed instruments of the Cremonese School (1666-1757) including 'The Messiah' violin attributed to Antonio Stradivari. *Journal of Archaeological Science,* 2000, vol. 27, 183-192 **[0073]**
- **WAGENFÜHR A ; PFRIEM A ; EICHELBERGER K.** Der Einfluss einer thermischen Modifikation von Holz auf im Musikinstrumentenbau relevante Eigenschaften. Teil I: spezielle anatomische und physikalische Eigenschaften. *Holztechnologie,* 2005, vol. 46, 36-42 **[0073]**

- **WAGENFÜHR A ; PFRIEM A ; EICHELBERGER K.** Der Einfluss einer thermischen Modifikation von Holz auf im Musikinstrumentenbau relevante Eigenschaften. Teil 2: technologische Eigenschaften, Herstellung und Prüfung von Musikinstrumentenbauteilen. *Holztechnologie,* 2005, vol. 47, 39-43 **[0073]**
- **WEGST UGK.** Wood for sound. *American Journal of Botany,* 2006, vol. 93, 1439-1448 **[0073]**
- Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. **WHITE TJ ; BRUNS T ; LEE S ; TAYLOR J.** PCR Protocols: a Guide to Methods and Applications. Academic Press, 1990, 315-321 **[0073]**
- **WINDEISEN E ; BACHLE H ; ZIMMER B ; WEGENER G.** Relations between chemical changes and mechanical properties of thermally treated wood 10th EWLP. *Holzforschung,* 2009, vol. 63, 773-778 **[0073]**
- **YANO H ; KAJITA H ; MINATO K.** Chemical treatment of wood for musical instruments. *Journal of the Acoustical Society of America,* 1994, vol. 96, 3380-3391 **[0073]**