

Fachgebiet Haushalts- und Betriebshygiene

Wissenschaftszentrum Weihenstephan für Ernährung, Landnutzung und Umwelt
der Technischen Universität München

**Antimikrobielle Wirksamkeit
von Bleichmitteln und Bleichsystemen**

Monika Maria B E T Z

Vollständiger Abdruck der von der Fakultät Wissenschaftszentrum Weihenstephan für Ernährung, Landnutzung und Umwelt der Technischen Universität München zur Erlangung des akademischen Grades eines

**Doktors der Haushalts- und Ernährungswissenschaften
(Dr. oec. troph.)**

genehmigten Dissertation.

Vorsitzender : Univ.-Prof. Dr. G. Wolfram

Prüfer der Dissertation: 1. Univ.-Prof. Dr. G. Cerny

2. Univ.-Prof. Dr. S. Scherer

Die Dissertation wurde am 04.04.2001 bei der Technischen Universität München eingereicht und durch die Fakultät Wissenschaftszentrum Weihenstephan für Ernährung, Landnutzung und Umwelt am 03.05.2001 angenommen.

Danksagung

Die vorliegende Arbeit entstand während meiner Tätigkeit als wissenschaftliche Mitarbeiterin am Fachgebiet Haushalts- und Betriebshygiene der Technischen Universität München unter der Leitung von **Prof. Dr. rer. nat. Gerhard Cerny** in der Zeit von 1998 bis 2001. Herrn Cerny möchte ich ganz herzlich für die hervorragenden Arbeitsbedingungen und den geistigen Freiraum während der Erstellung dieser Arbeit danken. Als Doktorvater hat er durch seine wissenschaftliche und persönliche Förderung zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen.

Danken möchte ich Herrn **Prof. Dr. rer. nat. Siegfried Scherer** für die Übernahme des Korreferates und das Interesse an dieser Arbeit sowie Herrn **Prof. Dr. med. Günther Wolfram** für seine Tätigkeit als Vorsitzender der Prüfungskommission.

Danke an meine Kolleginnen Frau **Marianne Holzmann** und Frau **Hannelore Meckl** am Fachgebiet Haushalts- und Betriebshygiene, für deren kollegiale Zusammenarbeit und ständige Hilfsbereitschaft. Ohne die tatkräftige Unterstützung von Frau Marianne Holzmann wäre diese Arbeit nur schwer möglich gewesen, weshalb ihr an dieser Stelle ein besonderes „Vergelt's Gott“ gebührt.

Zu Dank verpflichtet bin ich auch Herrn **Prof. Dr. rer. nat. Michael Heinzl** von der Fa. Henkel KGaA Düsseldorf für die großzügige materielle Versorgung mit Labormaterial und die ideelle Unterstützung und insbesondere für die Möglichkeit, die Praxisversuche vor Ort in Düsseldorf durchzuführen. Ohne diese Zuwendungen hätte diese Arbeit den finanziellen Rahmen des Fachgebietes gesprengt!

Mein Dank gilt allen, die nicht namentlich genannt sind und dennoch durch sachliche Informationen, Interesse und Anteilnahme mich motiviert und zum Ziel gebracht haben.

*Das Kleid aber oder das Gewebte oder Gewirkte oder allerlei Lederwerk,
das gewaschen ist und von dem die Stelle gewichen ist,
soll man zum zweiten Mal waschen, so ist es rein.*

3. Buch Mose, Kap. 13,57

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis.....		IV
Abbildungsverzeichnis.....		V
Tabellenverzeichnis.....		VIII
Zusammenfassung.....		IX
1	Einführung.....	1
1.1	Einleitung.....	1
1.2	Hygienische Aspekte der Textilwäsche.....	2
	1.2.1 Notwendigkeit der Textilwäsche.....	2
	1.2.2 Einfluß des Waschprozesses auf die Hygiene der Wäsche.....	6
1.3	Zielsetzung.....	11
2	Bleichmittel und Bleichsysteme in Waschmitteln.....	12
2.1	Definitionen.....	12
2.2	Funktion der Bleichmittel bei der Textilwäsche.....	12
2.3	Oxidative Bleichmittel und Bleichmittelsysteme und ihre Wirkungsweise.....	14
	2.3.1 Natriumhypochlorit.....	14
	2.3.2 Aktivsauerstoffverbindungen	15
	2.3.2.1 Wasserstoffperoxid und anorganische Peroxoverbindungen.....	15
	2.3.2.1.1 Natriumperoxoborate.....	15
	2.3.2.1.2 Natriumcarbonat-Peroxohydrat.....	17
	2.3.2.1.3 Mechanismus der Wasserstoffperoxidbleiche.....	18
	2.3.2.2 Aktivierte Bleiche, Bleichmittelaktivatoren und Bleichmittelkatalysatoren ..	19
	2.3.2.2.1 Allgemeiner Mechanismus der aktivierten Bleiche.....	20
	2.3.2.2.2 Tetraacetylethylendiamin.....	22
	2.3.2.2.3 Natrium-Nonanoyloxybenzolsulfonat.....	26
	2.3.2.2.4 Bleichmittelkatalysatoren.....	27
	2.3.2.3 Organische Persäuren.....	28
2.4	Mikrobizide Wirkung von Bleichmitteln und Bleichsystemen.....	30
	2.4.1 Natriumhypochlorit.....	30
	2.4.2 Wasserstoffperoxid und anorganische Persalze.....	31
	2.4.3 Aktivierte Bleichsysteme, organische Persäuren und Bleichmittelkatalysatoren.....	34
3	Testmikroorganismen zur Beurteilung der mikrobiziden Wirkung von Bleichsystemen.....	38
3.1	Bakterien.....	38
3.2	Hefen und Schimmelpilze.....	40
3.3	Bakterienviren.....	41

4	Material und Methoden.....	42
4.1	Testkeime, Testphagen und mikrobiologische Methoden.....	42
4.1.1	Mikroorganismenstämme.....	42
4.1.2	Bakteriophagenstämme und Wirtsstämme.....	42
4.1.3	Nährmedien und Verdünnungsmedien.....	43
4.1.4	Kultivierung und Herstellung der Keim- bzw. Phagensuspensionen.....	44
4.1.4.1	Anzucht der Teststämme.....	44
4.1.4.2	Gewinnung der Keimsuspensionen.....	44
4.1.5	Bestimmung der Lebendkeimzahl.....	45
4.1.6	Bestimmung des Phagentiters.....	46
4.2	Reagenzien und analytische Methoden.....	46
4.2.1	Bleichmittel, Bleichmittelaktivatoren und Bleichmittelkatalysatoren.....	46
4.2.2	Puffermedien und Herstellung der Bleichlösungen.....	47
4.2.3	Inaktivierung der Bleichsysteme durch Enthemer.....	49
4.2.4	Belastungssubstanzen.....	50
4.3	Bestimmung der Abtötungswirkung in Abhängigkeit von der Temperatur, vom pH-Wert und vom Bleichsystem im quantitativen Suspensionsversuch.....	50
4.3.1	Ermittlung der thermischen und pH-abhängigen Abtötungskurven.....	50
4.3.2	Ermittlung der thermischen und pH-abhängigen Abtötungskurven mit Zusatz von Bleichmitteln und Bleichmittelsystemen.	50
4.3.3	Ermittlung der D- und z-Werte und Reduktionsfaktoren.....	51
4.4	Bestimmung der Abtötungswirkung unter Praxisbedingungen	52
4.4.1	Versuchsvorbereitung.....	52
4.4.2	Durchführung der Praxisversuche.....	53
4.4.3	Auswertung der Ergebnisse.....	54
4.5	Modellsystem zur Bestimmung der pH-abhängigen Bleichwirkung ausgewählter Bleichmittelsysteme.....	54
4.5.1	Reagenzien.....	54
4.5.2	Ermittlung der pH-abhängigen Bleichwirkung.....	55
5	Ergebnisse.....	56
5.1	Antimikrobielle Wirkung von Bleichmitteln und Bleichsystemen im quantitativen Suspensionsversuch.....	56
5.1.1	Bakterizide Wirkung.....	56
5.1.1.1	<i>Enterococcus faecium</i> ATCC 6057.....	56
5.1.1.2	<i>Escherichia coli</i> ATCC 11229.....	68
5.1.1.3	<i>Staphylococcus aureus</i> WS 2286.....	72
5.1.1.4	<i>Mycobacterium terrae</i> ATCC 15755.....	76
5.1.2	Fungizide Wirkung.....	80
5.1.2.1	<i>Candida albicans</i> ATCC 10231.....	80
5.1.2.2	<i>Aspergillus niger</i> DSM 1957.....	87
5.1.3	Phagen-inaktivierende Wirkung.....	91
5.1.3.1	Phage PhiX174 DSM 4497.....	91
5.1.3.2	Phage MS2 DSM 5694.....	93
5.2	Antimikrobielle Wirkung von Bleichsystemen unter Praxisbedingungen.....	95
5.3	Bleichwirkung eines ausgewählten Bleichmittelsystems in Abhängigkeit vom pH-Wert.....	96

6	Diskussion.....	99
6.1	Die Bleichwirkung von Bleichmitteln und Bleichmittelsystemen und der Einfluß des pH-Wertes.....	100
6.2	Der Einfluß des pH-Wertes auf die thermische Abtötung von Mikroorganismen.....	102
6.3	Die mikrobizide Wirkung von Bleichmitteln und Bleichmittelsystemen und deren Einflußfaktoren.....	105
6.3.1	Mikrobizide Wirkung nicht-aktivierter Bleichmittel und deren Einflußfaktoren.....	106
6.3.1.1	Wirkungsspektrum und Vergleich der mikrobiziden Wirkung nicht-aktivierter Bleichmittel.....	106
6.3.1.2	Wirkung von Natriumhypochlorit als Referenz und der Einfluß des pH-Wertes.....	107
6.3.1.3	Wirkung von organischen Persäuren und der Einfluß der Konzentration und des pH-Wertes.....	107
6.3.1.4	Wirkung von anorganischen Peroxoverbindungen und deren Einflußfaktoren	108
6.3.2	Mikrobizide Wirkung aktivierter Bleichmittel und deren Einflußfaktoren	110
6.3.2.1	Wirkungsspektrum und Vergleich der mikrobiziden Wirkung aktivierter Bleichsysteme.....	110
6.3.2.2	Einfluß des Aktivators.....	111
6.3.2.3	Einfluß des pH-Wertes.....	112
6.3.2.4	Einfluß der Temperatur, der Konzentration und des Konzentrationsverhältnisses.....	113
6.3.2.5	Einfluß der Schmutzbelastung und des Katalysatorzusatzes.....	114
6.3.2.6	Mikrobizide Wirkung von Bleichsystemen unter Praxisbedingungen.....	114
6.4	Praktische Bedeutung der mikrobiziden Wirkung von Bleichmitteln bei der Textilwäsche.....	115
7	Literaturverzeichnis.....	118

Abkürzungsverzeichnis

Abkürzungen

Abb.	Abbildung
ATCC	American Type Culture Collection, Rockville/Maryland, USA
CaSo	Caseinsojamehlpepton
[C]	Natriumcarbonat-Puffer
DAP	Diacylperoxid
DSM	Deutsche Stammsammlung für Mikroorganismen und Zellkulturen, Braunschweig, D
H ₂ O _{dest}	destilliertes Wasser
i.a.	im allgemeinen
i.d.R.	in der Regel
K	Kelvin
KbE	kolonienbildende Einheiten
M	Molar (mol/l)
min	Minuten
ml	Milliliter
Mn-TACN	Manganhaltiger Trimethyltriacyclononan-Ligand
N	Normalität
NOBS	Natrium-Nonanoyloxybenzolsulfonat
<O>	Aktiv-Sauerstoff
p.a.	pro analysi
PAP	Phthalimido-peroxo-Hexansäure bzw. Phthalimido-peroxo-capronsäure
PC	Plate count
PFU	Plaque forming unit
Perborat	Natriumperborat-Monohydrat
Percarbonat	Natriumcarbonat-Peroxohydrat
pH-Wert	Negativer dekadischer Logarithmus der Hydroniumionenkonzentration = -lg [H ₃ O ⁺]
pK _s -Wert	Negativer dekadischer Logarithmus der Säurekonstanten = -lg K _s
spp.	Species (plural)
[T] od. Tris	Tris(hydroxymethyl-)aminomethan
TAGU	Tertraacetylglukoluril
Tab.	Tabelle
TAED	Tetraacetylethylendiamin
u.a.	unter anderem
v.a.	vor allem
WS	Weihenstephaner Stammsammlung, Freising, D

Mikroorganismengattungen

A.	<i>Aspergillus</i>	K.	<i>Klebsiella</i>
B.	<i>Bacillus</i>	M.	<i>Mycobacterium</i>
C.	<i>Candida</i>	P.	<i>Pseudomonas</i>
E.	<i>Escherichia</i>	S.	<i>Saccharomyces</i>
Entc.	<i>Enterococcus</i>	St.	<i>Staphylococcus</i>

Abbildungsverzeichnis

Abbildung	Seite	
Abb. 1-1	Mögliche Infektionskette bei der Wäschepflege	4
Abb. 2-1	Mögliche chemische Reaktionen beim oxidativen Bleichvorgang	13
Abb. 2-2	Mechanismus der aktivierten Bleiche	20
Abb. 2-3	Strukturformel des Bleichmittelaktivators TAED	22
Abb. 2-4	Mechanismus der TAED-aktivierten Bleiche	23
Abb. 2-5	Konzentrationsverlauf bei der Reaktion von Perborat mit TAED	24
Abb. 2-6	Vergleich der temperaturabhängigen Bleichleistung einer aktivierten und einer nicht-aktivierten Bleiche	25
Abb. 2-7	Strukturformel des Bleichmittelaktivators NOBS	26
Abb. 2-8	Mechanismus der NOBS-aktivierten Bleiche	26
Abb. 2-9	Strukturformel eines manganhaltigen Bleichmittelkatalysators mit 1,4,6-trimethyl-1,4,7-triacyclononan-Liganden	28
Abb. 2-10	Strukturformel von Phthalimido-peroxo-Hexansäure	29
Abb. 2-11	Vergleich der Bleichleistung verschiedener Bleichmittel in Abhängigkeit von der Temperatur	30
Abb. 5-1	Thermische Abtötung von <i>Entc. faecium</i> ATCC 6057 in Abhängigkeit vom pH-Wert bei 65°C	57
Abb. 5-2	Abtötung von <i>Entc. faecium</i> ATCC 6057 durch Perborat unterschiedlicher Konzentrationen in Abhängigkeit vom pH-Wert bei 60°C	58
Abb. 5-3	Abtötung von <i>Entc. faecium</i> ATCC 6057 durch Perborat bzw. Percarbonat unterschiedlicher Konzentrationen in Abhängigkeit vom pH-Wert bei 40°C	59
Abb. 5-4	Abtötung von <i>Entc. faecium</i> ATCC 6057 durch 0,2% PAP in Abhängigkeit vom pH-Wert bei 30°C	60
Abb. 5-5	Abtötung von <i>Entc. faecium</i> ATCC 6057 durch 0,1% Natriumhypochlorit in Abhängigkeit vom pH-Wert bei 30°C	61
Abb. 5-6	Abtötung von <i>Entc. faecium</i> ATCC 6057 durch Perborat und TAED unterschiedlicher Konzentrationen in Abhängigkeit vom pH-Wert bei 40°C und 30°C	63
Abb. 5-7	Abtötung von <i>Entc. faecium</i> ATCC 6057 durch Percarbonat und TAED unterschiedlicher Konzentrationen in Abhängigkeit vom pH-Wert bei 40°C und 30°C	65
Abb. 5-8	Abtötung von <i>Entc. faecium</i> ATCC 6057 durch Perborat und TAED unterschiedlicher Konzentrationen in Abhängigkeit vom pH-Wert bei 40°C mit und ohne Albuminbelastung	66
Abb. 5-9	Abtötung von <i>Entc. faecium</i> ATCC 6057 durch Perborat und NOBS in Abhängigkeit vom pH-Wert bei 40°C mit und ohne Albuminbelastung	67
Abb. 5-10	Abtötung von <i>E. coli</i> ATCC 11229 in Abhängigkeit vom pH-Wert bei 50°C und 55°C	69

Abb. 5-11	Abtötung von <i>E. coli</i> ATCC 11229 durch 0,075% Perborat in Abhängigkeit vom pH-Wert bei verschiedenen Temperaturen	70
Abb. 5-12	Abtötung von <i>E. coli</i> ATCC 11229 durch Perborat unterschiedlicher Konzentrationen in Abhängigkeit vom pH-Wert bei 30°C	71
Abb. 5-13	Abtötung von <i>E. coli</i> ATCC 11229 durch 0,075% Perborat und 0,0075% TAED (10:1) bei 30°C im Puffermedium mit pH 7	72
Abb. 5-14	Thermische Abtötung von <i>St. aureus</i> WS 2286 in Abhängigkeit vom pH-Wert bei 50°C	73
Abb. 5-15	Abtötung von <i>St. aureus</i> WS 2286 durch 1,0% Perborat in Abhängigkeit vom pH-Wert bei 40°C	73
Abb. 5-16	Abtötung von <i>St. aureus</i> WS 2286 durch PAP unterschiedlicher Konzentrationen in Abhängigkeit vom pH-Wert bei 30°C	74
Abb. 5-17	Abtötung von <i>St. aureus</i> WS 2286 durch Perborat und TAED unterschiedlicher Konzentrationen in Abhängigkeit vom pH-Wert bei 40°C und 30°C	75
Abb. 5-18	Thermische Abtötung von <i>M. terrae</i> ATCC 15755 in Abhängigkeit vom pH-Wert bei 55°C	76
Abb. 5-19	Abtötung von <i>M. terrae</i> ATCC 15755 durch 0,1% Perborat und 0,02% TAED (5:1) in Abhängigkeit vom pH-Wert bei 50°C	77
Abb. 5-20	Abtötung von <i>M. terrae</i> ATCC 15755 durch Perborat und TAED unterschiedlicher Konzentrationen in Abhängigkeit vom pH-Wert bei 40°C	78
Abb. 5-21	Abtötung von <i>M. terrae</i> ATCC 15755 durch 0,2% Perborat und 0,04% NOBS in Abhängigkeit vom pH-Wert bei 40°C und 30°C	79
Abb. 5-22	Thermische Abtötung von <i>C. albicans</i> ATCC 10231 in Abhängigkeit vom pH-Wert bei 55°C	80
Abb. 5-23	D ₅₅ -Werte von <i>C. albicans</i> ATCC 10231 in Abhängigkeit vom pH-Wert	81
Abb. 5-24	Abtötung von <i>C. albicans</i> ATCC 10231 durch 0,1% Perborat in Abhängigkeit vom pH-Wert bei 50°C	81
Abb. 5-25	Abtötung von <i>C. albicans</i> ATCC 10231 durch 1,0% Perborat in Abhängigkeit vom pH-Wert bei 40°C	82
Abb. 5-26	Abtötung von <i>C. albicans</i> ATCC 10231 durch 0,2% PAP in Abhängigkeit vom pH-Wert bei 30°C	83
Abb. 5-27	Abtötung von <i>C. albicans</i> ATCC 10231 durch 0,1% Perborat bzw. 0,1% Perborat und 0,02% TAED (5:1) in Abhängigkeit vom pH-Wert bei 50°C	84
Abb. 5-28	Abtötung von <i>C. albicans</i> ATCC 10231 durch Perborat und TAED unterschiedlicher Konzentrationen in Abhängigkeit vom pH-Wert bei 40°C	85
Abb. 5-29	Abtötung von <i>C. albicans</i> ATCC 10231 durch 0,1% Perborat und 0,02% NOBS (5:1) in Abhängigkeit vom pH-Wert bei 40°C und 30°C	86
Abb. 5-30	Abtötung von <i>A. niger</i> DSM 1957 durch 1,0% Perborat in Abhängigkeit vom pH-Wert bei 40°C	87
Abb. 5-31	Abtötung von <i>A. niger</i> DSM 1957 durch 0,1% Natriumhypochlorit in Abhängigkeit vom pH-Wert bei 30°C	88

Abb. 5-32	Abtötung von <i>A. niger</i> DSM 1957 durch 0,2% PAP in Abhängigkeit vom pH-Wert bei 40°C	88
Abb. 5-33	Abtötung von <i>A. niger</i> DSM 1957 durch Perborat und TAED unterschiedlicher Konzentrationen in Abhängigkeit vom pH-Wert bei 40°C	89
Abb. 5-34	Abtötung von <i>A. niger</i> DSM 1957 durch Perborat und NOBS unterschiedlicher Konzentrationen in Abhängigkeit vom pH-Wert bei 30°C	90
Abb. 5-35	Inaktivierung des Bakteriophagen PhiX174 durch 0,2% Perborat und 0,04% TAED (5:1) in Abhängigkeit vom pH-Wert bei 40°C und 30°C	91
Abb. 5-36	Inaktivierung des Bakteriophagen PhiX174 durch Perborat und NOBS unterschiedlicher Konzentrationen in Abhängigkeit vom pH-Wert bei 40°C und 30°C	92
Abb. 5-37	Inaktivierung des Bakteriophagen MS2 durch 0,2% PAP in Abhängigkeit vom pH-Wert bei 40°C	93
Abb. 5-38	Inaktivierung des Bakteriophagen MS2 durch Perborat und TAED unterschiedlicher Konzentrationen in Abhängigkeit vom pH-Wert bei 40°C	94
Abb. 5-39	Inaktivierung des Bakteriophagen MS2 durch Perborat und NOBS unterschiedlicher Konzentrationen in Abhängigkeit vom pH-Wert bei 40°C	94
Abb. 5-40	Abnahme der Extinktion einer Farbstofflösung (Erythrosin) nach Zugabe von verschiedenen Bleichmitteln in Abhängigkeit vom pH-Wert bei 40°C	97
Abb. 5-41	Abnahme der Extinktion einer Farbstofflösung (Brillantblau) durch Perborat und TAED in Abhängigkeit vom pH-Wert bei 40°C	97
Abb. 5-42	Bleichwirkung bzw. Differenz der Bleichwirkung von Perborat bzw. Perborat/TAED in Abhängigkeit vom pH-Wert bei 40°C	98
Abb. 6-1	Vergleich der D-Werte verschiedener Mikroorganismen in Abhängigkeit vom pH-Wert	102

Tabellenverzeichnis

Tabelle	Seite	
Tab. 2-1	Strukturformeln und Eigenschaften von Natriumperboraten	16
Tab. 2-2	Eigenschaften von Natriumpercarbonat	17
Tab. 2-3	Mikrobizide Wirkung von Perborat und Percarbonat	33
Tab. 2-4	Mikrobizide Wirkung von aktivierten Bleichsystemen	36
Tab. 4-1	Nährmedien zur Kultivierung der Testkeime	43
Tab. 4-2	Kultivierungsbedingungen für die Subkulturen	44
Tab. 4-3	Kultivierungsbedingungen zur Bestimmung der Lebendkeimzahl	46
Tab. 4-4	Puffermedien für die Versuchsansätze	48
Tab. 4-5	Enthemmungsmittel und Dosierung	49
Tab. 4-6	Kultivierungsbedingungen der Testkeime im Praxistest	52
Tab. 4-7	Versuchsparameter im Praxistest	53
Tab. 5-1	D ₆₅ -Werte von <i>Entc. faecium</i> ATCC 6057 bei unterschiedlichen pH-Werten	57
Tab. 5-2	Effektive pH-Werte der Pufferlösungen nach Zugabe von 1,0% Perborat	59
Tab. 5-3	Effektive pH-Werte der Pufferlösungen nach Zugabe von 0,2% Perborat und 0,04% TAED	64
Tab. 5-4	D ₅₀ -Werte, D ₅₅ -Werte und z-Wert der thermischen Inaktivierung von <i>E. coli</i> ATCC 11229 bei unterschiedlichen pH-Werten	69
Tab. 5-5	D-Werte und z-Werte der chemo-thermischen Inaktivierung von <i>E. coli</i> ATCC 11229 durch 0,075% Perborat bei unterschiedlichen pH-Werten	70
Tab. 5-6	D ₅₀ -Werte von <i>St. aureus</i> WS 2286 bei unterschiedlichen pH-Werten	73
Tab. 5-7	D ₅₅ -Werte von <i>M. terrae</i> ATCC 15755 bei unterschiedlichen pH-Werten	76
Tab. 5-8	D ₅₅ -Werte von <i>C. albicans</i> ATCC 10231 bei unterschiedlichen pH-Werten	81
Tab. 5-9	Wirkung von 0,2% Perborat und 0,04% TAED im Praxistest	95
Tab. 5-10	Effektive pH-Werte in verschiedenen Puffern nach Zugabe von 0,2% Perborat und 0,04% TAED	98
Tab. 6-1	Wirkstoffgehalt verschiedener Bleichmittel	99
Tab. 6-2	Theoretisch errechnete z _{pH} -Werte ausgewählter Mikroorganismen	103
Tab. 6-3	Wirkung nicht-aktivierter Bleichmittel auf <i>Entc. faecium</i> ATCC 6057	106

Zusammenfassung

Im privaten Haushalt hat sich in den letzten Jahren im Bereich der Textilwäsche aus energetischen und textiltechnischen Gründen eine Entwicklung vollzogen, die sich in einer Veränderung der Waschgewohnheiten von der Kochwäsche hin zur Niedrigtemperaturwäsche äußerte. Als Folge der verminderten Waschttemperaturen traten sowohl Einbußen in der Reinigungswirkung als auch in der Hygienewirkung von textilen Waschprozessen auf. Nachdem im Niedrigtemperaturbereich eine thermische Hygienisierung der Wäsche nicht stattfindet, stellt sich die Frage, welche Möglichkeiten bestehen, die fehlende Wirkung der Temperatur zu kompensieren. Ein wichtiger Bestandteil in Vollwaschmitteln sind die Bleichmittel, die während des Waschprozesses durch ihre oxidierende Wirkung schlecht auswaschbare farbige Verschmutzungen auf Textilien eliminieren können. Klassische Bleichmittel auf Aktivsauroxybasis (z.B. Perborat, Percarbonat) entwickeln eine hinreichende Bleichwirkung erst bei Temperaturen über 60°C, weshalb für eine effektive Bleichwirkung im Niedrigtemperaturbereich aktivierte Bleichsysteme (z.B. TAED, NOBS) entwickelt wurden. Solche aktivierten Bleichsysteme bilden in situ organische Persäuren, die aufgrund ihres höheren Oxidationspotentials schon bei niedrigen Temperaturen bleichend wirken, wobei die Bleichwirkung von mehreren Faktoren beeinflusst wird. Im ersten Teil dieser Arbeit sind die in Waschmitteln eingesetzten Bleichmittel und Bleichsysteme, deren Wirkung und die Einflußfaktoren auf die Wirkung umfassend beschrieben. Ein wesentlicher Zusatzeffekt der Bleichmittelsysteme ist ihre mikrobizide Wirkung, die bislang nur wenig untersucht wurde.

Die Zielsetzung dieser Arbeit war, mit Hilfe des quantitativen Suspensionsversuches, das Wirkungsspektrum verschiedener nicht-aktivierter Bleichmittel (Perborat, Percarbonat, Phthalimido-peroxo-capronsäure) und aktivierter Bleichmittelsysteme (NOBS, TAED) gegenüber ausgewählten Mikroorganismen (*Entc. faecium*, *E. coli*, *St. aureus*, *M. terrae*, *C. albicans*, *A. niger*) und Bakteriophagen (Phage PhiX174 und Phage MS2) zu untersuchen und die Einflußfaktoren auf die mikrobizide Wirkung zu bestimmen. Im Vergleich dazu wurde die Wirkung gängiger Desinfektionsmittel (Natriumhypochlorit, Peressigsäure) unter denselben Bedingungen bestimmt. Aufbauend auf den Grundlagenuntersuchungen sollte die mikrobizide Wirkung der Bleichsysteme auch unter Praxisbedingungen überprüft werden.

Eingangs wurde die pH-abhängige thermische Abtötung der ausgewählten Mikroorganismen bestimmt, um den Grenzbereich der thermischen Abtötung und die pH-Empfindlichkeit der Mikroorganismen zu ermitteln. Die Ergebnisse bestätigten die bereits bekannte Tatsache, daß viele Bakterien in neutralen Medien eine größere Hitzetoleranz aufweisen als unter alkalischen Bedingungen.

Die Ergebnisse der Hauptversuche machten deutlich, daß gängige nicht-aktivierte und aktivierte Bleichmittelsysteme ein mikrobizides Potential besitzen, das von mehreren Faktoren beeinflusst wird. Generell wurden gramnegative Bakterien besser abgetötet als grampositive Bakterien. Erheblich resistenter gegenüber den untersuchten Bleichsystemen zeigten sich die Hefe *C. albicans* und der Schimmelpilz *A. niger* und die Bakteriophagen (PhiX174 und MS2).

Die Wirkung der nicht-aktivierten Bleichmittel (Perborat, Percarbonat und Phthalimido-peroxo-capronsäure) war vom pH-Wert, von der Konzentration und von der Temperatur abhängig. Die mikrobizide Wirkung der anorganischen Peroxoverbindungen Perborat und Percarbonat wurde mit steigendem pH-Wert verstärkt, während die Wirkung der organischen Persäure Phthalimido-peroxo-capronsäure unter neutralen Bedingungen besser war. Die Abtötungskinetik der nicht-aktivierten Bleichmittel zeigte eine lag-Phase, die in Abhängigkeit von der Temperatur und von

der Konzentration mehr oder weniger ausgeprägt war. Durch Temperatur- bzw. Konzentrationserhöhung konnte die Wirkung der nicht-aktivierten Bleichmittel signifikant gesteigert werden. Die Untersuchungen zur mikrobiziden Wirkung aktivierter Bleichsysteme konnten zeigen, daß der Zusatz eines Aktivators im Niedrigtemperaturbereich die mikrobizide Wirkung im Vergleich zu den nicht-aktivierten Bleichmitteln signifikant verstärkte und daß die mikrobizide Wirkung des aktivierten Bleichsystems von mehreren Faktoren beeinflusst wurde. Ein wichtiges Ergebnis dieser Arbeit war, daß mit NOBS-aktivierten Bleichsystemen signifikant bessere Effekte erzielt wurden als mit den in Europa gängigen TAED-aktivierten Systemen und daß diese Wirkung mit deutlich geringeren NOBS-Konzentrationen möglich war. Dieser Unterschied beruht auf Löslichkeitsvorteilen, verbesserter Perhydrolyse und den mikrobiziden Eigenschaften der aus NOBS freigesetzten Pernonansäure. Die Wirkung der aktivierten Bleichsysteme wurde maßgeblich vom pH-Wert beeinflusst, wobei tendenziell die Wirkung unter neutralen Bedingungen besser war als unter alkalischen (waschflottenähnlichen) Bedingungen. Weiterhin beeinflusste die Konzentration, das Konzentrationsverhältnis der Bleichsystemkomponenten und die Temperatur die mikrobizide Wirkung der aktivierten Bleichsysteme. Nachteilige Auswirkungen von Schmutzbelastungen (Albumin) auf die Wirksamkeit aktivierter Bleichsysteme konnten ebenfalls nachgewiesen werden. Im Vergleich zu den untersuchten Referenz-Desinfektionsmitteln (Peressigsäure, Natriumhypochlorit) war die Wirkung der nicht-aktivierten und aktivierten Bleichmittel im Niedrigtemperaturbereich schlechter.

In den Praxisuntersuchungen erwies sich die alleinige Dosierung von 0,2% Perborat und 0,04% TAED als ausreichend, um ausgewählte grampositive und gramnegative Keime während eines Waschprozesses bei 30°C zu eliminieren; für die Abtötung von Hefen waren die gewählten Versuchsbedingungen nicht ausreichend.

Die vorliegenden Untersuchungen konnten zeigen, daß in Waschmitteln eingesetzte gängige Bleichmittelsysteme unter Laborbedingungen und Praxisbedingungen eine bakterizide, fungizide und viruzide Wirkung aufweisen und damit unter bestimmten Voraussetzungen zur Hygienisierung der Wäsche im Niedrigtemperaturbereich beitragen können. Da die mikrobizide Wirkung von NOBS-aktivierten Systemen besser ist als die Wirkung TAED-aktivierter Systeme, wäre von Seiten der Waschmittelhersteller zu prüfen, ob eine Substitution von TAED durch NOBS unter Berücksichtigung technologischer, ökologischer und ökonomischer Aspekte in Waschmitteln in Betracht kommt.

1 Einführung

1.1 Einleitung

Das Waschen von Textilien ist im weitesten Sinne ein „Recycling-Prozeß“, der gebrauchte, schmutzige Wäsche wieder in einen gebrauchsfähigen, sauberen und hygienischen Zustand versetzt. Während für die meisten Menschen die optische „Sauberkeit“ der Textilien im Vordergrund steht, ist nur wenigen bewußt, daß beim Waschen auch auf der Wäsche vorhandene Keime eliminiert werden können und damit der Waschprozeß die Hygiene der Wäsche wesentlich beeinflußt und zur Gesunderhaltung des Menschen beiträgt.

Der Reinigungserfolg und die Hygienewirkung eines Waschprozesses wird durch das Zusammenwirken der vier Verfahrensparameter *Mechanik*, *Temperatur*, *Zeit* und *Chemie* maßgeblich mitbestimmt.

Früher konnte durch traditionelle Waschverfahren bei hohen Temperaturen (95°C-Kochwäsche) eine Sicherung der Wäschehygiene gewährleistet werden. In den letzten Jahrzehnten haben sich die Waschgewohnheiten jedoch grundlegend gewandelt. Während vor 30 Jahren die Kochwäsche noch 50% aller haushaltsüblichen textilen Waschprozesse ausmachte, dominiert seit 1985 die Niedrigtemperaturwäsche mit Temperaturen zwischen 30°C und 60°C [KUZEL und LIESER, 1990]. 1998 betrug der Anteil der Kochwäsche in Deutschland nur noch 9%, im Vergleich dazu lag der Anteil der 60°C-Wäsche bei 35%, der Anteil der 40°C-Wäsche bei 53% und der Anteil der 30°C-Wäsche bei 3% [IKW, 1998]. Gründe für diesen Wandel der Waschgewohnheiten sind das verstärkte Aufkommen temperaturempfindlicher Textilfasern, insbesondere Synthefasern, sowie die zunehmende Einsparung von Energie aus ökonomischen und ökologischen Gründen. Diese Entwicklung wird sich noch weiter fortsetzen, da die europäische Waschmittelindustrie auf freiwilliger Basis mit der Unterzeichnung des „Codes für Umweltgerechtes Handeln“ sich das Ziel gesetzt hat, bis zum Jahre 2001 den Energieverbrauch bei der haushaltsüblichen Textilwäsche um 5% zu senken [IKW, 1998]. Werbe- und Aufklärungsmaßnahmen für eine vermehrte Durchführung der Textilwäsche bei niedrigen Temperaturen sollen zur Erreichung des gesetzten Zieles maßgeblich eingesetzt werden.

Unter den veränderten Voraussetzungen der zunehmend geringeren Waschttemperaturen können vermehrt Probleme durch eine unzureichende Hygienisierung der Wäsche im privaten Haushalt auftreten. Dies deckt sich mit der Beobachtung von Hautärzten, die eine inadäquate Dekontamination der Unterwäsche als häufige Rezidivursache für Dermatosen und Onychomykosen in Betracht ziehen [OSSOWSKI und DUCHMANN, 1997 u. 1999].

Nachdem bei der Textilwäsche im Niedrigtemperaturbereich eine thermische Hygienisierung der Wäsche nicht stattfindet, stellt sich die Frage, welche Möglichkeiten bestehen, die fehlende Wirkung der Temperatur durch andere Verfahrensparameter zu kompensieren. Da die Faktoren Mechanik und Zeit meist durch das Waschprogramm vorgegeben sind bzw. deren Wirkung begrenzt ist, muß die fehlende Temperaturwirkung durch den Einsatz von Chemie kompensiert werden, z.B. durch den zusätzlichen Einsatz mikrobizider Wirkstoffe. Solche mikrobizid wirkende Produkte werden in Form von Hygienespülnern in Apotheken angeboten und als Ergänzung zur Therapie von Hautmykosen empfohlen. Ein genereller Einsatz von solchen Produkten zur Sicherung der Wäschehygiene ist jedoch nicht zu empfehlen. Nach einer gemeinsamen Stellungnahme des Umweltbundesamtes, des Bundesinstituts für gesundheitlichen Verbraucherschutz und Veterinärmedizin und des Robert-Koch-Instituts vom 22. August 2000 über den Einsatz antibakterieller Reinigungsmittel im Haushalt, sind „die möglichen Folgen einer Veränderung der natürlichen Hautflora des Menschen durch

antibakteriell ausgerüstete Verbraucherprodukte zur Reinigung oder Körperpflege nicht absehbar. Weiterhin besteht die Gefahr, daß durch die Anwendung von Bakteriziden in Verbraucherprodukten breit wirksame Resistenzmechanismen selektiert werden, die auch Antibiotika betreffen können“ [N.N., 2000]. Die von den Bundesinstituten befürchtete Gefahr der Resistenzenbildung ist nicht wegzudiskutieren. Jedoch stellen Hygienerisiken in privaten Haushalten für einen anfälligen Personenkreis (Säuglinge, Senioren, Immungeschwächte) eine Infektionsquelle dar, die bei der zunehmenden Zahl dieser Risikogruppen nicht unbeachtet bleiben sollte.

Eine andere Möglichkeit, die Hygiene der Wäsche auch bei niedrigen Temperaturen zu beeinflussen, besteht darin, die mikrobizide Wirksamkeit von Waschmittelbestandteilen auszunutzen. In Waschmittelformulierungen eingesetzte Bleichmittel bzw. Bleichmittelsysteme bieten als gängige Waschmittelbestandteile aufgrund ihrer oxidierenden Wirkung ein mikrobizides Potential, welches unter dem Aspekt der Wäschehygiene bislang nur wenig untersucht wurde. Die Ausnutzung der antimikrobiellen Wirksamkeit von Waschmittelbestandteilen bietet den Vorteil, daß keine zusätzlichen Arbeitsschritte für eine hygienisierende Wirkung bei der Textilwäsche nötig sind und alles in einen Vorgang (=alleinige Dosierung des Waschmittels) implementiert ist.

1.2 Hygienische Aspekte der Textilwäsche

1.2.1 Notwendigkeit der Wäschehygiene

Textilien werden im Gebrauch zwangsläufig mit Mikroorganismen beladen. Aus der Luft und durch Kontakt mit Gegenständen gelangen an Staubpartikel gebundene Mikroorganismen auf die Textilien. Auch der Mensch ist von einer physiologischen Keimflora besiedelt, die durch direkten Kontakt, durch Hautabschilferungen und durch Körperausscheidungen auf die Wäsche gelangt.

Die Keimzahl der schmutzigen Wäsche hängt u.a. von ihrem Verwendungszweck, von der Tragedauer, der Häufigkeit des Waschens und vom Verschmutzungsgrad ab. In der Literatur liegen viele Daten zur Keimzahl von Schmutzwäsche vor, jedoch sind diese schwer miteinander zu vergleichen, da die jeweiligen Bezugsgrößen unterschiedlich sind. I.d.R. weist Leibwäsche eine höhere Keimzahl auf als Oberbekleidung. FRIES [1972] beziffert den Keimgehalt eines Unterhemdes mit insgesamt ca. 10^8 Keimen, während STACHE und GROßMANN [1985] für die Keimzahl von Damenblusen Werte zwischen 10^2 und 10^4 , für Unterwäsche zwischen 10^5 und 10^7 und für Socken 10^9 Keimen pro Gramm Textilgut angeben. Angaben zur Keimzahl von Geschirrtüchern schwanken zwischen $5 \cdot 10^2$ und $2,6 \cdot 10^7$ KbE/g, wobei ein deutlicher Zusammenhang zwischen der Keimzahl und der Nutzungsdauer der Geschirrtücher nachweisbar war [SNYDER, 1997]. In anderen Untersuchungen wurden Keimzahlen von gebrauchten Bettlaken mit ca. 10^3 Mikroorganismen pro cm^2 ermittelt [WALTER und SCHILLINGER, 1975]. Eine Studie von ARNOLD [1938] konnte sogar jahreszeitliche Schwankungen in der Keimzahl von Textilien beobachten.

Betrachtet man die auf Textilien vorherrschende Keimflora, so setzt sich diese meist aus Mikroorganismen zusammen, die auch auf der gesunden Haut des Menschen anzutreffen sind. GRÜN [1979] konnte aus Schmutzwäsche Staphylokokken, Mikrokokken, aber auch Enterokokken und coliforme Bakterien isolieren, während SNYDER [1997] aus Geschirrtüchern teilweise noch *Bacillus cereus* und SCOTT et al. [1982] zusätzlich *Pseudomonas spp.* und ENRIQUEZ et al. [1997] *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas spp.* und *Staphylococcus aureus* isolieren konnten. BEUMER et al. [1996] wiesen in Geschirrtüchern und Spülbürsten sogar *Listeria spp.* nach.

Obwohl Mikroorganismen sich ohne Wasser nicht vermehren, können sie auf Textilien relativ lange überleben. SCOTT und BLOOMFIELD [1990a] konnten in künstlich mit vegetativen Keimen kontaminierten trockenen Textilien nach 48 h immer noch hohe Keimzahlen auf den Textilien wieder finden. Andere Studien berichten von einer Überlebensdauer von vegetativen Mikroorganismen auf Textilien von bis zu 127 Tagen in Abhängigkeit vom Textil und von der relativen Luftfeuchtigkeit [McNEIL, 1964]. Unter günstigen Milieubedingungen, v.a. bei hoher Feuchtigkeit, ausreichendem Nährstoffangebot und Wärme, können sich Keime in Textilien sogar vermehren, was bei pathogenen Keimen zu einem Anstieg der Keimzahl in kritische Bereiche führen kann. Damit stellen Textilien sog. Keimreservoirs bzw. Übertragungsvektoren für Infektionskrankheiten dar. Inwieweit eine unzureichende Wäschehygiene eine potentielle Gesundheitsgefahr darstellt, ist bisher schwer abzuschätzen. In Abb. 1-1 wurde versucht, anhand des Ablaufs der Wäschepflege kritische Stellen zu kennzeichnen, an denen ein Infektionsrisiko bei der Wäschepflege im Haushalt möglich ist. Der Kreislauf der Wäschepflege beginnt bei der Schmutzwäsche, die mehr oder weniger mit Keimen „kontaminiert“ sein kann. Die Lagerung der Schmutzwäsche über einen längeren Zeitraum kann zu einer Vermehrung von Mikroorganismen führen, insbesondere wenn die Schmutzwäsche eine hohe Feuchtigkeit aufweist (z.B. feuchte Handtücher) oder unter feuchten Bedingungen (z.B. Badezimmer) gelagert wird. Über den Vektor „kontaminierte Wäsche“ kann beim Sortieren eine direkte Übertragung von möglicherweise vorhandenen pathogenen Mikroorganismen auf die Hände des Hausmanns/der Hausfrau stattfinden, weshalb nach dem Sortieren von Wäsche das Waschen der Hände eine selbstverständliche Maßnahme sein sollte. SCOTT und BLOOMFIELD [1990a] konnten eine Keimtransfer-Rate von kontaminierten Textilien auf die Hände von 5-10% nachweisen. Erfolgt nach dem Sortiervorgang keine ausreichende Händehygiene, können die von der Wäsche auf die Hände übertragenen Mikroorganismen weiter verbreitet werden. Denkbar wäre der Fall, daß im Anschluß an die Wäschesortierung von der Hausfrau Küchenarbeiten durchgeführt werden, bei denen die „kontaminierten“ Hände als Übertragungsvektoren der Mikroorganismen auf Lebensmittel beteiligt sein können. Durch die „kontaminierte Wäsche“ erfolgt weiterhin eine Verkeimung des Waschwassers, das wiederum als Vektor dient für die Kontamination anderer „nicht-kontaminierter“ Wäschestücke bzw. der Waschmaschine.

Während des Waschprozesses bzw. der Nachbehandlung findet eine Abnahme der Keimzahl statt, die von mehreren Faktoren beeinflusst wird (vgl. Kap. 1.2.2). Ist die hygienisierende Wirkung des Waschverfahrens unzureichend, besteht durch die Übertragung der Keime von der nassen Wäsche auf die Hände bzw. durch die Kontamination nachfolgender Wäsche über die Waschmaschine wiederum ein Infektionspotential. Eine Berechnung der Eintrittswahrscheinlichkeit und damit des Risikos einer möglichen Infektion durch unsachgemäße Wäschepflege ist kaum möglich. Der Waschprozeß und die Nachbehandlung stellen somit kritische Punkte bei der Wäschepflege dar, durch die Einfluß auf die Kontamination der Wäsche genommen werden kann. Hier besteht die Möglichkeit, eine Infektionskette durch geeignete Maßnahmen zu unterbrechen.

Ziel einer sachgemäßen hygienischen Wäschepflege ist es, die Wäsche wieder in einen möglichst hygienischen Zustand zu versetzen, indem die mikrobielle Belastung der Wäsche auf ein physiologisch akzeptables Maß reduziert wird, wobei die Maßnahmen nicht mit einer Wäschedesinfektion gleichzusetzen sind [HAUTHAL, 2000]. Wäschedesinfektionsmaßnahmen sind nur in solchen Bereichen angebracht, in denen Personen durch potentiell verkeimte Textilien besonderen Gefährdungen ausgesetzt sind, z.B. im Krankenhaus. Da hier ein großes Gefahrenpotential vorhanden ist, erfolgt die Bearbeitung von Krankenhauswäsche nach vorgeschriebenen Richtlinien [VKD, 1992].

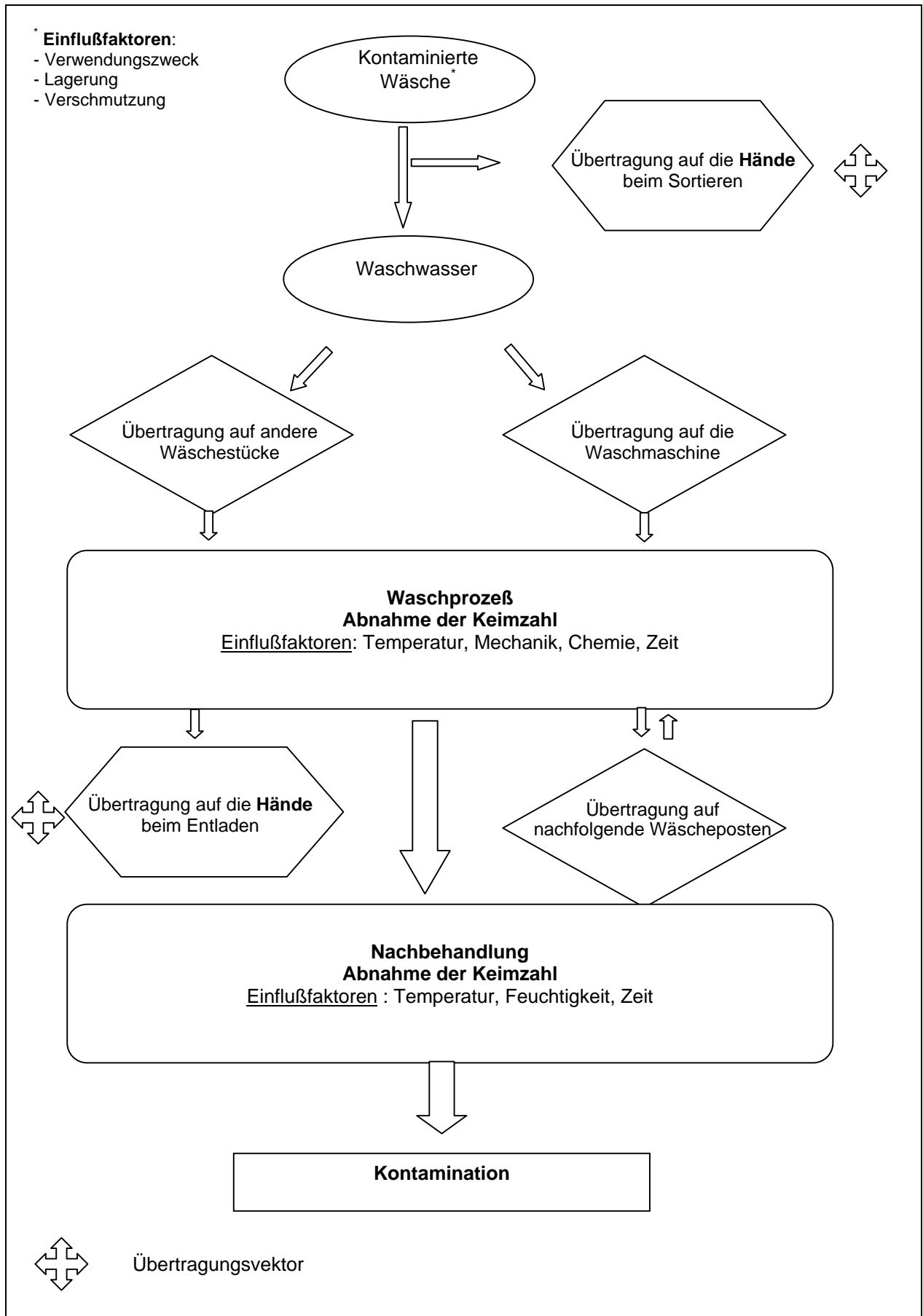


Abb. 1-1: Mögliche Infektionskette bei der Wäschepflege (verändert nach GIBSON et al., 1999)

Zwei weitere wichtige Aspekte der Wäschehygiene, die nicht unmittelbar mit dem gesundheitlichen Aspekt in Zusammenhang stehen, sollen hier ebenfalls Erwähnung finden. Nach CROUD und GEORGE [1997] spielen neben dem gesundheitlichen Aspekt der Wäschehygiene auch ästhetische Aspekte eine wichtige Rolle. Eine inadäquate Wäschehygiene kann sich auch darin äußern, daß die Wäsche unangenehm und sogar modrig riecht. Nicht eliminierte Mikroorganismen können durch Stoffwechselaktivitäten in der Wäsche Stoffwechselprodukte ausscheiden, die sehr geruchsintensiv sind und der Wäsche einen unangenehmen Geruch verleihen. Dies tritt insbesondere dann auf, wenn Mikroorganismen günstige Bedingungen vorfinden, z.B. langsame und unzureichende Trocknung der Wäsche bzw. hohe Luftfeuchtigkeit bei der Aufbewahrung der Wäsche oder Rückstände (Waschmittel, Schmutz) auf der Wäsche, die den Mikroorganismen als Nährsubstrat dienen können. Unter solchen Bedingungen können einige Mikroorganismen auch Naturfasern (Cellulose- bzw. Eiweißfasern) abbauen und zur Materialschädigung (z.B. Stockflecken) führen.

Ein Problem, das generell in Waschmaschinen auftreten kann, ist die Besiedelung von Waschmaschinenbauteilen mit Mikroorganismen. In einer Studie von KENNEDY et al. [1999] wurden in amerikanischen Haushalten sterile Wäscheposten in Waschmaschinen gewaschen, um die Waschmaschinen auf das Vorkommen von Mikroorganismen zu untersuchen. Dabei wurden nach dem Waschprozeß in 44% aller untersuchten Maschinen coliforme Bakterien bzw. in 7% *Escherichia coli* auf der mitgewaschenen Wäsche nachgewiesen. Bei der Interpretation der Ergebnisse ist zu berücksichtigen, daß die in amerikanischen Haushalten angewandten Waschverfahren überwiegend Kaltwaschverfahren sind. Schon in früheren Untersuchungen konnte gezeigt werden, daß die Keime der Wäsche nach dem Waschprozeß in der Waschmaschine verbleiben können [WARDEN und HIGHLY, 1974; WITT und WARDEN, 1971]. Untersuchungen zur mikrobiellen Kontamination von Gemeinschaftswaschmaschinen zeigten ebenfalls, daß die Waschmaschine ein Keimreservoir darstellt. BUFORD et al. [1977] wiesen im Innenraum von Trommelwaschmaschinen bis zu 10^4 Mikroorganismen pro cm^2 nach. Zu ähnlichen Ergebnissen führte eine Studie von LEGNANI und LEONI [1997], die in öffentlichen Waschsälen aus gewerblichen Trommelwaschmaschinen u.a. coliforme Bakterien, *Staphylococcus aureus* und *Pseudomonas aeruginosa* isolieren konnten. Da es sich bei den Trommelwaschmaschinen um offene Systeme handelt, können sich Mikroorganismen, die den Waschprozeß überleben, in der Waschmaschine vermehren und beim nächsten Waschvorgang auf die nachfolgenden Wäscheposten übertragen werden. Bei längerer Nichtbenutzung der Waschmaschine können vorhandene Mikroorganismen sog. Biofilme ausbilden, d.h. sich in „toten“ Ecken ablagern und sich dort vermehren. Inwieweit eine solche Kontamination der Waschmaschine das Risiko von Infektionen durch Wäsche beeinflusst, ist nicht bekannt.

Die (Re)Kontamination der Wäsche durch die Waschmaschine kann besonders bei der Nutzung von Gemeinschaftswaschmaschinen zu einem ernsthaften Problem werden. Zwar besitzen in Deutschland ca. 95% aller Haushalte (früheres Bundesgebiet: 94,1%, neue Länder: 96,4%) eine eigene Waschmaschine, aber in anderen europäischen Ländern ist die Nutzung von Gemeinschaftswascheinrichtungen (z.B. Waschsälen, gemeinsame Waschmaschinen in Mietshäusern, Wohnheimen etc.) noch weit verbreitet [STAT. BUNDESAMT, 2000]. In der Schweiz beispielsweise haben nur 40% der Haushalte eine eigene Waschmaschine, 60% sind auf die Nutzung von Gemeinschaftswaschmaschinen angewiesen [LEVER, 1995]. Durch die gemeinsame Nutzung der Waschmaschinen besteht die Gefahr, daß eine Übertragung von Mikroorganismen aus der Wäsche des einen Nutzers auf die Wäsche des nächsten Nutzers stattfinden kann, wenn nach dem Waschprozeß Mikroorganismen in der Waschmaschine zurückbleiben. Der jeweilige Nutzer weiß nicht, welche Wäsche bzw. mit welchem Waschverfahren der „Vorgänger“ gewaschen hat und welchen möglichen Kontaminationen er ausgesetzt ist. Im privaten Haushalt kennt die Hausfrau/der Hausmann i.a. den Gesundheits-

zustand der Familienmitglieder. Damit besteht die Möglichkeit, z.B. Wäsche von Kranken auszusortieren, in einem separaten Waschgang zu waschen und durch die Auswahl eines geeigneten Waschverfahrens eine Hygienisierung der Wäsche zu erreichen. Da man bei der Nutzung von Gemeinschaftswaschmaschinen gewissen Risiken ausgesetzt ist, wird empfohlen, zunächst einen Waschgang bei höheren Temperaturen durchzuführen, um einen Großteil der potentiell vorhandenen Mikroorganismen in der Waschmaschine zu eliminieren.

1.2.2 Einfluß des Waschprozesses auf die Hygiene der Wäsche

Der Reinigungserfolg und die Hygiene eines Waschprozesses wird durch das Zusammenwirken der vier Verfahrensparameter **Mechanik**, **Temperatur**, **Zeit** und **Chemie** maßgeblich mitbestimmt. Der Einfluß dieser Parameter auf die Wäschehygiene soll nachfolgend kurz erläutert werden.

Mechanische Einflüsse auf die Wäschehygiene

Um Schmutz bzw. Mikroorganismen von Textilien zu entfernen, müssen die Haftkräfte zwischen Textil und Verunreinigung durch physikalisch-chemische (z.B. Mechanik) Kräfte überwunden werden. Die Mechanik wird bei der Textilwäsche durch die Bewegung der Trommel erzeugt und hängt u.a. vom Flottenverhältnis, der Fallhäufigkeit und der Fallhöhe ab, welche konstruktionsbedingt bzw. durch die Wahl des Waschprogramms festgelegt werden. Durch die Mechanik können die Keime von der Wäsche zwar entfernt werden, es erfolgt jedoch keine Abtötung. Trotzdem ist der mechanische Einfluß bezüglich der Keimzahlreduzierung der Wäsche nicht zu unterschätzen. WIKSELL et al. [1973] führten Waschversuche mit künstlich kontaminierten Textilien bei einer Waschtemperatur von 24°C durch. Die Ergebnisse zeigten, daß allein durch mechanische Einflüsse unter Zusatz anionischer Tenside die Keimzahl der mit Bakterien kontaminierten Textilien um 2 Zehnerpotenzen und bei den mit Phagen kontaminierten Textilien um 3 Zehnerpotenzen pro Quadratcentimeter Textilgewebe abnahm. Parallel dazu konnte eine Zunahme der Bakterien bzw. Phagen im Waschwasser als Folge der mechanischen Abschwemmung beobachtet werden. Ein weiteres Ergebnis dieser Untersuchung war, daß durch das „Normalprogramm“ mit höherer Mechanik mehr Mikroorganismen von der Wäsche entfernt wurden als durch das „Pflegeleicht-Programm“ mit geringerer Mechanik. Die Waschversuche von FOX [1997] und BLASER et al. [1984] zeigten, daß bei einer Waschtemperatur von 15°C bzw. 22°C die Keimzahl von Frottéetüchern allein durch mechanische Effekte um 2 bis 3 Zehnerpotenzen vermindert wurde. HINGST et al. [1984] und RASCHLE [1995] schätzen aufgrund ihrer Untersuchungen die mechanische Abschwemmung von Mikroorganismen im Fein- bzw. Normalwaschprogramm auf eine halbe bis anderthalb Zehnerpotenzen ohne Berücksichtigung der Wirkung der Spül- bzw. Schleudergänge. ARNOLD [1938] berichtet von einer signifikanten mechanischen Entfernung von Mikroorganismen von der Wäsche durch den Schleuderprozeß nach dem Waschen.

Thermische Einflüsse auf die Wäschehygiene

Durch den Einsatz thermischer Energie können Mikroorganismen abgetötet werden. Der Abtötungseffekt durch die Temperatureinwirkung hängt von verschiedenen Faktoren (z.B. trockenthermische Bedingungen, feuchtthermische Bedingungen, pH-Wert, a_w -Wert) ab. Eine wichtige Kenngröße, die die Wirksamkeit der thermischen Inaktivierung von Mikroorganismen charakterisiert, ist der **D-Wert**. Der D-Wert gibt die Zeit in Minuten an, die erforderlich ist, um bei einer gegebenen Temperatur die Ausgangskeimzahl um eine Zehnerpotenz (=90%) zu reduzieren.

Für viele vegetative Bakterien liegt die kritische Grenze für die feuchtthermische Abtötung zwischen 55°C und 65°C, Bakteriensporen werden erst bei höheren Temperaturen (> 100°C) abgetötet.

Die gängigsten Waschttemperaturen bei der Textilwäsche im privaten Haushalt sind die 95°C bzw. 90°C-Wäsche (=Kochwäsche), die 60°C-Wäsche und die 40°C bzw. 30°C-Wäsche, wobei der Trend zur Niedrigtemperaturwäsche anhält. Im allgemeinen nimmt die Temperatur der Waschflotte vom Beginn bis zum Erreichen der maximalen Waschttemperatur linear zu (=Aufheizphase). An die Aufheizphase kann sich eine Temperaturhaltezeit anschließen, die in Abhängigkeit des gewählten Programms zwischen 10 und 40 min dauert (=aktive Waschzeit). Der Temperaturverlauf während der Waschphase in Waschmaschinen ist von Waschmaschine zu Waschmaschine verschieden. Häufig erreichen die Waschmaschinen die gewählte Soll-Temperatur nicht, so daß Temperaturabweichungen von 5°C bis 10°C von der eingestellten Soll-Temperatur auftreten können. Die Abtötung von Mikroorganismen kann einerseits schon während der Aufheizphase, andererseits aber vermehrt während der aktiven Waschzeit stattfinden.

Untersuchungen zur Keimzahlreduktion in Waschflotten zeigten, daß mit zunehmender Aufheizung der Waschflotte die Keimzahl stetig abnahm, wobei selbst bei Waschttemperaturen von 90°C noch Bakterien in der Waschflotte überleben konnten. Am Ende des Kochwaschganges konnten in der Waschflotte z.T. aerobe Sporenbildner, *Staphylococcus aureus* und Mikrokokken nachgewiesen werden [GRÜN, 1979].

Der Einfluß der Temperatur auf die Hygienewirkung des Waschprozesses konnte in zahlreichen Studien nachgewiesen werden. Die meisten dieser Untersuchungen zeigten, daß bei Waschttemperaturen zwischen 60°C und 95°C eine hohe Mikroorganismenabtötung (insbesondere der vegetativen Keime) erreicht wurde [WITT und WARDEN, 1971; RASCHLE, 1983 u. 1995; WIKSELL, 1973; OSSOWSKI und DUCHMANN, 1997 u. 1999].

Chemische Einflüsse auf die Wäschehygiene

Die chemischen Einflüsse auf die Hygienewirkung des Waschprozesses werden durch das Waschmittel und dessen Inhaltsstoffe bestimmt. Die Hauptbestandteile von Waschmitteln sind je nach Waschmittelart:

- Tenside
- Builder
- Bleichkomponenten
- optische Aufheller, Enzyme und sonstige Hilfsstoffe

Zur Wirksamkeit einzelner Waschmittelkomponenten auf die Hygiene des Waschprozesses liegen nur wenige Daten vor. Es gibt aber zahlreiche Untersuchungen zum positiven Einfluß des Waschmittels auf die Hygiene der Wäsche, der u.a. auf der oberflächenaktiven Wirkung der Tenside, auf dem hohen pH-Wert der Waschmittel (pH 8,5-10) und auf der Wirkung der Bleichkomponenten beruht [WARDEN und HIGHLY, 1974; WITT und WARDEN, 1971; OSSOWSKI und DUCHMANN, 1997; BLASER et al., 1984; DAVIS und AINSWORTH, 1989]. Einige Autoren berichten von Unterschieden in der Keimzahlreduktion bei der Verwendung von Vollwaschmitteln bzw. Universalwaschmitteln und Feinwaschmitteln, was auf den höheren pH-Wert und auf die vorhandenen Bleichmittel in Vollwaschmitteln zurückgeführt werden kann [RASCHLE, 1995]. HINGST et al. [1984] ermittelten für verschiedene handelsübliche Waschmittel die antimikrobielle Wirksamkeit im quantitativen Suspensionsversuch bei 40°C. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen zeigten, daß Fein- bzw. Flüssigwaschmittel praktisch keine mikrobizide Wirkung und Vollwaschmittel eine nachweisbare mikrobizide Wirkung aufwiesen. OSSOWSKI und DUCHMANN [1997] fanden, daß Vollwaschmittel bei 30°C gegenüber

hautpathogenen Hefen keine ausreichende Wirksamkeit aufwiesen, bei 60°C war die Wirkung aller untersuchten Vollwaschmittel ausreichend.

Die separate Dosierung von Bleichmitteln in Form von Hypochlorit, wie sie in den USA und in Südeuropa weit verbreitet ist, wirkte sich ebenfalls positiv auf die Keimabtötung während des Waschprozesses aus [FOX, 1997; BLASER et al., 1984].

Tenside werden in Waschmitteln überwiegend wegen ihrer oberflächenaktiven Wirkung eingesetzt. Die in Waschmitteln verwendeten Tenside gehören zu der Gruppe der anionischen und nichtionischen Tenside. Die Verbindungen aus diesen Substanzklassen weisen i.d.R. in den eingesetzten Konzentrationen geringe mikrobizide Wirksamkeit auf und tragen deshalb nur wenig zur Wäschehygiene bei. Durch ihre Oberflächenaktivität können die Tenside die Ablösung der Keime von den Textilien fördern und die Empfindlichkeit von Mikroorganismen gegenüber schädigenden Einflüssen erhöhen.

Die Builer stellen den pH-Wert der Waschflotte ein und erhöhen damit das Zeta-Potential der Waschflotte. Das Zeta-Potential ist ein Maß für die Oberflächenladung von suspendierten Partikeln. Vollwaschmittel stellen den pH-Wert auf ca. pH 9,5-10,5 ein, der pH-Wert von Feinwaschmitteln liegt zwischen pH 8,5 und pH 9,0. Der hohe pH-Wert der Waschflotte stellt für viele Mikroorganismen ein unphysiologisches Medium dar und bewirkt bei besonders empfindlichen Mikroorganismen sogar eine Abtötung, die sich positiv auf die Wäschehygiene auswirkt. Alkalische Medien können auch die thermische Abtötung von Mikroorganismen verstärken.

Die Bleichmittel sind gängige Bestandteile von Vollwaschmitteln und haben die Aufgabe, faseraffine farbige Verschmutzungen auf der Wäsche durch einen Bleichprozeß zu eliminieren. Während des Waschprozesses entfalten sie eine oxidierende Wirkung, aufgrund derer sie nicht nur Farbverschmutzungen entfernen, sondern auch Mikroorganismen angreifen können und damit einen Beitrag zur Hygiene der Wäsche leisten, der bislang nur wenig untersucht wurde. Da die Bleichmittel Gegenstand der vorliegenden Arbeit sind und nachweislich eine antimikrobielle Wirksamkeit im Waschprozeß ausüben, werden die Bleichkomponenten und ihre Wirkung in Kapitel 2 ausführlich behandelt.

Die antimikrobielle Wirksamkeit der Waschmittelkomponenten wird im Wesentlichen durch die Temperatur mit beeinflusst; höhere Temperaturen führen zu einer Verstärkung der Wirkung.

Einfluß der Zeit auf die hygienische Wirkung des Waschprozesses

Die Abtötung von Mikroorganismen unter dem Einfluß jeder schädigenden Wirkung ist ein zeitabhängiger Prozeß, d.h. je länger die Einwirkzeit, desto größer ist der Abtötungseffekt. Bei kurzen Einwirkzeiten kann der Abtötungseffekt z.B. durch Konzentrationserhöhung bestimmter Waschmittelkomponenten oder durch Temperaturerhöhung gesteigert werden.

Im vorhergehenden Abschnitt wurden die verschiedenen Einflußparameter auf die hygienisierende Wirkung des Waschprozesses aufgezeigt, wobei nur wenige Daten zur Wirksamkeit der einzelnen Faktoren zu finden sind. In der Literatur liegen zahlreiche Untersuchungen zum Einfluß eines kompletten Waschprozesses auf die Keimzahl der Wäsche vor. Allerdings sind diese wegen der unterschiedlichen Untersuchungsmethodik und Versuchsbedingungen kaum miteinander vergleichbar. Viele dieser Untersuchungen haben ihren Schwerpunkt im Bereich der gewerblichen (Krankenhaus-)Wäsche [ARNOLD, 1938; BLASER et al., 1984; WALTER und SCHILLINGER, 1975; BÖSENBERG, 1979; CHRISTIAN et al., 1983; NICHOLAS, 1970; BELLINGER, 1973].

Untersuchungen zur Hygienewirkung des Waschprozesses unter haushaltsüblichen (europäischen) Waschbedingungen wurden nur von wenigen Autoren durchgeführt. Die Versuche von OSSOWSKI und DUCHMANN [1997 u. 1999] mit schwach kontaminierten Keimträgern, die in der Waschmaschine unter haushaltsähnlichen Bedingungen bei 30°C und 60°C mit einem Vollwaschmittel durchgeführt wurden, zeigten, daß hautpathogene Dermatophyten und Hefen erst durch eine 60°C-Wäsche vollständig (mehr als 7 Zehnerpotenzen) eliminiert wurden. Außerdem wiesen sie in ihren Untersuchungen nach, daß am keimabtötenden Erfolg des Waschprozesses sowohl die Mechanik, das Waschmittel als auch die Temperatur und die Waschzeit eine entscheidende Rolle spielten. Ähnliche Ergebnisse wurden schon von SCHÖNBORN und SCHUHMANN [1973] gefunden.

HINGST et al. [1984] ermittelten in ihren Untersuchungen zur mikrobiziden Wirkung von Waschmitteln bei 30°C bzw. 40°C eine Keimreduzierung in Abhängigkeit von den untersuchten Mikroorganismen und Waschmitteln zwischen 0,5 und 8 Zehnerpotenzen während einer aktiven Waschzeit von 30 Minuten. Außerdem konnten ihre Versuche zeigen, daß eine Verlängerung der aktiven Waschzeit zu einer Verbesserung der keimzahlreduzierenden Wirkung führte.

Andere Autoren geben für die keimzahlvermindernde Wirkung von Waschverfahren Werte zwischen 54% bis zu 99,99% an [RASCHLE, 1993 u. 1985; GIBSON et al., 1999].

Nachbehandlungsverfahren

Im Anschluß an den Waschprozeß wird die Wäsche i.d.R. noch weiter behandelt. Ein Nachbehandlungsverfahren, das im eigentlichen Sinne noch während des Waschprozesses stattfindet, ist die Anwendung von Weichspülern. Bei den Weichspülern handelt es sich um Produkte, die als Hauptwirkstoffe kationische Tenside enthalten. Manche kationischen Tenside werden auch als Desinfektionswirkstoffe eingesetzt, so daß durch den Einsatz von Weichspülern z.T. eine zusätzliche Keimzahlreduktion erzielt werden kann. Über die keimzahlreduzierende Wirkung durch den Einsatz von Weichspülern sind in der Literatur wenig Daten zu finden. Eine Untersuchung von BURZIO [1991] konnte keinen signifikanten Effekt des Weichspülers auf die Keimzahl in Baumwollgeweben feststellen. Eine Zudosierung von Wasserstoffperoxid zum Weichspüler wirkte sich in dieser Studie in einer Keimzahlreduzierung der Wäsche um eine Zehnerpotenz aus.

Nach dem Waschprozeß wird die Wäsche getrocknet. Die verschiedenen Trocknungsverfahren sind die Lufttrocknung durch Aufhängen der Wäsche und die maschinelle Trocknung.

Die Lufttrocknung findet in Abhängigkeit der Jahreszeit bei relativ niedrigen Temperaturen (max. 35°C) statt. Bei diesen Temperaturen ist keine thermische Abtötung der Mikroorganismen zu erwarten, teilweise konnten SCOTT und BLOOMFIELD [1990b] nach 24 h Lufttrocknung sogar eine Keimvermehrung in Textilien nachweisen. Unter ungünstigen Trocknungsbedingungen, z.B. hohe Luftfeuchtigkeit, geringe Lufttemperatur, langsame Trocknung und geringe Belüftung kann eine Vermehrung von Mikroorganismen stattfinden, die durch ihren Stoffwechsel Geruchsstoffe bilden können und damit der Wäsche einen unangenehmen und modrigen Geruch verleihen können.

Für das maschinelle Trocknen im Wäschetrockner (=Tumbler) wird die Trocknungsluft durch Heizelemente erwärmt und kann damit der Wäsche das vorhandene Wasser entziehen. Die Lufttemperatur der Trocknungsluft während des Trocknungsprozesses liegt zwischen 50°C und 90°C und hängt von vielen Faktoren ab. Durch die hohe Lufttemperatur kann eine thermische Abtötung von Mikroorganismen stattfinden. Der erzielbare Abtötungseffekt durch die Tumbler Trocknung hängt von der Lufttemperatur im Trockner und von der Trocknungsdauer ab. Der Abtötungseffekt durch die Tumbler Trocknung wurde in zahlreichen Studien untersucht,

wegen der unterschiedlichen Versuchsparameter sind diese Studien jedoch kaum miteinander zu vergleichen. In den Untersuchungen konnte eine Abtötung vegetativer Mikroorganismen zwischen einer und acht Zehnerpotenzen durch den Tumblerprozeß nachgewiesen werden [WITT und WARDEN, 1971; WIKSELL et al., 1973; WALTER und SCHILLINGER, 1975]. BLASER et al. [1984] fanden Unterschiede in der Abtötungswirkung durch den Wäschetrockner bei gramnegativen und grampositiven Bakterien. SCOTT und BLOOMFIELD [1990b] empfehlen für den Trocknungsprozeß eine Mindestlufttemperatur von 80°C für 2 h.

Das Bügeln gehört ebenfalls zur Wäschepflege und dient dazu, die Wäsche mit Hilfe von Bügeleisen, Bügelmaschine oder Bügelpresse unter Temperatur- und Druckeinwirkung zu glätten. Die Intensität des Bügelprozesses wird durch die Temperatur, die Feuchte, den Druck und die Zeit beeinflusst. Die Temperatur des Bügelgerätes ist manuell einstellbar und die Wahl der Temperatur hängt von der Temperaturempfindlichkeit des zu bügelnden Textils ab. Die Sohlentemperatur variiert zwischen 70°C und 210°C, der Wärmeübergang ins Bügelgut hängt von verschiedenen Faktoren ab, weshalb die Temperatur im Textil deutlich unter der Temperatur des Bügelgerätes liegt [HLOCH et al., 1989]. Durch die Temperatureinwirkung der Bügeleisensole auf das Textil können im Textil vorhandene Mikroorganismen abgetötet werden. Der Abtötungseffekt durch das Bügeln wird von der Bügeltemperatur, der Restfeuchte des Bügelgutes und von der Kontaktzeit beeinflusst. In Untersuchungen von ARNOLD [1938] und BLASER et al. [1984] wurden feuchte, künstlich kontaminierte Wäschestücke in industriellen Bügelpressen bearbeitet und dabei geglättet und getrocknet. Durch diesen Prozeß konnten in den Textilien sowohl gramnegative als auch grampositive Bakterien um mehr als acht Zehnerpotenzen abgetötet werden. In beiden Untersuchungen waren in den Textilien nach dem Bügelprozeß keine Mikroorganismen mehr nachweisbar. Ob diese Ergebnisse auch mit haushaltsüblichen Bügelverfahren zu erzielen sind, wurde bisher noch nicht untersucht. Im Haushalt ist die Kontaktzeit und die Berührfläche geringer, weshalb hier schlechtere Ergebnisse zu erwarten sind. RASCHLE [1985] berichtet lediglich von positiven Effekten des Bügelns auf die Keimzahlen in Küchentüchern, quantifiziert diese aber nicht.

1.3 Zielsetzung

Die Analyse der verschiedenen Faktoren, die bei der Wäschehygiene eine Rolle spielen, hat gezeigt, daß es mehrere Ansatzmöglichkeiten gibt, die Hygiene der Wäsche zu beeinflussen. Da beim Waschprozeß die Faktoren Mechanik und Zeit meist durch das Waschprogramm vorgegeben sind oder sogar begrenzt sind und der Faktor Temperatur aus energetischen und bei einigen Textilfasern aus textiltechnischen Gründen so niedrig wie möglich sein soll, muß die fehlende Temperaturwirkung durch den Einsatz von Chemie kompensiert werden. Bleichmittel bieten als gängige Waschmittelbestandteile aufgrund ihrer oxidierenden Wirkung ein mikrobizides Potential, das bisher nur unzureichend untersucht wurde.

Ein Ziel dieser Arbeit war es, zu untersuchen, wie sich ausgewählte Mikroorganismen in Gegenwart von Bleichmitteln und in Abhängigkeit von der Temperatur verhalten und welchen Einfluß Bleichmittelaktivatoren auf die keimabtötende Wirkung haben. Daneben sollte der Einfluß verschiedener Parameter auf die Wirksamkeit der Bleichsysteme verfolgt werden. Von besonderem Interesse waren vor allem die Konzentration der Bleichsysteme, das Verhältnis von Bleichmittel zu Aktivator, die Temperaturabhängigkeit der Wirkung, der Einfluß des pH-Wertes und die Wirkung von Schmutzrückständen. Dabei sollte die Untersuchung der Einflußfaktoren intensiv anhand eines wegen seiner Resistenz bekannten Testkeimes (*Entc. faecium*) ermittelt und in weiterführenden Untersuchungen die optimalen Wirkkonzentrationen an repräsentativen, für die Wäschehygiene interessanten Testmikroorganismen bestimmt werden.

Ausgehend von den Ergebnissen der Grundlagenuntersuchungen sollte ein weiteres Ziel dieser Arbeit sein, zu prüfen, ob sich die gewonnenen Erkenntnisse auch unter Praxisbedingungen bestätigen lassen.

Der Bleicheffekt von Bleichmitteln im Waschprozeß wird von mehreren Parametern (u.a. pH-Wert, Konzentration, Temperatur) bestimmt, wobei zum Einfluß des pH-Wertes nur wenige Daten vorliegen. Ein Nebenziel dieser Arbeit war zu ermitteln, ob die Einflußparameter für die mikrobizide Wirkung der Bleichmittelsysteme dieselben sind, die auch bei der Bleichwirkung eine Rolle spielen.

2 Bleichmittel und Bleichsysteme in Waschmitteln

2.1 Definitionen

Unter „**Bleichen**“ versteht man i.d.R. das Entfärben von Materialien durch physikalische oder chemische Prozesse, was meist mit einer Erhöhung des Weißgrades des gebleichten Gutes einhergeht. Prinzipiell stehen für die chemische Bleiche zwei verschiedene Möglichkeiten zur Verfügung:

- **oxidative Bleiche**
- **reduktive Bleiche**

Bei beiden Bleichverfahren werden farbige Verbindungen durch oxidierende oder reduzierende Chemikalien so verändert, daß sie ihre Farbe verlieren und damit gebleicht werden. Ein Vorteil der oxidativen Bleiche ist, daß das Bleichergebnis dauerhaft bestehen bleibt. Im Gegensatz dazu kann bei der reduktiven Bleiche das Bleichergebnis reversibel sein, da hier reduzierte Verbindungen entstehen, die durch Reaktion mit Luftsauerstoff wieder oxidiert werden können. Aus diesem Grund hat die reduktive Bleiche bei der Textilwäsche bislang keine Bedeutung erlangt.

„**Bleichmittel**“ sind chemische Verbindungen, die einen Bleichprozeß bewirken.

„**Bleichmittelaktivatoren**“ sind chemische Verbindungen, welche die Bleichmittel aktivieren, indem sie in einer Reaktion mit diesen bleichaktive Verbindungen bilden, deren bleichende Wirkung deutlich über der Wirkung des eingesetzten Bleichmittels liegt.

„**Bleichmittelkatalysatoren**“ sind chemische Verbindungen, die bei der Bleichreaktion als Katalysator wirken und die Freisetzung von Aktivsauerstoff aus Bleichmitteln katalytisch beschleunigen.

„**Bleichmittelstabilisatoren**“ sind Waschmittelzusätze, welche die katalytische Zersetzung der Bleichmittel verhindern, indem sie z.B. Schwermetalle komplex binden.

„**Bleichsysteme**“ bzw. „**Bleichmittelsysteme**“ bestehen aus mehreren chemischen Komponenten, die in situ bleichwirksame Verbindungen freisetzen. Das klassische Bleichsystem moderner Wasch- und Reinigungsmittel setzt sich aus drei Komponenten zusammen: Bleichmittel + Bleichmittelaktivator + Bleichmittelstabilisator.

„**Aktivsauerstoff**“ ist die Bezeichnung für reaktive Sauerstoffspezies, deren chemische Struktur in einigen Fällen nicht eindeutig geklärt ist.

2.2 Funktion der Bleichmittel bei der Textilwäsche

Oxidative Bleichmittel bzw. Bleichmittelsysteme sind ein wichtiger Bestandteil vieler Wasch- und Reinigungsmittelrezepturen (z.B. pulverförmige Universalwaschmittel, maschinelle Geschirrspülmittel). Im Reinigungsprozeß haben die Bleichmittel die Aufgabe, farbige Verschmutzungen dauerhaft zu eliminieren, die durch andere Rezepturbestandteile nicht entfernt werden können. Die meisten farbigen Verschmutzungen (z.B. Obst-, Rotwein-, Teeflecken) bestehen aus organischen Verbindungen mit chromophoren Gruppen, die in ihrer Molekülstruktur ein ausgeprägtes delokalisiertes Doppelbindungssystem enthalten. Diese

Struktur führt dazu, daß bestimmte Wellenlängen aus dem Licht absorbiert werden und daraus die Farbigkeit der Verbindung resultiert. Während des Bleichvorganges werden die chromophoren Gruppen chemisch so verändert (=oxidiert), daß sie ihre Fähigkeit, bestimmte Wellenlängen des Lichtes zu absorbieren, verlieren und farblos erscheinen. Daneben entstehen durch den oxidativen Abbau dieser Verbindungen kleinere Moleküle, die sich besser auswaschen lassen. Die prinzipielle Wirkungsweise des oxidativen Bleichvorgangs ist in Abb. 2-1 dargestellt. Im ersten Teilschritt des Bleichprozesses wird durch Hydroxylierung das delokalisierte Doppelbindungssystem unterbrochen. Durch weitere Oxidation entstehen aus den langkettigen Hydroxyverbindungen kurzkettinge wasserlösliche Fragmente.

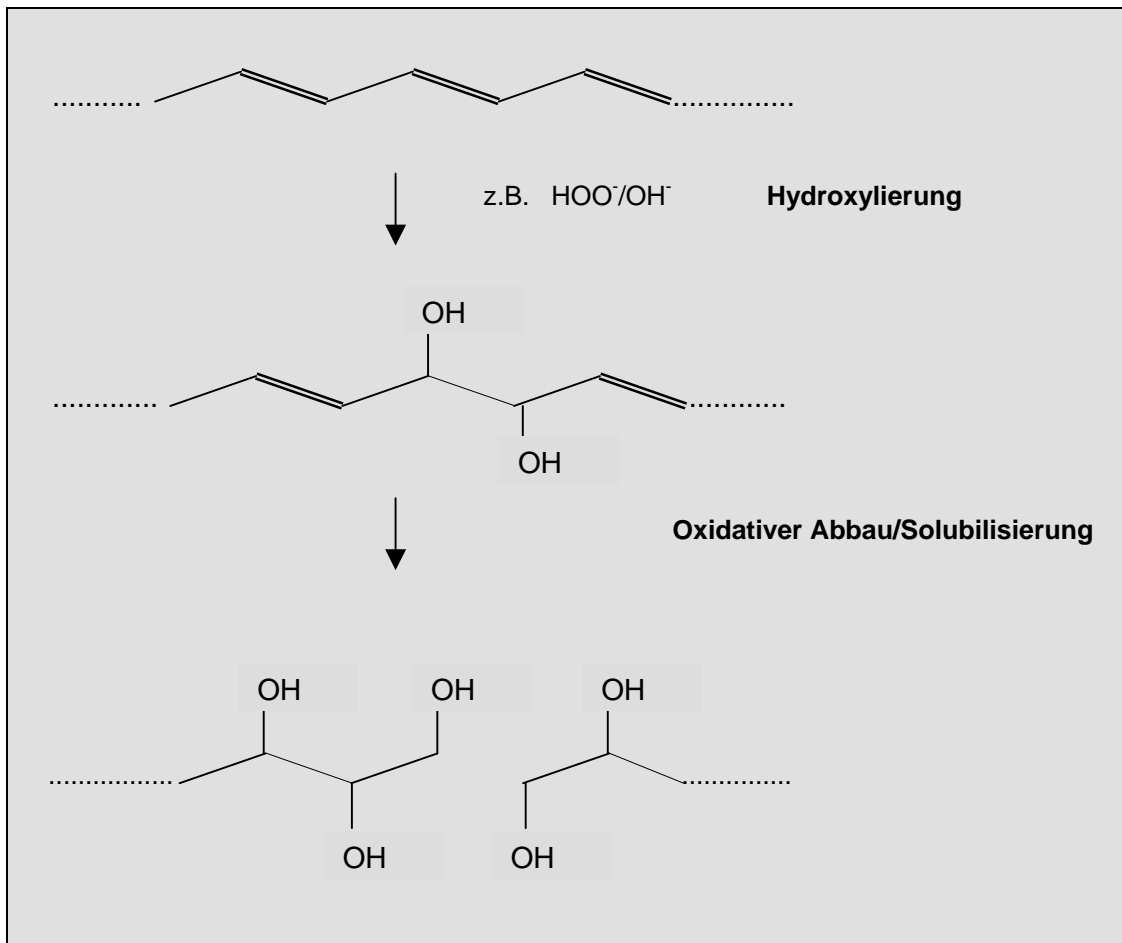


Abb. 2-1: Mögliche chemische Reaktionen beim oxidativen Bleichvorgang [nach ENGEL, 1988]

Durch die oxidative Wirkung der Bleichmittel können nicht nur farbige organische Verbindungen oxidiert werden, sondern auch andere organische Verbindungen, z.B. unerwünschte Geruchsstoffe, die dadurch ebenfalls beseitigt werden können. Ein weiterer positiver Nebeneffekt ist die Reaktion der Bleichmittel mit Mikroorganismen und deren mögliche Abtötung.

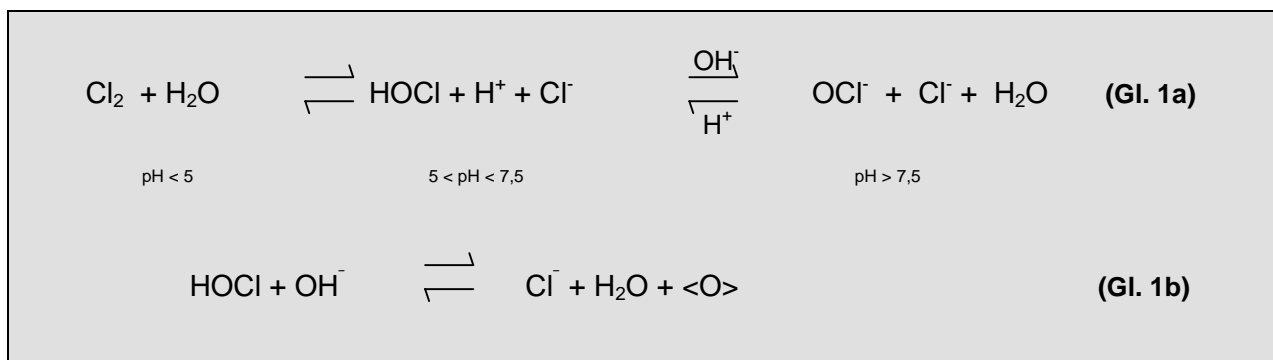
2.3 Oxidative Bleichmittel und Bleichmittelsysteme und ihre Wirkungsweise

In Abhängigkeit von den global unterschiedlichen Waschgewohnheiten haben zwei oxidative Bleichverfahren bei der Textilwäsche im privaten Haushalt Bedeutung erlangt: die Aktivchlorbleiche mit anorganischen Aktivchlorverbindungen wie Natriumhypochlorit und die Aktivsauerstoffbleiche mit Aktivsauerstoffverbindungen.

2.3.1 Natriumhypochlorit

Die Hypochlorite zählen zu den wichtigsten anorganischen Aktivchlorverbindungen, deren Bedeutung als Bleich- und Desinfektionsmittel bereits zu Beginn des 18. Jh. entdeckt wurde. Für die Textilwäsche hat das **Natriumhypochlorit (NaOCl)** als Bleichmittel Verwendung gefunden.

Natriumhypochlorit bildet in Wasser hypochlorige Säure, die aufgrund ihres hohen Oxidationspotentials eine Bleichreaktion hervorrufen kann. Die bleichaktive Hypochloritlösung besteht aus Hypochloritanionen (ClO^-), Chlor (Cl_2) und hypochloriger Säure (HOCl), die gemäß (Gl. 1a) in Abhängigkeit vom pH-Wert in unterschiedlichen Konzentrationen in der Lösung vorliegen:



Das eigentliche bleichwirksame Agens in der Hypochloritlösung ist die hypochlorige Säure, die aufgrund ihres hohen Oxidationspotentials stark oxidierend bzw. chlorierend auf organische Verbindungen wirkt. Gemäß Gleichung (Gl. 1b) zerfällt die hypochlorige Säure unter Abspaltung von Aktivsauerstoff, der ebenfalls oxidierend wirkt. Der maximale Anteil an hypochloriger Säure liegt in der Hypochloritlösung im pH-Bereich zwischen pH 5 und pH 7,5 vor, so daß die Bleichreaktion in diesem pH-Bereich am stärksten verläuft, bei höheren pH-Werten verläuft die Bleichwirkung von Hypochlorit aufgrund der geringeren Konzentration der hypochlorigen Säure sehr viel langsamer [COONS et al., 1987].

Die Stabilität der Hypochloritlösung wird u.a. durch Licht, Temperatur, Schwermetallionen und den pH-Wert stark beeinflusst. [MROZEK, 1996].

Die Bleichwirkung von Natriumhypochloritlösungen setzt bereits bei Raumtemperatur ein, weshalb die Hypochloritbleiche traditionell in sog. „Kaltwaschländern“ angewandt wird. In diesen Ländern wird überwiegend bei niedrigen Temperaturen, mit geringer Waschmitteldosierung und über eine kurze Dauer gewaschen, wie es z.B. in Nordamerika (max. Waschttemperatur ca. 55°C), Fernost (max. Waschttemperatur zwischen 25°C und 40°C) und einigen Mittelmeerländern üblich ist. Wegen der mangelnden Kompatibilität der Hypochloritbleiche mit anderen Waschmittelbestandteilen muß sie separat dosiert werden. Dies bedeutet einen zusätzlichen Arbeitsaufwand und kann zu einer latenten Gefahr der Über-

dosierung führen, die sich in Farb- und Faserschädigungen und auch Vergilbungen an den Textilien äußern kann. Ein weiterer Nachteil der Verwendung von Hypochlorit ist die mögliche Bildung organischer Halogenverbindungen (AOX) und deren Problematik im Abwasser. Trotz der guten Wirksamkeit bei niedrigen Temperaturen ist man auch in den Ländern mit traditioneller Hypochloritbleiche bemüht, aufgrund der o.g. Nachteile andere Bleichmittel einzusetzen [KUZEL und LIESER, 1990].

2.3.2 Aktivsauerstoffverbindungen

Aktivsauerstoffverbindungen sind sauerstoffabspaltende Oxidationsmittel, die eine Bleichwirkung hervorrufen können. Das charakteristische Kennzeichen vieler dieser Verbindungen ist, daß sie im Molekül eine Peroxogruppe enthalten, weshalb sie auch als Per(oxo)verbindungen bezeichnet werden. Die Sauerstoffatome der Pergruppe verhalten sich aufgrund ihrer Oxidationszahl von -1 sehr reaktiv und streben durch Oxidationsreaktionen einen stabileren Zustand an. Die chemische Struktur der aus diesen Perverbindungen abgespaltenen reaktiven Species ist in vielen Fällen bis heute noch nicht endgültig geklärt, weshalb für den abgespaltenen Sauerstoff die Bezeichnung **Aktivsauerstoff <O>** eingeführt wurde.

2.3.2.1 Wasserstoffperoxid und anorganische Peroxoverbindungen

Unter europäischen Waschbedingungen ist die Bleiche auf Basis von Wasserstoffperoxid die dominierende Bleiche. Wegen der geringen Stabilität wird Wasserstoffperoxid in Waschmitteln nicht direkt eingesetzt, sondern in Form von anorganischen Persalzen oder in Form von Anlagerungsprodukten des Wasserstoffperoxids an Trägermaterialien.

Aus Gründen der Sicherheit, der guten Lagerstabilität und der Farb- und Gewebeschonung haben **Peroxoborate** und **Percarbonat** als Bleichmittel in Waschmitteln kommerziell die größte Bedeutung erlangt.

Seit einiger Zeit gibt es auf dem Waschmittelmarkt sog. *milde Bleichen* in flüssiger Formulierung. Dabei handelt es sich um Produkte, die Wasserstoffperoxidlösungen als bleichwirksame Komponente enthalten. Die Stabilisierung der Wasserstoffperoxidlösung wird durch den sauren pH-Wert (pH ca. 3,5) und durch Zusatz von Komplexbildnern erreicht. Es gibt sogar erste Entwicklungen zum Einsatz von Wasserstoffperoxid in flüssigen Vollwaschmitteln [MILNE, 1998; DORFER und WALZER, 1998].

2.3.2.1.1 Natriumperoxoborate (Natriumperborate)

Physikalische Eigenschaften

Natriumperborat-Monohydrat und **Natriumperborat-Tetrahydrat** sind anorganische Peroxoverbindungen, die sich durch die unterschiedliche Anzahl von gebundenen Wassermolekülen im Kristallwasser unterscheiden. Die Bezeichnung Mono- bzw. Tetrahydrat gibt die Anzahl der Wassermoleküle im Kristallwasser gemäß der historischen Summenformeln (Tab. 2-1) der Verbindungen wieder. Untersuchungen der Verbindungen durch Röntgenstrukturanalysen haben gezeigt, daß beide Verbindungen in kristalliner Form als dimeres Peroxodiborat-Ion vorliegen. Daraus ergeben sich die heute üblicherweise verwendeten Summenformeln (Tab. 2-1) [HELLER und PAWEL, 1986]. Perborat-Monohydrat und Perborat-Tetrahydrat unterscheiden sich u.a. in ihrem Aktivsauerstoffgehalt, ihrer Löslichkeit und ihrer

Schüttdichte. Die Eigenschaften von Natriumperborat-Monohydrat und Natriumperborat-Tetrahydrat sind in Tab. 2-1 zusammen mit den Strukturformeln vergleichend dargestellt.

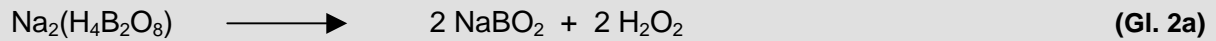
	Natriumperborat-Tetrahydrat	Natriumperborat-Monohydrat
Summenformel (historisch)	$\text{NaBO}_3 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$	$\text{NaBO}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$
Summenformel (heutige Schreibweise)	$\text{Na}_2\text{H}_4\text{B}_2\text{O}_8 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$	$\text{Na}_2\text{H}_4\text{B}_2\text{O}_8$
Molmasse	153,8 g/mol	99,8 g/mol
Strukturformel	$2 \text{Na} (\text{H}_2\text{O})_6^+ \left[\begin{array}{c} \text{HO} \diagdown \quad \text{O-O} \quad \diagup \text{OH} \\ \quad \quad \text{B} \quad \quad \quad \text{B} \\ \text{HO} \diagup \quad \quad \quad \diagdown \text{OH} \\ \quad \quad \quad \text{O-O} \quad \quad \quad \end{array} \right]^{2-}$	$2 \text{Na}^+ \left[\begin{array}{c} \text{HO} \diagdown \quad \text{O-O} \quad \diagup \text{OH} \\ \quad \quad \text{B} \quad \quad \quad \text{B} \\ \text{HO} \diagup \quad \quad \quad \diagdown \text{OH} \\ \quad \quad \quad \text{O-O} \quad \quad \quad \end{array} \right]^{2-}$
Aktivsauerstoff	ca. 10%	ca. 16%
Löslichkeit bei 20°C 30°C	23 g/l 37 g/l	15 g/l 24 g/l
Lösegeschwindigkeit (2g/l, 15°C)	6-8 min	< 1 min
pH-Wert (1%ige Lösung)	ca. 10,4	ca. 10,4
Schüttdichte	0,65-0,85 kg/l	0,5-0,65 kg/l
Lagerstabilität	gut	gut
Thermische Stabilität	mittel	gut
Ökologie	keine Eliminierung in der Kläranlage → Eintrag von Bor in Gewässer	
% Anteil in Waschmitteln	bis zu 30%	bis zu 15%

Tab. 2-1: Strukturformeln und Eigenschaften von Natriumperboraten
[REINHARDT, 1994a; BERTSCH-FRANK, 1998]

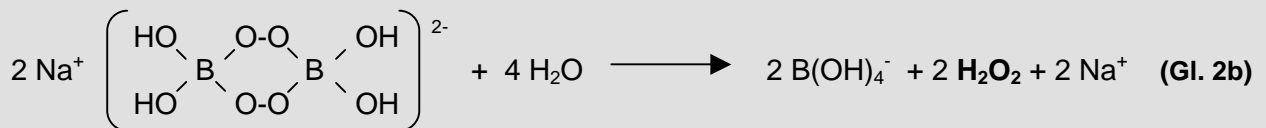
Beide Perborate werden wegen ihrer guten Handhabbarkeit, Stabilität und Kompatibilität mit anderen Bestandteilen und der geringen Faser- und Farbschädigung in Waschmittel-formulierungen eingesetzt. Natriumperborat-Monohydrat wird aufgrund des geringeren Schüttgewichtes, des höheren Aktivsauerstoffgehaltes, der höheren Lösegeschwindigkeit und der besseren Temperaturstabilität bevorzugt in Kompaktwaschmitteln verwendet und verdrängt das Natriumperborat-Tetrahydrat zunehmend aus den Waschmittelrezepturen.

Chemische Eigenschaften

Natriumperborate reagieren in wäßriger Lösung alkalisch und hydrolysieren in Natriummetaborat und Wasserstoffperoxid, das bleichend wirkt. Vereinfacht läßt sich die Reaktion in folgender Gleichung (Gl. 2a) darstellen:



Tatsächlich liegt das Natriummetaborat in wäßriger Lösung in Form des Natriumtetrahydroxyborates vor, so daß die eigentliche Reaktionsgleichung folgendermaßen lauten muß [BERTSCH-FRANK, 1998]:



2.3.2.1.2 Natriumcarbonat-Peroxohydrat (Natriumpercarbonat)

Physikalische und chemische Eigenschaften

Natriumpercarbonat ist ein Anlagerungsprodukt von Wasserstoffperoxid an Natriumcarbonat und damit im eigentlichen Sinne keine echte Peroxoverbindung. Natriumpercarbonat hydrolysiert in wäßriger Lösung unter Bildung von Wasserstoffperoxid. Die physikalischen Eigenschaften von Natriumpercarbonat sind in Tab. 2-2 zusammengefaßt.

	Natriumpercarbonat
Summenformel	$\text{Na}_2\text{CO}_3 \cdot 1,5 \text{H}_2\text{O}_2$
Aktivsauerstoff	ca. 12-16%
Löslichkeit bei 10°C	131 g/l
20°C	154 g/l
30°C	180 g/l
Lösegeschwindigkeit (gerechnet auf 95%)	150 s
pH-Wert (1%ige Lösung)	ca. 10,5
Schüttdichte	0,8-1,2 kg/l
Lagerstabilität	weniger gut
Thermische Stabilität	weniger gut
Ökologie	völlig unbedenklich

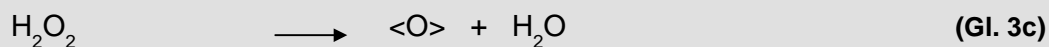
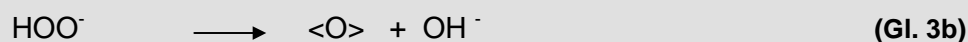
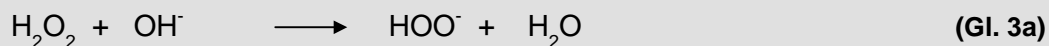
Tab. 2-2: Eigenschaften von Natriumpercarbonat [REINHARDT, 1994a; BERTSCH-FRANK, 1998]

Das Natriumpercarbonat bietet im Vergleich zu den Natriumperboraten (vgl. Tab. 2-1) Vorteile durch den z.T. höheren Aktivsauerstoffgehalt, die gute Löslichkeit und die ökologische Unbedenklichkeit. Wegen seiner bislang schlechten Lagerstabilität wird es dennoch nicht in Waschmittelformulierungen eingesetzt. Zahlreiche Forschungsaktivitäten zur Verbesserung der Lagerstabilität von Percarbonat bieten Lösungsansätze zur Stabilisierung des Percarbonates (z.B. durch coating), welche nach WHALLEY [1998] in Zukunft zu einem vermehrten Einsatz von Natriumpercarbonat in Waschmitteln führen werden. Bislang wird Natriumpercarbonat überwiegend als Bleichmittel in Fleckensalzen eingesetzt.

Eine weitere Möglichkeit Wasserstoffperoxid in Waschlösungen zu erzeugen, ist der Einsatz von Peroxidasen, z.B. Glucoseoxidase, die aus dem Substrat Glucose Wasserstoffperoxid bilden können. Solche Bleichsysteme befinden sich noch im Entwicklungsstadium bzw. sind teilweise schon patentiert [MILNE, 1998].

2.3.2.1.3 Mechanismus der Wasserstoffperoxidbleiche

Der Mechanismus der Wasserstoffperoxidbleiche verläuft, unabhängig von der Verbindung aus der Wasserstoffperoxid freigesetzt wird, nach folgender Reaktion:



Aus Wasserstoffperoxid und einem Hydroxylanion entsteht primär das Perhydroxylanion (HOO^-). Das Perhydroxylanion zerfällt in aktiven Sauerstoff und ein Hydroxylanion, so daß in der Summe aus einem Molekül Wasserstoffperoxid Aktivsauerstoff und ein Molekül Wasser entstehen.

Es ist bis heute noch nicht gelungen, die chemische Struktur des aus Wasserstoffperoxid gebildeten Aktivsauerstoffs bzw. den Reaktionsmechanismus der Aktivsauerstoffbildung und damit den der Bleichreaktion letztendlich aufzuklären. Eine Reihe energiereicher Species, die mit Wasserstoffperoxid über Gleichgewichte verknüpft sind oder aus Wasserstoffperoxid entstehen, werden als Träger der Bleichreaktion diskutiert. Verschiedene Untersuchungen konnten zeigen, daß weder Singulett-Sauerstoff, noch Sauerstoff in statu nascendi, noch das Perhydroxylanion für die Bleichwirkung von Wasserstoffperoxid verantwortlich sind [DANNACHER u. SCHLENKER, 1990; KOBERSTEIN u. KURZKE, 1987; THOMPSON et al., 1993]. Neuere Untersuchungen diskutieren die Beteiligung des „Superoxid“-Radikals ($\text{O}_2^{\cdot-}$) an der Bleichreaktion. Nach DANNACHER und SCHLENKER [1996] besteht bislang die Meinung, daß Aktivsauerstoff gebildet wird als Folge einer Kette von verschiedenen Radikalreaktionen bei der Zersetzung von Wasserstoffperoxid. THOMPSON et al. [1993] und MILNE [1998] diskutieren das Perhydroxylanion als bleichaktives Species, das über einen bekannten ionischen Mechanismus durch nucleophilen Angriff an elektrophilen Bindungen (z.B. π -Bindungen) bleichend wirkt.

Die Bleichwirkung von Wasserstoffperoxid ist stark temperatur- und pH-abhängig. Unterhalb von 60°C ist die Bleichwirkung von Wasserstoffperoxid sehr gering und erreicht erst bei Temperaturen über 80°C optimale Wirksamkeit. Die starke Temperaturabhängigkeit der Bleichwirkung hat ihre Ursache in der hohen Aktivierungsenergie von Wasserstoffperoxid mit 217,7 kJ/mol [REINHARDT et al., 1989].

Gemäß Gleichung (3a) ist die Bildung des Perhydroxylanions eine Reaktion 1. Ordnung bezüglich der Wasserstoffperoxidkonzentration und wird durch einen hohen pH-Wert gefördert. Untersuchungen zum Einfluß des pH-Wertes auf die Bleichwirkung von Wasserstoffperoxid von DANNACHER und SCHLENKER [1990] zeigen ein Maximum der Bleichwirkung zwischen pH 10 und pH 11. Bei höheren pH-Werten nimmt die Bleichwirkung wieder ab, was dafür spricht, daß die Konzentration des Perhydroxylanions nicht allein ausschlaggebend für die Bleichwirkung ist. Nach BÖHME [1991] steigt das theoretische Oxidationspotential von Wasserstoffperoxid je geringer der pH-Wert der Lösungen. Damit kann das Oxidationspotential ebenfalls nicht allein verantwortlich für die Bleichreaktion sein.

Die Stabilität von Wasserstoffperoxid wird von der Temperatur und der Anwesenheit anderer Verbindungen beeinflusst. Die Anwesenheit von Metallionen fördert die katalytische Zersetzung des Wasserstoffperoxids, indem das Wasserstoffperoxid über radikalische Zwischenstufen die Metallionen oxidiert. Diese Reaktion ist als Fenton-Reaktion in der Literatur beschrieben. Die dabei entstehenden Radikale sind hoch reaktiv und können Textilfasern angreifen und zu Faserschädigungen führen. Um diese Nebenreaktionen zu verhindern, werden in Waschmitteln sog. Bleichmittelstabilisatoren eingesetzt. Dabei handelt es sich um Komplexbildner (z.B. ATPS [Aminotrimethylenphosphonsäure], EDTA [Ethyldiamintetraacetat]), die Metallionen in der Waschflotte komplex binden und damit zur Stabilisierung der Bleichmittel beitragen [KELKENBERG und LÜDERS, 1991].

In Abwesenheit oxidierbarer Substanzen zersetzt sich Wasserstoffperoxid insbesondere bei höheren Temperaturen und hoher Alkalität autokatalytisch, wobei der Aktivsauerstoff sich zu molekularem Sauerstoff umsetzt. Spuren von Katalase führen zu einer enzymatischen Zersetzung und damit zu Verlusten von Wasserstoffperoxid. Die Metallionen und die Katalase können aus dem Schmutz der Wäsche stammen.

2.3.2.2 Aktivierte Bleiche, Bleichmittelaktivatoren und Bleichmittelkatalysatoren

Die reine Wasserstoffperoxidbleiche zeigt aufgrund der hohen Aktivierungsenergie von Wasserstoffperoxid bei Temperaturen unterhalb von 80°C eine geringe Bleichwirkung, weshalb für die Bleiche bei niedrigen Temperaturen sog. Bleichmittelaktivatoren entwickelt wurden, um auch unter diesen Bedingungen (Waschtemperaturen < 60°C) ein optimales Bleichergebnis zu erzielen. Die meisten in der Literatur bekannten Bleichmittelaktivatoren sind organische Verbindungen, v.a. reaktive Ester, Anhydride oder Imide. Gängige Bleichaktivatoren bestehen aus einer Persäurevorläufergruppe aus der eine Persäure gebildet wird und einer Abgangsgruppe, deren chemische Struktur die Löslichkeit und die Geschwindigkeit der Persäurebildung mit beeinflusst. Diese Bleichaktivatoren reagieren mit Wasserstoffperoxid unter Bildung organischer Persäuren. Die entstehenden organischen Percarbonsäuren bzw. Imidopersäuren bewirken aufgrund ihres höheren Oxidationspotentials im Vergleich zu Wasserstoffperoxid auch bei niedrigeren Temperaturen einen Bleicheffekt [REINHARDT, 1994a].

Aus der Vielzahl der in der Patentliteratur beschriebenen Bleichmittelaktivatoren (mehr als 700 bis 1998) haben bisher nur wenige Verbindungen kommerzielle Bedeutung erlangt. Die heute wichtigsten Bleichmittelaktivatoren, die in Waschmitteln eingesetzt werden, sind **Tetraacetylethylendiamin (TAED)** und **Natrium-Nonanoyloxybenzolsulfonat (NOBS)**.

Andere Bleichmittelaktivatoren wie *Tetraacetylglykoluril (TAGU)*, *Pentaacetylglucose (PAG)*, *Diacetyldioxohexahydrotriazin (DADHT)*, *BOBS (Benzoyloxybenzolsulfonat)*, *Nitrilquats*, *Acetylcaprolactam (ACL)*, *Undecanoxoylbenzolsulfonat (UDOBS)* usw. konnten sich aus ökonomischen bzw. ökologischen Gründen nicht am Markt behaupten [PORSCH et al., 1990; HAUTHAL et al., 1990; GRIME und CLAUSS, 1990; SMIDRKAL und SIMUNEK, 1985; REINHARDT und LÖFFLER, 1997; JANICOT et al., 1996; MILNE, 1998; FÖLLNER et al., 2000].

2.3.2.2.1 Allgemeiner Mechanismus der aktivierten Bleiche

Der Mechanismus der aktivierten Bleiche verläuft bei den meisten Aktivatoren nach dem gleichen Reaktionsschema, das in Abb. 2-2 dargestellt ist. Die dicken Reaktionspfeile kennzeichnen den erwünschten Hauptreaktionsweg, die dünnen Pfeile stellen mögliche Nebenreaktionen dar.

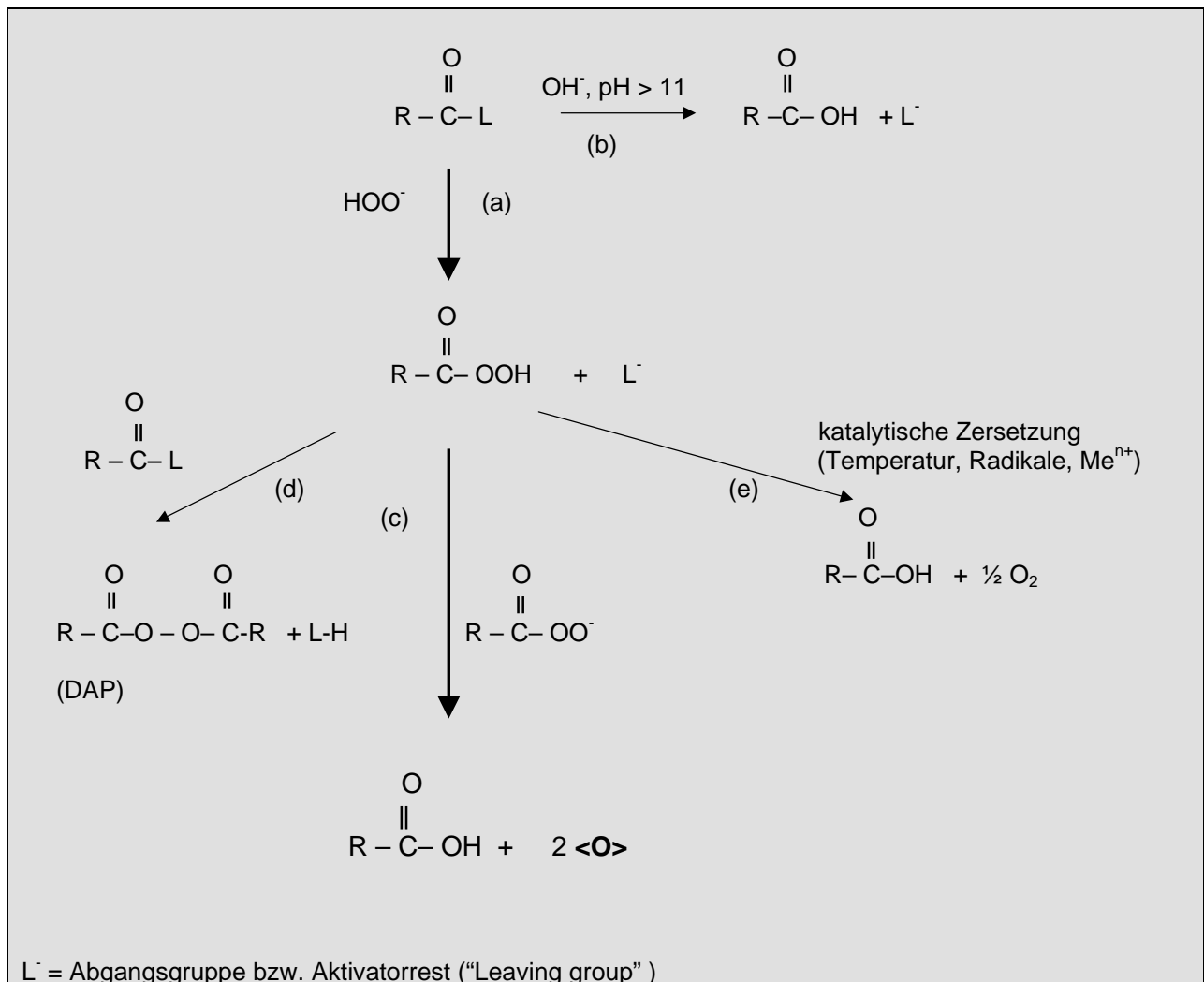


Abb. 2-2: Mechanismus der aktivierten Bleiche [verändert nach MILNE, 1998]

Im ersten Schritt (a) spaltet das aus Wasserstoffperoxid gebildete Perhydroxylanion in einer nucleophilen Substitutionsreaktion die Ester- oder Amidbindung des Aktivators und oxidiert die freiwerdende organische Säure zu einer Persäure. Dieser Schritt ist bei pH-Werten zwischen pH 10 und 11 nahezu temperaturunabhängig und innerhalb von wenigen Minuten abgeschlossen. Unterhalb von pH 8 verläuft die Reaktion sehr viel langsamer, bei höheren pH-Werten tritt als unerwünschte Nebenreaktion die Hydrolyse des Aktivators unter Bildung einer organischen Säure auf (Reaktionsweg (b)) [HOFMANN et al., 1992].

Die gebildete Persäure kann in unterschiedlichen Reaktionswegen weiter reagieren (Reaktionsweg (c)-(e)). Der für die Bleichwirkung wichtigste Reaktionsweg (c) ist die Bildung von Aktivsauerstoff aus der organischen Persäure. Der Mechanismus dieser Aktivsauerstoffbildung aus Persäuren ist bislang noch nicht aufgeklärt, u.a. wird die Entstehung von Singulett-Sauerstoff als bleichaktives Species diskutiert. Empirische Untersuchungen zur Bleichwirkung von Persäuren haben gezeigt, daß ein optimales Bleichresultat in der Nähe des pK_s -Wertes der Persäure auftritt. Diese Beobachtung spricht für die Theorie, daß der Aktivsauerstoff in Form von Singulett-Sauerstoff an der Bleichwirkung der Persäuren beteiligt ist. Singulett-Sauerstoff bildet sich aus der Reaktion der Persäure mit ihrer korrespondierenden Base, und die maximale Ausbeute dieser Reaktion wird erhalten, wenn der pH-Wert der Lösung dem pK_s -Wert der Persäure entspricht [HOFMANN et al., 1992; PORSCH et al., 1990]. Gegen Singulett-Sauerstoff als bleichwirksames Agens sprechen nach REINHARDT [1994a] seine sehr kurze Lebensdauer und die Beobachtung, daß aus Endoperoxiden freigesetzter Singulett-Sauerstoff nur wenig bleichaktiv ist. Nach MILNE [1998] werden als Alternative zur Singulett-Sauerstofftheorie elektrophile oder nucleophile Reaktionen der Persäure bzw. des Persäureanions mit den chromophoren Gruppen diskutiert. Es wird vermutet, daß in Abhängigkeit vom pH-Wert und dem zu bleichenden Substrat mehrere Aktivsauerstoffspezies an der Bleichwirkung beteiligt sind.

Zusätzlich zur Aktivsauerstoffbildung können bei der aktivierten Bleiche noch andere Reaktionsprodukte entstehen. In Anwesenheit hoher Aktivatorkonzentrationen und bei geringer Alkalität kann die Persäure mit überschüssigen Aktivatormolekülen unter Bildung von Diacylperoxiden (DAP) reagieren (Reaktionsweg (d)). Diacylperoxide zeigen nur gegenüber bestimmten Anschmutzungen eine geringfügige Bleichwirkung, weshalb diese Reaktion in der Waschlauge unerwünscht ist und durch gezielte pH-Steuerung und Peroxid:Aktivator-Verhältnisse minimiert werden kann [GRIME et al., 1992].

Unter bestimmten Reaktionsbedingungen tritt eine katalytische Zersetzung der Persäure als unerwünschte Nebenreaktion bei der aktivierten Bleiche auf. Dabei entstehen aus der Persäure die entsprechende organische Säure und molekularer Sauerstoff. Dieser Reaktionsweg (e) wird durch hohe Temperaturen und durch die Anwesenheit von Schwermetallionen gefördert.

Die aktivierten Bleichsysteme führen im Vergleich zur reinen Wasserstoffperoxidbleiche schon bei niedrigeren Temperaturen zu guten Bleichergebnissen. Dies hat eine Ursache in dem höheren Oxidationspotential der freigesetzten Persäure im Vergleich zu Wasserstoffperoxid und zum anderen liegt die Geschwindigkeit des spontanen Zerfalls der Persäure bei niedrigen Temperaturen um 3 bis 4 Zehnerpotenzen über der von Wasserstoffperoxid [EVANS und UPTON, 1985b]. Die verschiedenen Reaktionswege verdeutlichen, daß aktivierte Bleichsysteme ein Gemisch aus verschiedenen mehr oder weniger bleichaktiven Spezies (Perhydroxylanionen, Persäureanionen, DAP, Dioxirane) enthalten, die alle an der Bleichreaktion mehr oder weniger beteiligt sein können.

2.3.2.2 Tetraacetylethylendiamin (TAED)

In Europa hat sich als Bleichmittelaktivator der Wahl das schon 1959 entdeckte Tetraacetylethylendiamin (TAED) durchgesetzt. Abb. 2-3 zeigt die Summen- und Strukturformel von TAED.

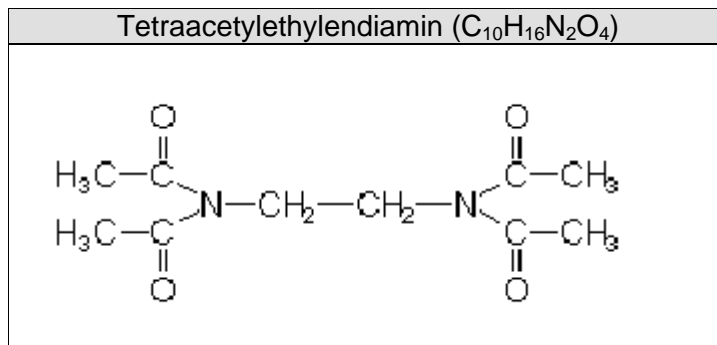


Abb. 2-3: Strukturformel des Bleichmittelaktivators TAED

TAED ist ein weißes, wasserlösliches, kristallines Pulver, das aus der Reaktion von Ethylendiamin und Essigsäureanhydrid großtechnisch synthetisiert wird. TAED besitzt eine sehr gute Lagerstabilität. Die Lösegeschwindigkeit von TAED ist temperaturabhängig: bei 40°C und in alkalischem Milieu beträgt die Lösegeschwindigkeit bis zum vollständigen Lösen von TAED ca. 2 Minuten und bei 20°C ca. 10 Minuten¹. In Waschmittelformulierungen wird TAED als Bleichmittelaktivator in Konzentrationen bis zu 5% eingesetzt. Der theoretische über Persäuren freisetzbare Aktivsauerstoff aus TAED liegt bei 142 mg <O> pro Gramm TAED [REINHARDT et al., 1989].

Der Mechanismus der aktivierten Bleiche mit TAED ist in Abb. 2-4 dargestellt. Im ersten Reaktionsschritt (=Perhydrolyse) reagiert TAED mit dem Perhydroxylanion (aus Wasserstoffperoxid) unter Bildung von Peressigsäure und DAED. Die Bildung der Peressigsäure stellt eine Reaktion 2. Ordnung dar. Dabei können aus TAED theoretisch zwei Moleküle Peressigsäure bzw. Peracetationen über die Perhydrolysereaktion freigesetzt werden. Tatsächlich werden pro Mol TAED maximal zwischen 1,5 und 1,7 mol Peressigsäure gebildet, wie Untersuchungen zum Bleichmechanismus von Perborat und TAED von HAUTHAL et al. [1990] und HOFMANN et al. [1992] zeigten. Diese Verluste führen die Autoren auf unerwünschte Nebenreaktionen, z.B. die Hydrolyse des Aktivators in stark alkalischen Medien, zurück wie sie in Abb. 2-2 (S. 20) als Reaktionsweg (b) dargestellt ist.

Die Bildung der Peressigsäure aus Perborat und TAED hängt vom pH-Wert, der Temperatur und der Konzentration der Reaktionspartner ab. Der Einfluß des pH-Wertes auf die Bildung von Peressigsäure wurde von HAUTHAL et al. [1990] und REINHARDT et al. [1989] untersucht. Die Versuche von HAUTHAL et al. [1990] wurden mit Perborat und TAED in gepufferten Lösungen durchgeführt und die gebildete Menge Peressigsäure zu verschiedenen Zeitpunkten bestimmt. In der sauren Lösung mit pH 4,55 bildete sich keine Peressigsäure, in den Lösungen mit den pH-Werten pH 7,05, pH 8,20 und pH 10,20 wurden mit steigendem pH-Wert größere Mengen an Peressigsäure nachgewiesen. Nach REINHARDT et al. [1989] nimmt nicht nur die Konzentration der gebildeten Peressigsäure mit steigendem pH-Wert zu, sondern auch die

¹ Angaben zur Konzentration sind in der Originalliteratur nicht angegeben

Geschwindigkeit der Perhydrolyse-reaktion: je höher die Alkalität desto schneller wurde das Maximum der Peressigsäurebildung erreicht. Beide Beobachtungen sind auf die höhere Konzentration der Perhydroxylanionen in alkalischen Medien zurückzuführen.

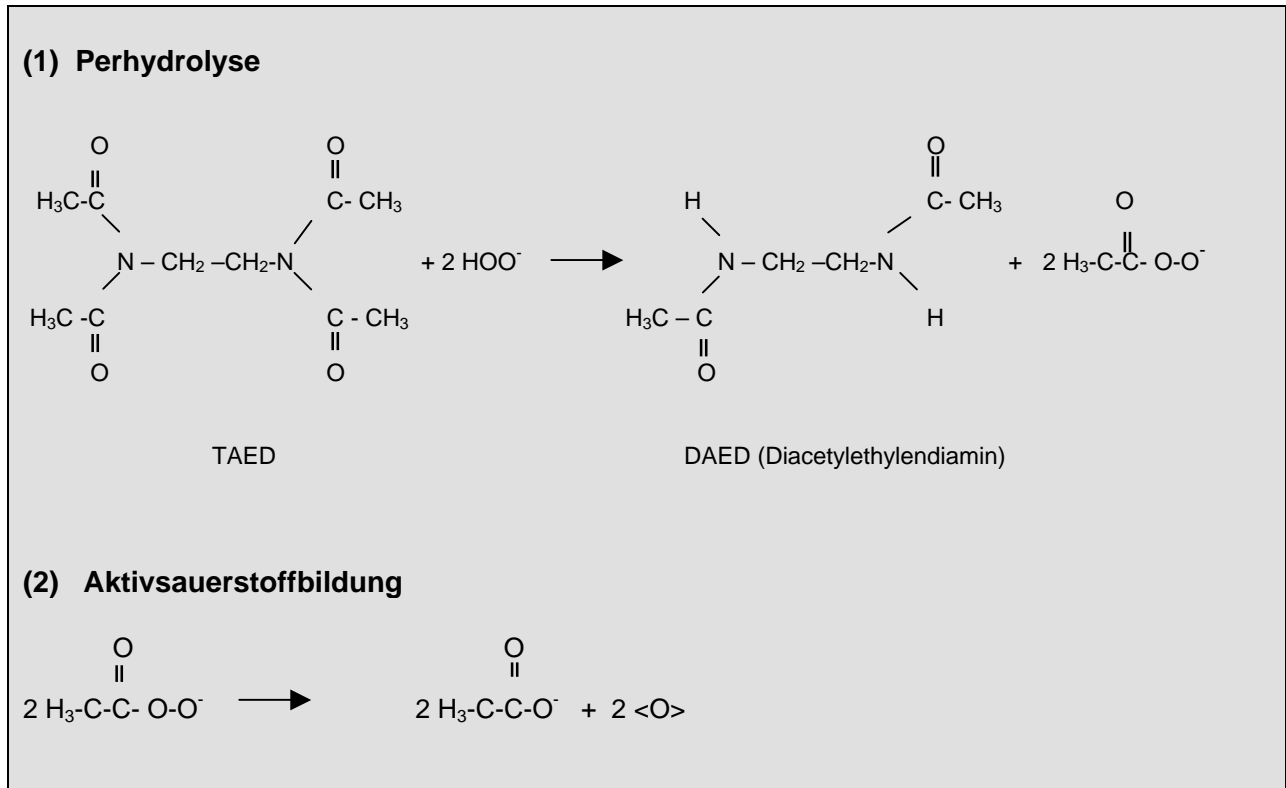


Abb. 2-4: Mechanismus der TAED-aktivierten Bleiche [REINHARDT, 1994a]

Die Konzentration der aus der Perhydrolyse-reaktion gebildeten Peressigsäure durchläuft bei den o.g. durchgeführten Versuchen ein Maximum und nimmt im Reaktionsverlauf in Abhängigkeit vom pH-Wert mehr oder weniger stark ab: je höher der pH-Wert bzw. die Temperatur, desto schneller nimmt die Peressigsäurekonzentration ab. Offenbar zersetzt sich die gebildete Peressigsäure im Alkalischen und durch Temperatureinwirkung katalytisch. Den schematischen Konzentrationsverlauf bei der Reaktion von Perborat mit TAED zeigt Abb. 2-5.

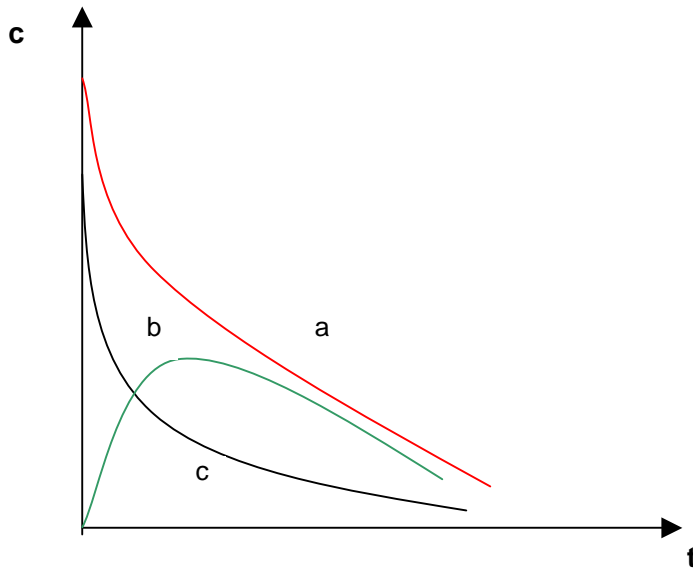


Abb. 2-5: Konzentrationsverlauf bei der Reaktion von Perborat mit TAED
(a= Gesamtaktivsauerstoff, b= Peressigsäure, c = Perborat) [nach PORSCH et al., 1990]

Die Untersuchungen von HAUTHAL et al. [1990] zum Einfluß der Temperatur auf die Bildung von Peressigsäure konnten zeigen, daß unterhalb von 20°C die Peressigsäurebildung stark verzögert ist und erst nach mehr als 90 min ein Maximum erreicht, bei 30°C wird das Maximum der Peressigsäurefreisetzung nach 20 Minuten, bei 40°C nach 5 Minuten und bei Temperaturen über 50°C nach nur 3 Minuten erreicht. In Abhängigkeit von der Temperatur wurden unterschiedliche Mengen Peressigsäure gebildet: bei höheren Temperaturen sank die maximal gebildete Peressigsäuremenge, was möglicherweise auf die höhere Zersetzungsrate der Peressigsäure bei höheren Temperaturen zurückgeführt werden kann. Untersuchungen von SMIDRKAL und SIMUNEK [1985] zeigten eine maximale Peressigsäurekonzentration aus Perborat und TAED bei 60°C nach 10 Minuten. Die unterschiedlichen Ergebnisse sind vermutlich auf die unterschiedlichen Konzentrationen der in den Experimenten eingesetzten Bleichmittel und Aktivatoren zurückzuführen.

Im zweiten Reaktionsschritt der aktivierten Bleiche (Abb. 2-4 (2)) wird aus der Peressigsäure Aktivsauerstoff freigesetzt, der letztendlich für die Bleichreaktion verantwortlich ist (vgl. Kap. 2.3.2.2.1).

Das Bleichergebnis der TAED-aktivierten Bleiche hängt von verschiedenen Faktoren ab. Untersuchungen zum Einfluß des pH-Wertes auf die Bleichreaktion zeigten, daß optimale Bleichergebnisse mit TAED-aktivierten Bleichsystemen im pH-Bereich zwischen pH 8 und pH 10 erzielt werden können, obwohl die maximale Peressigsäuremenge in aktivierten Systemen bei pH-Werten > 10 erreicht wird [REINHARDT, 1994a; PORSCH et al., 1990]. Damit ist die Bleichwirkung nicht allein von der Peressigsäurekonzentration abhängig. Durch Berechnungen konnten REINHARDT et al. [1989] zeigen, daß bei niedrigen Temperaturen die Bildung von Aktivsauerstoff aus Perborat und TAED zwischen pH 8 und pH 9, also in der Nähe des pK_s -Wertes der Peressigsäure ($pK_s \approx 8,2$), maximal ist. Andere Untersuchungen von KLEBER [1994] zur Textilbleiche mit TAED und Wasserstoffperoxid konnten die besten Bleichergebnisse (höchster Weißgrad) in neutralen Bleichansätzen erzielen.

Die Bleichleistung TAED-aktivierter Bleichsysteme wird durch die Konzentration und durch das Verhältnis von Bleichmittel:Aktivator beeinflusst. Gemäß der Reaktion von Perborat mit TAED werden stöchiometrisch pro Mol TAED theoretisch 2 Mol Perborat umgesetzt. Bezogen auf Gewichtsprozent bedeutet dies, daß für eine maximale Peressigsäureausbeute bei Verwendung von Perborat-Tetrahydrat ein Bleichmittel:Aktivator Verhältnis von 1,35:1 bzw. bei Verwendung von Perborat-Monohydrat ein Verhältnis von 0,9:1 benötigt wird. SMIDRKAL und SIMUNEK [1985] erzielten die besten Bleichresultate bei einem Gewichtsverhältnis von Perborat zu TAED zwischen 1:2 und 1:1. PORSCH et al. [1990] fanden durch ihre Untersuchungen, daß bei einem Perboratüberschuß über das stöchiometrische Verhältnis hinaus ein Rückgang der Bleichwirkung bei 60°C erkennbar war. Andere Autoren berichten von optimalen Bleichergebnissen bei der Verwendung von 1,5-2,5 Teilen Perborat auf 1 Teil TAED [REINHARDT, 1992]. Tatsächlich wird in der Praxis i.d.R. ein Überschuß an Perborat eingesetzt, um Aktivitätsverluste während der Lagerung und die teilweise katalytische Zersetzung von Wasserstoffperoxid in der Waschlauge auszugleichen. Zudem können überschüssige Aktivatorkonzentrationen die Bildung von DAP fördern.

Durch die Aktivierung von Perborat mit TAED kann die Aktivierungsenergie der Perboratbleiche von 217,7 kJ/mol auf weniger als 83 kJ/mol für das aktivierte System gesenkt werden. Dies beruht auf dem hohen Oxidationspotential und der hohen spontanen Zerfallsgeschwindigkeit von Peressigsäure bei niedrigen Temperaturen. Die Bleichwirkung TAED-aktivierter Bleichsysteme im Vergleich zur Bleichwirkung von Perborat ist in Abb. 2-6 dargestellt. Bei niedrigeren Temperaturen beruht die Bleichwirkung aktivierter Bleichsysteme auf der Wirkung der Peressigsäure, während bei Temperaturen über 60°C die Bleichwirkung überwiegend durch das Wasserstoffperoxid hervorgerufen wird [REINHARDT et al., 1989]. Der Rückgang der Bleichwirkung des aktivierten Systems bei hohen Temperaturen wird darauf zurückgeführt, daß die Peressigsäure bei hohen Temperaturen schneller autokatalytisch zersetzt wird als Wasserstoffperoxid. In der Waschlauge kann die Peressigsäure in Anwesenheit von Schwermetallen katalytisch in Essigsäure und Sauerstoff zersetzt werden, hingegen beeinflusst die Anwesenheit von Katalase die Peressigsäure nicht. Trotzdem kann durch Katalase ein Verlust von Aktivsauerstoff in der Peressigsäurelösung auftreten, da Peressigsäure eine Gleichgewichtssäure ist und in der Lösung im Gleichgewicht mit Essigsäure und Wasserstoffperoxid steht, das wiederum von der Katalase zersetzt werden kann.

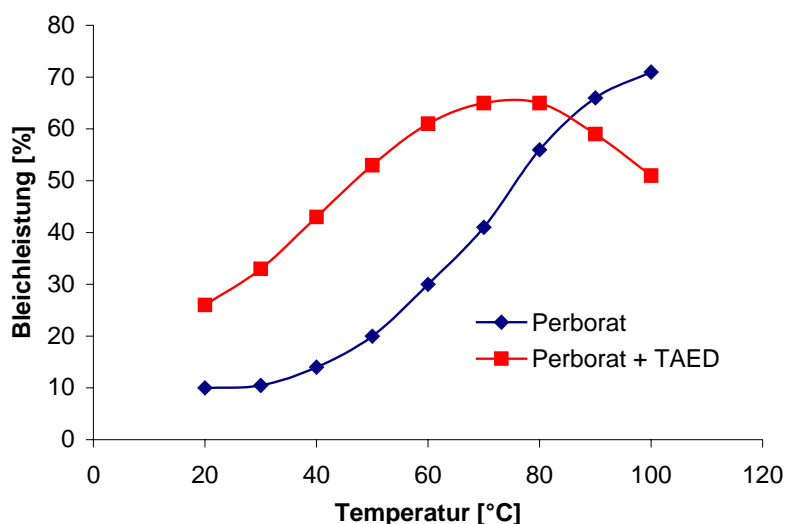


Abb. 2-6: Vergleich der temperaturabhängigen Bleichleistung einer aktivierten und einer nicht-aktivierten Bleiche [nach JAKOBI und LÖHR, 1987]

2.3.2.2.3 Natrium-Nonanoyloxybenzolsulfonat (NOBS)

Der Bleichmittelaktivator Natrium-Nonanoyloxybenzolsulfonat (NOBS) wurde zum ersten Mal 1989 von der Fa. Procter & Gamble in US-amerikanischen Waschmittelformulierungen eingesetzt und hat sich in den traditionellen Kaltwaschländern (z.B. USA, Japan) als Bleichmittelaktivator in Waschmitteln durchgesetzt. Abb. 2-7 zeigt die Strukturformel von NOBS.

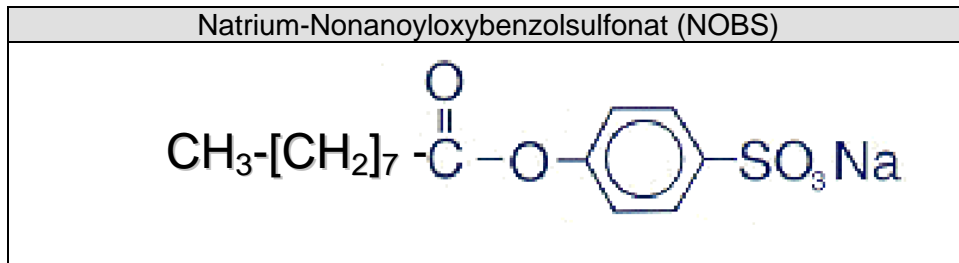


Abb. 2-7: Strukturformel des Bleichmittelaktivators NOBS

Der Aktivator NOBS bildet in situ mit Wasserstoffperoxid Pernonansäure als bleichwirksames Agens. NOBS soll bei niedrigeren Temperaturen aufgrund schnellerer Löslichkeit Wirksamkeitsvorteile gegenüber TAED bieten, obwohl der theoretisch freisetzbare Aktivsauerstoff aus NOBS nur ca. 1/3 des theoretisch freisetzbaren Aktivsauerstoffs aus TAED beträgt (theoretisch über Persäuren freisetzbarer Aktivsauerstoff ca. 50 mg <O> pro Gramm NOBS) [REINHARDT et al., 1989]. Waschmittelformulierungen enthalten zwischen 4 und 7% NOBS.

Der Mechanismus der aktivierten Bleiche mit NOBS ist in Abb. 2-8 dargestellt:

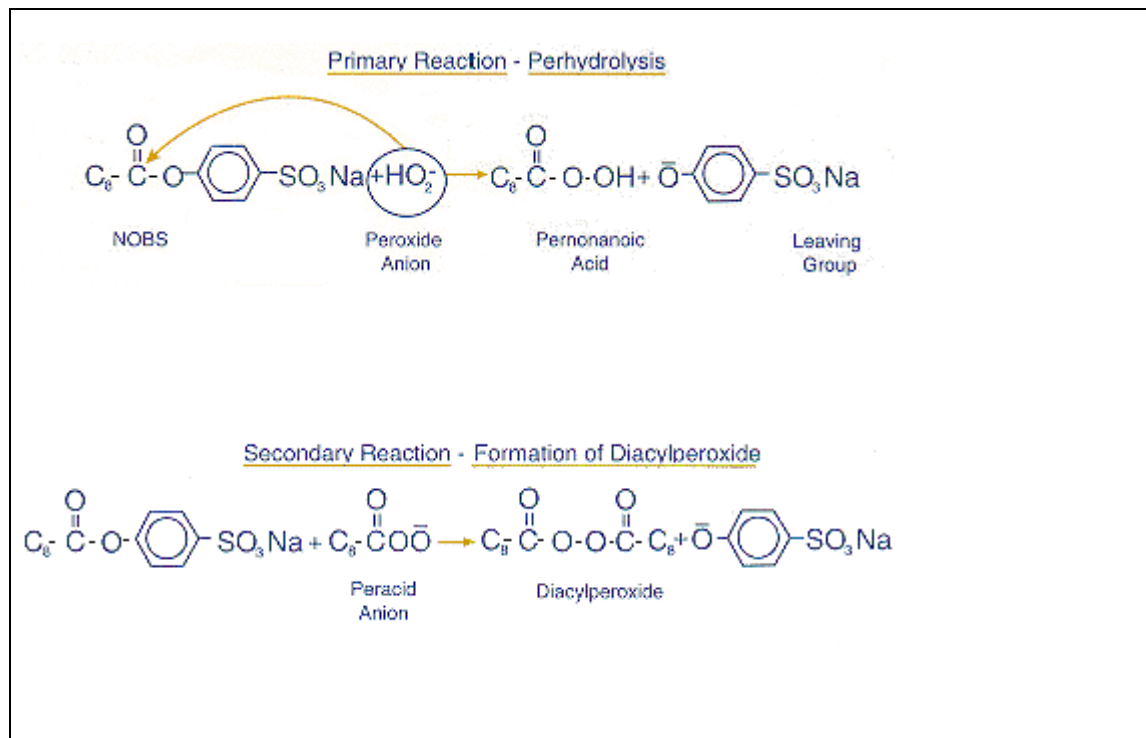


Abb. 2-8: Mechanismus der NOBS-aktivierten Bleiche [GRIME et al., 1992]

Im ersten Reaktionsschritt wird über die Perhydrolyse des Aktivators NOBS durch das Perhydroxylanion ein Molekül Pernonansäure und als Aktivatorrest ein Phenolsulfonatanion gebildet. Die gebildete Pernonansäure wirkt als bleichaktives Agens, indem sie Aktivsauerstoff freisetzt.

Die Geschwindigkeit der Perhydrolysereaktion von NOBS ist temperaturabhängig. Nach GRIME et al. [1992] wird das Maximum der Pernonansäurebildung bei 40°C nach ca. 1 Minute erreicht, während bei 20°C erst nach 5 Minuten die maximale Menge an Pernonansäure freigesetzt wird. Analog zu TAED-aktivierten Systemen zeigte sich auch bei der Aktivierung von Perborat mit NOBS, daß bei der niedrigeren Temperatur von 20°C mehr gebildete Pernonansäure verfügbar ist als bei 40°C, was auf die höhere Stabilität der Pernonansäure bei niedrigeren Temperaturen zurückgeführt wird.

Der untere Teil von Abb. 2-8 zeigt als mögliche Nebenreaktion, die in der NOBS-aktivierten Bleichmittellösung unter bestimmten Voraussetzungen auftreten kann, die Bildung von sog. Diacylperoxiden (DAP). Die Bildung dieses DAP hängt vom pH-Wert der Lösung und von dem Konzentrationsverhältnis zwischen Perborat und NOBS ab. Eine Studie von GRIME et al. [1992] zeigte, daß bei einem Überschuß von Aktivatormolekülen, wie es z.B. bei einem Dosierungsverhältnis Perborat:NOBS von 1:1 auftritt, mehr DAP gebildet wird als bei höheren Perboratdosierungen (z.B. 3:1). Zusätzlich wiesen GRIME et al. nach, daß bei einem pH-Wert von pH 9 mehr DAP gebildet wird als bei pH 10. Umgekehrt ergab die Bestimmung der Pernonansäurekonzentration in den Lösungen mit pH 9 und pH 10, daß bei pH 10 mehr Pernonansäure im Vergleich zu pH 9 nachweisbar war. Da aus Pernonansäure gebildete DAP nur eine geringe Bleichwirksamkeit gegenüber bestimmten Anschmutzungen aufweisen, ist die DAP-Bildung bei der Reaktion von Perborat und NOBS unerwünscht, weshalb in optimierten Waschmittelformulierungen ein hohes Dosierungsverhältnis von Perborat zu NOBS und höhere pH-Werte angestrebt werden [WHALLEY, 1998]. Hohe Ausbeuten an Pernonansäure werden bei (Gewichts-)Konzentrationsverhältnissen Perborat:NOBS von 3:1 und höher und bei pH-Werten > pH 10 erzielt. Untersuchungen zum direkten Einfluß des pH-Wertes auf die Bleichwirkung liegen bisher nicht vor.

Die aus NOBS gebildete Pernonansäure besitzt aufgrund ihrer Kettenlänge eine optimale hydrophile-lipophile Balance (HLB) und führt schon in geringen Mengen zu sehr guten Bleichergebnissen. Aufgrund ihres tensidartigen Charakters ist die Pernonansäure besonders geeignet, an Oberflächen zu adsorbieren und hydrophobe Schmutzarten zu bleichen [GRIME et al., 1992]. In Untersuchungen zur Bleichwirkung verschiedener Persäuren zeigte Pernonansäure im Vergleich zu Peressigsäure bessere Bleichresultate [DANKOWSKI et al., 1986].

2.3.2.2.4 Bleichmittelkatalysatoren

Die verzögerte Wirksamkeit von Bleichmitteln und aktivierten Bleichsystemen bei niedrigen Temperaturen (< 30°C) führte zu zahlreichen Forschungsaktivitäten über die Möglichkeit des Einsatzes von Bleichmittelkatalysatoren. **Bleichmittelkatalysatoren** verbessern die Bleichwirkung indem sie die Bildung von Aktivsauerstoff aus Perborat bzw. aktivierten Systemen insbesondere bei Temperaturen < 20°C katalytisch beschleunigen. Neben der effektiveren Bleichwirkung bei niedrigen Temperaturen bieten Bleichmittelkatalysatoren den Vorteil, daß sie in geringen Dosierungen (wenige hundertstel Prozent) wirksam sind und für die Entfaltung der optimalen Bleichwirkung nur wenig Bleichmittel erforderlich ist, was insbesondere bei Kompaktwaschmitteln einen wichtigen Aspekt darstellt [MILNE, 1998].

In der Patentliteratur sind sowohl organische als auch anorganische Bleichmittelkatalysatoren beschrieben. Bleichmittelkatalysatoren basieren auf freien Metallionen bzw. komplex gebundenen Metallionen (z.B. Fe, Mn oder Co). Diese Bleichmittelkatalysatoren der 1. Generation führten jedoch zu einer unkontrollierten autokatalytischen Zersetzung von Wasserstoffperoxid über freie Radikale, und als Folge davon traten Schäden im gebleichten Gewebe auf. Neuere Entwicklungen versuchen dieses Problem zu beheben. Die bisher aussichtsreichsten Bleichmittelkatalysatoren sind organische Metallkomplexe mit Fe, Mn, Cu oder Co als Zentralatom. Ein Bleichmittelkatalysator basierend auf einem Mangankomplex wurde 1994 sogar in einer kommerziellen Waschmittelformulierung eingesetzt, jedoch mußte dieses Waschmittel aufgrund auftretender Farb- und Gewebeschädigung wieder vom Markt genommen werden, und der Einsatz des Bleichmittelkatalysators bleibt bis auf weiteres auf Maschinengeschirrspülmittel beschränkt [WHALLEY, 1998; REINHARDT und LÖFFLER, 1997]. Effektive Bleichmittelkatalysatoren auf Basis von Mangankomplexen leiten sich von 1,4,6-trimethyl-1,4,7-triacyclononan-Liganden (**MnTACN**) ab [HAGE et al., 1994]. Abb. 2-9 zeigt ein Beispiel für einen Bleichmittelkatalysator auf Mangan-Basis.

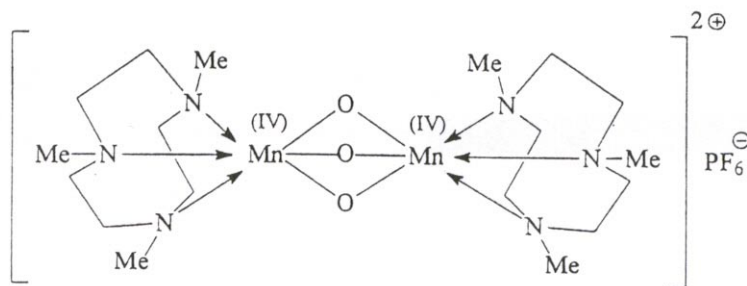


Abb. 2-9: Strukturformel eines manganhaltigen Bleichmittelkatalysators mit 1,4,6-trimethyl-1,4,7-triacyclononan-Liganden (Mn-TACN, 12,3% Mn) [MILNE, 1998]

Die Bleichmittelkatalysatoren verbessern sowohl die Bleichwirkung von Wasserstoffperoxid bzw. Perborat als auch die von aktivierten Bleichsystemen. Die Metallkomplexe bilden mit Wasserstoffperoxid Peroxometallverbindungen, welche schon bei niedrigen Temperaturen reaktiv sind und eine Bleichreaktion bewirken. Die bisher beim Einsatz von Bleichmittelkatalysatoren auftretenden Probleme aufgrund von Farb- und Gewebeschädigungen beruhen vermutlich auf der Bildung von freien Radikalen, weshalb heutige Forschungsaktivitäten darauf abzielen, stabilere Metallkomplexe zu finden [MILNE, 1998].

2.3.2.3 Organische Per(oxy)säuren

Organische Persäuren zeichnen sich durch ihr hohes Oxidationspotential und damit durch eine gute Bleichwirkung aus. Die Idee, anstelle aktivierter Bleichmittelsysteme direkt organische Persäuren als Bleichmittel in Waschmitteln einzusetzen, scheiterte bisher an der mangelnden Verfügbarkeit, ungenügender Lagerstabilität oder ungünstigen Preis-Leistungsverhältnissen. Kurzkettige Persäuren (z.B. Peressigsäure) sind i.d.R. flüssig und neigen in konzentrierter Form zu thermisch, mechanisch oder radikalisch induzierter Zersetzung, die explosionsartig eintreten kann. Aus diesem Grund kommen für den Einsatz von organischen Persäuren als Bleichmittel in Waschmitteln nur länger-kettige stabile Mono- und Diperoxycarbonsäuren in Frage.

Die organischen Persäuren setzen in der Waschflotte direkt Aktivsauerstoff frei und benötigen deshalb für die Bleichreaktion kein Wasserstoffperoxid. Sie sind in einem weiten pH-Bereich (neutral bis alkalisch) bleichaktiv und werden durch Katalasen selbst nicht zersetzt [REINHARDT, 1994b; HIGNETT, 1986]. Ein Nachteil der organischen Persäuren ist ihre geringe Lagerstabilität und ihre Neigung, mit anderen Waschmittelbestandteilen zu reagieren [MILNE, 1998; GRIME und CLAUSS, 1990].

Die Bleichaktivität organischer Persäuren hängt u.a. von ihrer hydrophilen-lipophilen Balance (HLB-Wert), also von ihrem Löslichkeitsverhalten in Wasser bzw. lipophilen Lösungsmitteln ab. Optimale Bleichergebnisse werden mit Peroxycarbonsäuren erzielt, die eine Kettenlänge zwischen C₆ und C₉ aufweisen [DANKOWSKI et al., 1986; GRIME et al., 1992]. In zahlreichen Forschungsaktivitäten wurde die Eignung organischer Persäuren und Persäure-Derivaten als Bleichmittel in Waschmittelformulierungen untersucht, wobei sich folgende Verbindungen als potentiell geeignet erwiesen haben: *Magnesium-Monoperoxyphthalat (H 48[®])* [HIGNETT, 1986], *Diperoxidodecandisäure (DPDDA)* [DANKOWSKI et al., 1986], *Phthalimido-peroxo-capronsäure (PAP)* u.a. [REINHARDT, 1994b]. Bisher scheiterte der Einsatz dieser Verbindungen an verschiedenen Gründen, insbesondere an hohen Produktionskosten und geringer Stabilität.

Phthalimido-peroxo-capronsäure (Phthalimido-peroxo-Hexansäure) (PAP)

PAP ist eine in fester Modifikation vorkommende Imidoperoxycarbonsäure mit einem theoretischen Aktivsauerstoffgehalt von 5,8%. Abb. 2-10 zeigt die Strukturformel von PAP.

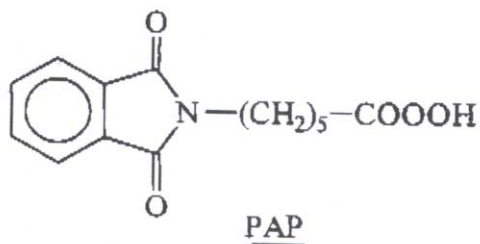


Abb. 2-10: Strukturformel von Phthalimido-peroxo-Hexansäure (PAP)

Die Wasserlöslichkeit von PAP ist pH-abhängig: im sauren pH-Bereich ist die Wasserlöslichkeit gering, in alkalischen Medien lösen sich ca. 80% innerhalb von 5 bis 10 Minuten. PAP führt schon bei niedrigen Temperaturen und in einem pH-Bereich zwischen pH 4 und pH 11 zu guten Bleichergebnissen und wirkt nachweislich abtötend auf Bakterien und Hefen [REINHARDT, 1994b]. Abb. 2-11 zeigt die Bleichleistung von PAP im Vergleich zu anderen Bleichmitteln in Abhängigkeit von der Temperatur. Nach Untersuchungen zur Bleichwirkung verschiedener Persäuren von DANKOWSKI et al. [1986] zeigte Perhexansäure im Vergleich zu Peressigsäure bei gleichem Aktivsauerstoffeinsatz, insbesondere im Niedrigtemperaturbereich, bessere Bleichresultate.

Der Einsatz von PAP in Waschmitteln scheiterte bisher an der geringen Stabilität dieser Verbindung. 1998 wurde ein neues Verfahren zur Verbesserung der Stabilität von PAP patentiert, was zukünftig möglicherweise neue Chancen für organische Persäuren in Waschmitteln bietet [BIANCHI et al., 1998]. Das Granulat, das nach diesem Verfahren hergestellten PAP wird unter dem Handelsnamen EURECO[®] vertrieben.

Bislang beschränkt sich die Verwendung von PAP auf den Einsatz in Fleckensalzen.

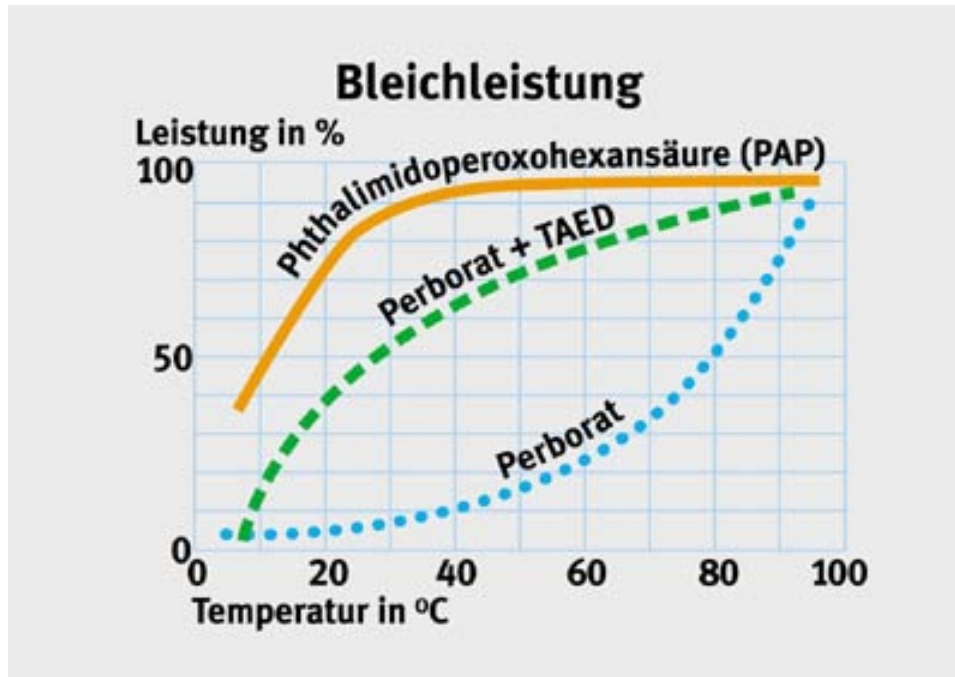


Abb. 2-11: Vergleich der Bleichleistung verschiedener Bleichmittel in Abhängigkeit von der Temperatur [SYNTANA, 2000]

2.4 Mikrobizide Wirkung von Bleichmitteln und Bleichsystemen

Die Hauptaufgabe der Bleichmittel und Bleichmittelsysteme in Waschmitteln ist ihre bleichende Wirkung auf farbige Anschmutzungen. Die Bleichwirkung von Bleichmitteln und Bleichmittelsystemen ist in der Literatur gut beschrieben [PORSCH et al., 1990; SOMMER und MILSTER, 1986; HIGNETT, 1986; SKAGERLIND et al., 1998; JACOBY und LÖHR, 1987]. Daten zur mikrobiziden Wirksamkeit von Bleichmitteln und Bleichmittelsystemen, wie sie in Waschmitteln eingesetzt werden, liegen nur vereinzelt vor, z.T. ist die Wirksamkeit der aus Bleichmitteln freigesetzten bleichaktiven Substanzen, z.B. Wasserstoffperoxid oder Peressigsäure, sehr gut untersucht.

2.4.1 Natriumhypochlorit

Natriumhypochlorit zeigt neben der Bleichwirkung auch eine desinfizierende Wirkung und zeichnet sich durch eine hohe Effektivität und ein breites Wirkungsspektrum aus. Die mikrobizide Wirksamkeit von Natriumhypochlorit wurde in zahlreichen Untersuchungen nachgewiesen [TRUEMAN, 1971; MROZEK, 1982; WALLHÄUßER, 1995; BLOOMFIELD und USO, 1984]. MROZEK [1982] ermittelte im quantitativen Suspensionstest die Wirkung von Natriumhypochlorit in einer Anwendungskonzentration von 200 mg/l bei 20°C. Unter diesen Bedingungen wurden *E. coli*, *St. aureus* und *P. aeruginosa* innerhalb von einer Minute, *B. cereus* innerhalb von 60 Minuten, *S. cerevisiae* innerhalb von 2,5 Minuten und *A. niger* nach 20 Minuten um mehr als 5 Zehnerpotenzen abgetötet. Die Wirkung von Natriumhypochlorit beruht darauf, daß die unterchlorige Säure undissoziiert durch die Zellwände von Bakterien diffundiert und eine oxidierende bzw. chlorierende Wirkung auf Zellbestandteile ausübt. Dabei kommt es u.a. zur Chlorierung bzw. Oxidation funktioneller Gruppen in Enzymen bzw. der Nucleotide in der DNA, die irreversibel geschädigt werden [TRUEMAN, 1971; McDONNELL und RUSSEL,

1999]. MAILLARD et al. [1998] untersuchten den Wirkmechanismus von Natriumhypochlorit auf Bakteriophagen. Nach ihrer Hypothese reagiert Natriumhypochlorit primär mit den Kapsidproteinen, was zu einer Freisetzung der viralen DNA führt. In einer möglichen Sekundärreaktion wird die freigesetzte DNA durch Natriumhypochlorit geschädigt.

Da in Abhängigkeit vom pH-Wert unterschiedliche Mengen unterchloriger Säure in der Lösung vorliegen, ist der Desinfektionserfolg im schwach sauren pH-Bereich besser als im alkalischen, was in zahlreichen Untersuchungen bestätigt wurde [WALLHÄUßER, 1995; COTTER et al., 1985; DEATH und COATES, 1979; TRUEMAN, 1971]. Damit ist die Wirksamkeit von Natriumhypochlorit nicht nur von der Konzentration, sondern auch vom pH-Wert stark abhängig. Aufgrund der guten Oxidationswirkung reagiert Natriumhypochlorit auch mit anderen organischen Schmutzbestandteilen z.B. Eiweiß und wird dadurch inaktiviert. Diese „Chlorzehrung“, die auch als „Eiweißfehler“ bzw. „Eiweißverlustfaktor“ bezeichnet wird, muß bei der Verwendung von Natriumhypochlorit zur Desinfektion stark verschmutzter Gegenstände berücksichtigt werden.

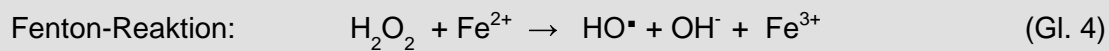
2.4.2 Wasserstoffperoxid und anorganische Persalze

Wasserstoffperoxid findet aufgrund seiner oxidierenden Wirkung sowohl als Bleichmittel als auch als Desinfektionsmittel Verwendung. Es verfügt über ein breites Wirkungsspektrum und wird wegen geringen Rückstandsproblemen u.a. in der Wunddesinfektion, zur Packstoffentkeimung beim aseptischen Abpacken und für die Wasserdesinfektion eingesetzt. Eine umfangreiche Darstellung der mikrobiziden Wirkung von Wasserstoffperoxid wurde von BLOCK [2001] zusammengestellt.

Für eine effektive Keimabtötung sind relativ hohe Konzentrationen bzw. relativ lange Einwirkzeiten erforderlich, anaerobe Bakterien reagieren sehr viel empfindlicher als aerobe Mikroorganismen. TURNER ermittelte die keimabtötende Wirkung von 3%igen Wasserstoffperoxidlösungen bei 25°C und fand, daß gramnegative Bakterien durch Wasserstoffperoxid wesentlich besser abgetötet werden als grampositive Bakterien. Dies zeigt sich in den unterschiedlichen D-Werten, die TURNER im o.g. Fall für *P. aeruginosa* mit 0,1-1 Minute und für *St. aureus* mit 2,35 Minuten angibt. Bei Hefen und Schimmelpilzen steigt der D-Wert unter denselben Bedingungen weiter an, für *C. albicans* liegt er bei ca. 4 Minuten und für *A. niger* sogar bei 8,55 Minuten. Viren zeigten unter diesen Bedingungen D-Werte von 2,42 Minuten [zitiert nach BLOCK, 2001]. Für die Abtötung von Bakteriosporen sind höhere Konzentrationen und lange Einwirkzeiten erforderlich, die durch Temperaturerhöhung verkürzt werden können [CERNY, 1976]. Die Wirkung von Wasserstoffperoxidlösungen kann ähnlich wie bei der Bleichwirkung durch Konzentrationserhöhung bzw. durch Temperaturerhöhung effektiv gesteigert werden. Nach WALLHÄUßER [1995] ist für eine optimale mikrobizide Wirkung ein saurer pH-Wert der Lösung erforderlich, was er darauf zurückführt, daß Wasserstoffperoxid im alkalischen rasch zersetzt wird. Nach BALRDY [1983] und CURRAN et al. [1940] ist die sporizide Wirkung niedrigkonzentrierter Wasserstoffperoxidlösungen im sauren pH-Bereich besser als im alkalischen. CERNY [1976] konnte bei der Abtötung von *B. subtilis*-Sporen durch konzentrierte Wasserstoffperoxidlösungen im pH-Bereich zwischen pH 2,1 und pH 5,4 keine Abhängigkeit der sporiziden Wirkung vom pH-Wert erkennen.

Die keimabtötende Wirkung des Wasserstoffperoxids beruht auf dem starken Oxidationspotential, wodurch Wasserstoffperoxid diverse Zellkomponenten irreversibel zerstören kann. Wasserstoffperoxid kann die Zellmembran passieren und innerhalb der Zelle seine oxidierende Wirkung ausüben. Angriffstellen für die oxidierende Wirkung des Wasserstoffperoxids sind u.a. oxidationsempfindliche Stoffwechsellzyme, wobei z.B. Strukturelemente mit Sulfhydrylgruppen oder Disulfidbrücken aufoxidiert werden können. Dadurch verlieren diese irreversibel ihre Funktionstüchtigkeit und als Folge bricht der Zellstoffwechsel zusammen. Weitere mögliche

Schädigungsmechanismen des Wasserstoffperoxids in der Zelle sind bekannt, z.B. die Lipidperoxidation von Membranen oder Reaktionen des Wasserstoffperoxids mit der DNA, welche zu Strangbrüchen bzw. Punktmutationen führen können [SANTORO und THIELE, 1997]. Der genaue Reaktionsmechanismus der abtötenden Wirkung auf die Mikroorganismenzellen durch Wasserstoffperoxid ist bislang nicht geklärt. Es wird angenommen, daß Wasserstoffperoxid in der Zelle, z.B. mit Metallionen bzw. Superoxidionen, hochreaktive Radikale bildet, die zur Schädigung von Zellkomponenten führen können. Nach DITTMER et al. und COLOBERT [zitiert nach BLOCK, 2001] verstärkt die Anwesenheit von Metallionen die Wirksamkeit von Wasserstoffperoxid beträchtlich, während der Zusatz von zellpermeablen Komplexbildnern die abtötende Wirkung von Wasserstoffperoxid auf die Bakterienzelle blockiert [KEYER et al., 1995]. Als Reaktionsmechanismus wird die metallkatalysierte Bildung von hochreaktiven Hydroxylradikalen aus Wasserstoffperoxid (Gl. 4) diskutiert.



CLAPP et al. [1994] führen an, daß die bakterizide Wirkung von Peroxiden in Anwesenheit von Antioxidantien nachhaltig gehemmt wurde, woraus die Autoren schließen, daß das Hydroxylradikal maßgeblich an der letalen Wirkung von Peroxiden auf vegetative Bakterien beteiligt sein muß. Die Ergebnisse von SHIN et al. [1994] deuten darauf hin, daß bei der sporiziden Wirkung von Peroxiden andere reaktive Species beteiligt sein müssen, da hier der Zusatz von Radikalfängern deren Wirkung nicht hemmte.

Die meisten aeroben Organismen verfügen über Schutzmechanismen (z.B. Enzyme wie Katalase, Peroxidase), um sich vor der toxischen Wirkung intermediär in der Zelle gebildeter Aktivsauerstoffspezies wie Wasserstoffperoxid zu schützen. Einen solchen Schutzmechanismus stellt das Enzym Katalase dar, das Wasserstoffperoxid in Wasser und molekularen Sauerstoff zersetzt. Die Katalase gehört zu den aktivsten Enzymen und zeichnet sich durch ihre hohe Umsatzrate aus. In den prokaryotischen Zellen ist die Katalase überwiegend im Cytoplasma verteilt, teilweise findet man sie auch im periplasmatischen Raum. Die Anwesenheit von Katalase in der Mikroorganismenzelle ist ein Grund dafür, daß Mikroorganismen mikromolekulare Konzentrationen von exogenem Wasserstoffperoxid tolerieren können, bei höheren Konzentrationen reicht die zelleigene Katalase nicht aus, das Wasserstoffperoxid zu zersetzen, was dann zum Absterben der Zelle führt [IBRAHIM, 1972].

Die Bleichmittel Perborat und Percarbonat setzen als anorganische Peroxoverbindungen Wasserstoffperoxid frei, das wie vorausgehend geschildert keimabtötend wirkt. Die mikrobizide Wirkung von Perborat und Percarbonat wurde nur in wenigen Untersuchungen bestimmt, da sie mit derjenigen von Wasserstoffperoxid in äquivalenten Konzentrationen vergleichbar ist. In Tab. 2-3 ist eine Übersicht der Untersuchungen zur mikrobiziden Wirkung von Perborat und Percarbonat zusammengestellt.

Perborat-Monohydrat						
Keim	Temp.	pH	Konzentration	Zeit (min)	RF	Literatur
<i>E. coli</i>	22 °C	8	0,5%	5	6	WALLHÄUßER, 1995
<i>St. aureus</i>	22 °C	8	1,0%	5	6	
<i>C. albicans</i>	22 °C	8	0,5%	5	6	
<i>E. coli</i> ATCC 23226	23 °C	10	0,125%	12	2	STEINHAEUER, 1997
	23 °C	10	0,5%	10	5	
	40 °C	10	0,125%	12	5	
<i>B. subtilis</i> DSM 4181 (Sporen)	80 °C	7	0,125%	40	3	MITTERMAYR, 2000
	80 °C	10	0,125%	20	> 4	
<i>S. cerevisiae</i> ATCC 18824	40 °C	10	1,0%	25	3,5	STARK, 1998
	40 °C	10	5,0%	15	4,5	
	50 °C	10	0,125%	15	4,5	

Percarbonat						
<i>E. coli</i> ATCC 23226	23 °C	10	0,125%	12	2,7	STEINHAEUER, 1997
	23 °C	10	0,5%	10	5,7	
<i>E. coli</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>Entc. faecium</i> , <i>St. aureus</i> <i>C. albicans</i>	25 °C	Wasch- lauge	0,03%	15	0,5 - 1	REINHARDT, 1993
<i>S. cerevisiae</i> ATCC 18824	40 °C	10	1,0%	15	4,5	STARK, 1998
	40 °C	10	5,0%	7	> 5	

* Die Keimabtötung wurde als Reduktionsfaktor (= $\log \text{KbE}_{T_0} - \log \text{KbE}_{T_1}$) angegeben

Tab. 2-3: Mikrobizide Wirkung von Perborat und Percarbonat

Untersuchungen zur keimabtötenden Wirkung von Perborat und Percarbonat wurden von HAASE [1950] durchgeführt, der die Eignung dieser Substanzen für die Anwendung in munddesinfizierenden Mitteln prüfte. WALLHÄUßER [1995] gibt als Mindestkonzentration von Natriumperborat-Monohydrat, die für die Abtötung einer Mikroorganismenpopulation um 6 Zehnerpotenzen bei 22°C innerhalb von 5 Minuten erforderlich ist, Dosierungen zwischen 0,5 bis über 1% an.

REINHARDT [1993] und CROUD und GEORGE [1997] ermittelten die keimabtötende Wirkung von Perboraten bzw. Percarbonat bei niedrigen Temperaturen in Waschlauge. Die Ergebnisse von REINHARDT [1993] zeigten, daß der Zusatz von 0,03% Percarbonat zur Waschlauge bei 25°C nach 15 Minuten keine signifikante Keimabtötung bewirken konnte. Ähnliche Ergebnisse fanden auch CROUD und GEORGE, die die Wirkung von Perborat-Monohydrat in Waschlauge bestimmten.

Einige der in Tab. 2-3 aufgeführten Untersuchungen ermittelten zusätzlich zum mikrobiziden Effekt auch Einflußfaktoren, die bei der Wirkung der Bleichmittel auf Mikroorganismen eine Rolle spielen. STEINHAEUER [1997] untersuchte die mikrobizide Wirkung von Natriumperborat-Monohydrat, Natriumperborat-Tetrahydrat und Natriumpercarbonat an *E. coli*-Zellen in Abhängigkeit von der Konzentration und von der Temperatur bei pH 10. Der Vergleich der drei

Bleichmittel zeigte, daß mit Natriumpercarbonat die beste Wirkung erzielt werden konnte, gefolgt von Natriumperborat-Monohydrat. Bei Raumtemperatur und einer Bleichmitteldosierung von 0,125% betrug die Keimabtötung innerhalb von 5 Minuten in Abhängigkeit vom Bleichmittel zwischen 1 und 2 Zehnerpotenzen, die Erhöhung der Bleichmitteldosierung auf 1,0% bewirkte unter denselben Bedingungen eine Abtötung um 2,7 bis 3,8 Zehnerpotenzen. Eine Erhöhung der Temperatur von 20°C auf 40°C führte zu einer Steigerung der keimabtötenden Wirkung der Persalze.

Ähnliche Studien liegen von STARK [1998] vor, der die Wirkung der Bleichmittel auf *S. cerevisiae* ermittelte. Dabei zeigte sich, daß zur Abtötung von *S. cerevisiae* deutlich höhere Konzentrationen bzw. längere Einwirkzeiten oder eine Erhöhung der Temperatur erforderlich waren. Bei 30°C konnte mit 2%igen Perboratlösungen innerhalb von 25 min keine signifikante Abtötung von *S. cerevisiae* erzielt werden. Die Temperaturerhöhung auf 40°C führte bei 1%igen Perboratlösungen nach 25 min zu einer Abtötung um 3,5 Zehnerpotenzen, bei 2%igen Perboratlösungen waren nach 20 min mehr als 5 Zehnerpotenzen abgetötet.

MITTERMAYR [2000] ermittelte die sporizide Wirkung von Natriumperborat-Monohydrat anhand von Sporen von *B. subtilis* im Temperaturbereich von 40°C bis 95°C in Abhängigkeit vom pH-Wert und konnte nachweisen, daß sowohl der pH-Wert und die Temperatur die Wirkung der Bleichmittel auf die Sporen beeinflussten. Eine effektive Wirksamkeit von 0,125% Natriumperborat-Monohydrat wurde erst bei Temperaturen über 80°C beobachtet, wobei der Effekt in alkalischen Lösungen mit pH 10 signifikant besser war als in den Lösungen mit pH 7. Bei 80°C konnte durch 0,125%ige Perboratlösungen innerhalb von 20 min bei pH 7 eine Abtötung um eine Zehnerpotenz, bei pH 10 um 4 Zehnerpotenzen beobachtet werden, unterhalb von 80°C war bei dieser Dosierung kein Effekt nachzuweisen.

2.4.3 Aktivierte Bleichsysteme, organische Persäuren und Bleichmittelkatalysatoren

Die meisten aktivierten Bleichsysteme setzen wie unter Punkt 2.3.2.2.1 dargestellt organische Persäuren als reaktives Agens frei. Die wichtigsten organischen Persäuren, die aus der aktivierten Bleiche in der Waschlauge hervorgehen, sind die Peressigsäure (aus TAED) und die Pernonansäure (aus NOBS), beim direkten Einsatz von organischen Persäuren als Bleichmittel kommt Phthalimido-peroxo-capronsäure (PAP) zur Anwendung.

Die Wirkung von Peressigsäure als Desinfektionsmittel ist sehr gut untersucht [SPRÖSSIG und MÜCKE, 1967 u. 1968; BOTZENHART und JAAS, 1985; FLEMMING, 1984; KRETZSCHMAR et al., 1972] und in der Literatur von BLOCK [2001] umfassend beschrieben worden. Die Peressigsäure zeichnet sich aus durch eine schnelle Wirksamkeit in geringer Dosierung und ein breites Wirkungsspektrum, das auch die Abtötung von Sporen und Viren mit einschließt. Die Peressigsäure wirkt in geringen Konzentrationen auch bei niedrigen Temperaturen und in einem breiten pH-Bereich, wobei nach BLOCK [2001] die Wirkung im sauren pH-Bereich besser ist als im alkalischen, was auf eine höhere Stabilität der Peressigsäure bei pH-Werten unterhalb von pH 7 zurückgeführt werden kann. Die Wirksamkeit der Peressigsäure wird durch die Anwesenheit von Schwermetallionen bzw. Eiweiß beeinflusst. Dieser Eiweißfehler kann durch Konzentrationserhöhung bzw. durch Erhöhung der Einwirkzeit ausgeglichen werden.

Die keimabtötende Wirkung wird durch das starke Oxidationspotential der Peressigsäure hervorgerufen. Die lipidlöslichen Peressigsäuremoleküle können wenig dissoziiert die Zellhülle von Mikroorganismen durchdringen und diese dabei angreifen. Der Mechanismus der mikrobiziden Wirkung der Peressigsäure ist letztendlich noch nicht geklärt. U.a. werden ähnliche Mechanismen diskutiert, die auch bei Wasserstoffperoxid eine Rolle spielen. In der

Zelle kann Peressigsäure ähnlich wie Wasserstoffperoxid oxidativ auf Eiweißkomponenten bzw. Membranen, insbesondere auf Enzymsysteme, wirken und dadurch irreversible Schädigungen hervorrufen, die zum Zusammenbruch des Stoffwechsels führen. BALDRY und FRASER [1988] schlagen als Reaktionsmechanismus vor, daß die Peressigsäure die komplexe Protein-Lipidstruktur der Cytoplasmamembran schädigt und damit die chemiosmotische Funktion der Cytoplasmamembran beeinflusst. CLAPP et al. [1994] diskutieren die Beteiligung von Radikalen bei der schädigenden Wirkung der Peressigsäure. Die Peressigsäure selbst kann durch mikrobielle Katalase nicht zersetzt werden und bislang wurden noch keine Resistenzen beobachtet [McDONNELL und RUSSEL, 1999]. Aufgrund ihrer guten mikrobiziden Eigenschaften wird Peressigsäure schon seit vielen Jahren in vielen Bereichen u.a. für die chemothermische Wäschedesinfektion eingesetzt [POTOKAR et al., 1996].

Die mikrobizide Wirkung anderer organischer Persäuren, wie Pernonansäure ist bislang nur wenig erforscht. Nach BALDRY und FRASER [1988] zeigen Perheptansäure und Pernonansäure im Vergleich zu Peressigsäure eine deutlich bessere Wirksamkeit bei äquimolarer Dosierung. OAKES et al. [1993] geben an, daß organische Persäuren bei pH 3,5 eine höhere biozide Aktivität aufwiesen als bei pH 5. Weiterhin konnten sie feststellen, daß Peroctansäure (C₈) gegenüber *E. coli* eine bessere Wirksamkeit zeigte als Perdecansäure (C₁₀), während sich die Wirkung dieser Persäuren auf *St. aureus* genau umgekehrt verhielt. Zudem berichten sie von synergistischen mikrobiziden Effekten bei der Kombination von C₁-C₄ und C₆-C₁₈ Persäuren.

Zur mikrobiziden Wirkung von Phthalimido-peroxo-capronsäure (PAP) liegen z.T. nur unveröffentlichte Angaben von Herstellern vor. REINHARDT [1994b] berichtet von einer besonderen Wirksamkeit der PAP gegenüber *C. albicans*. Er gibt an, daß in Waschmittellösungen mit PAP (7% PAP-Anteil im Waschmittel) als Bleichmittel eine um ca. 2 Zehnerpotenzen bessere Keimabtötung von *C. albicans* erzielt wird als in Waschlaugen, die Perborat als Bleichmittel (10% Perboratanteil im Waschmittel) enthalten. Nach unveröffentlichten Untersuchungsberichten der Fa. Ausimont zeigen 0,1%ige PAP-Lösungen im quantitativen Suspensionsversuch nach EN 1276 gegenüber *P. aeruginosa*, *St. aureus*, *Entc. faecium* und *E. coli* bei Raumtemperatur eine Keimabtötung von mehr als 5 Zehnerpotenzen innerhalb von 5 Minuten [SYNTANA, 2000].

Die Hauptaufgabe aktivierter Bleichmittelsysteme in Waschmitteln ist deren bleichende Wirkung auf farbige Verschmutzungen, die bisher sehr gut untersucht wurde. Demgegenüber wurde die keimabtötende Wirkung aktivierter Bleichmittelsysteme nur wenig untersucht. Einige Studien zur keimabtötenden Wirkung TAED-aktivierter Bleichmittelsysteme sind in Tab. 2-4 zusammengefaßt.

Keim	Temp.	pH	Konzentration (Bleichmittel + Aktivator)	Zeit (min)	RF	Literatur
<i>E. coli</i>	40 °C	Waschlauge	0,05% Perborat + 0,025% TAED	10	> 4	CROUD und GEORGE, 1997
<i>B. subtilis</i>	40 °C	Waschlauge	0,05% Perborat + 0,025% TAED	10	3	
<i>E. coli, St. aureus</i>	25 °C	Waschlauge	0,03% Percarbonat + 0,02% TAED	15	> 6	REINHARDT, 1993
<i>C. albicans</i>	25 °C	Waschlauge	0,03% Percarbonat + 0,02% TAED	15	2,5	
<i>E. coli, St. aureus</i>	40 °C	Waschlauge	0,0375% Perborat + 0,015% TAED	20	5	WARWICK, 2001b
<i>Entc. faecium</i>	40 °C	Waschlauge	0,0375% Perborat + 0,015% TAED	20	4	
<i>E. coli</i>	40 °C	-	2% Perborat + 0,1% TAED	20	>6	WALLHAÜSER, 1995
<i>St. aureus</i>	40 °C	-	2% Perborat + 0,1% TAED	20	6	
<i>C. albicans</i>	40 °C	-	2% Perborat + 0,1% TAED	20	5	
<i>E. coli</i> ATCC 23226	23 °C	10	0,125% Perborat + 0,03% TAED	5	3	STEINHAUER, 1997
	30 °C	10	0,125% Perborat + 0,03% TAED	1	4	
<i>B. subtilis</i> DSM 4181	40 °C	7	0,25% Perborat + 0,08% TAED	40	> 4	MITTERMAYR, 2000
(Sporen)	40 °C	10	0,25% Perborat + 0,08% TAED	40	0	
	30 °C	7	0,125% Perborat + 0,04% NOBS	5	>4	
	30 °C	10	0,125% Perborat + 0,04% NOBS	5	>4	
<i>S. cerevisiae</i> ATCC 18824	40 °C	10	1,0% Perborat + 0,25% TAED	20	> 5	STARK, 1998
			1,0% Perborat + 0,5% TAED	10	>5	

* Die Keimabtötung wurde als Reduktionsfaktor (= $\log K_{E_{T0}} - \log K_{E_{T1}}$) angegeben

Tab. 2-4: Mikroicide Wirkung von aktivierten Bleichsystemen

Die meisten zitierten Autoren ermittelten die Wirkung aktivierter Bleichmittelsysteme in der Waschlauge bzw. unter praxisnahen Bedingungen. CROUD und GEORGE [1997] bestimmten die mikrobizide Wirkung TAED-aktivierter Bleichsysteme unter verschiedenen Waschbedingungen sowohl im Suspensionstest als auch unter Praxisbedingungen in der Waschmaschine und konnten eine signifikante Wirkung des Bleichsystems im Niedrigtemperaturbereich nachweisen. Da die Untersuchungen sehr heterogen sind, lassen sich über einzelne Einflußfaktoren keine Aussagen treffen. Ähnliche Ergebnisse liegen aus Untersuchungen der Fa. WARWICK [2001a] vor, die jedoch zusätzliche Aspekte berücksichtigten. In den Versuchen wurde die Wirkung TAED-aktivierter Waschmittel mit der eines US-amerikanischen Vollwaschmittels, das einen alternativen Bleichmittelaktivator (vermutlich NOBS) enthielt, verglichen und der Einfluß einer Schmutzbelastung auf die mikrobizide Wirksamkeit dieser Systeme untersucht. Nach ihren Ergebnissen zeigten beide Waschmittelformulierungen ohne Schmutzbelastung vergleichbare Wirksamkeit. Unter Schmutzbelastung wiesen TAED-aktivierte Waschmittel in dieser Untersuchung bessere Ergebnisse auf als das US-amerikanische Vollwaschmittel mit einem alternativen Aktivatorsystem. In weiteren Versuchen wurde die mikrobizide Wirkung von unterschiedlichen maschinellen Geschirrspülmittelrezepturen (TAED-haltiges Produkt, Bleichmittelkatalysatorhaltiges Produkt) verglichen. Es zeigte sich, daß das katalysatorhaltige Produkt im Vergleich zum TAED-aktivierten Produkt eine verminderte Wirksamkeit aufwies, die Keimreduktion des katalysatorhaltigen Produktes betrug bei 50°C nach 15 Minuten maximal eine Zehnerpotenz, die des TAED-haltigen Produktes betrug unter denselben Bedingungen 4 Zehnerpotenzen [WARWICK, 2001b].

Umfangreichere Studien zur Keimabtötung von aktivierten Bleichsystemen an ausgewählten Mikroorganismen liegen von STEINHAEUER [1997], STARK [1998] und MITTERMAYR [2000] vor. STEINHAEUER [1997] konnte eine signifikante mikrobizide Wirkung TAED-aktivierter Bleichsysteme auf *E. coli* ATCC 23226 bei Raumtemperatur bzw. 30°C nachweisen, wobei die TAED-Menge das Ergebnis maßgeblich beeinflusste. Eine Abtötung um 5 Zehnerpotenzen wurde bei konstanter Perboratkonzentration von 0,125% und variabler TAED-Konzentration nach 2 Minuten (0,025% TAED) bzw. nach 10 Minuten (0,0125% TAED) erreicht.

Ähnliche Untersuchungen liegen von STARK [1998] vor, der die Wirkung TAED-aktivierter Bleichsysteme auf *S. cerevisiae* ATCC 18824 untersuchte. Seine Ergebnisse zeigten, daß zur Abtötung von *S. cerevisiae* deutlich höhere Konzentrationen an Perborat und TAED oder höhere Temperaturen erforderlich waren. Bei 30°C konnte mit 1% Perborat und 0,2% TAED innerhalb von 25 Minuten kein Abtötungseffekt erzielt werden. Die Versuche bei 40°C zeigten den deutlichen Einfluß der Aktivatormenge auf die Abtötungskinetik des TAED-aktivierten Bleichsystems. Eine Abtötung um mehr als 5 Zehnerpotenzen wurde mit 1% Perborat und 0,25 % TAED nach 20 Minuten erreicht, bei Verdoppelung der TAED-Menge auf 0,5% wurde derselbe Effekt schon nach 10 Minuten erreicht.

MITTERMAYR [2000] bestimmte zusätzlich den Einfluß des pH-Wertes auf die sporizide Wirkung TAED- bzw. NOBS-aktivierter Bleichsysteme anhand der Sporen von *B. subtilis* DSM 4181 im Temperaturbereich zwischen 30°C und 95°C. Die Versuche wurden bei pH 7 und pH 10 durchgeführt. Dabei zeigte sich, daß in den TAED-aktivierten Versuchsansätzen mit pH 7 deutlich bessere Ergebnisse erzielt wurden als in den Vergleichsansätzen mit pH 10. Bei Temperaturen über 60°C führte der Aktivatorzusatz im Versuchsansatz mit pH 10 zu keiner Wirkungssteigerung im Vergleich zur alleinigen Bleichmitteldosierung. In weiteren Versuchen ermittelte MITTERMAYR die Wirkung NOBS-aktivierter Bleichsysteme und konnte mit Dosierungen von 0,125% Perborat und 0,04% NOBS bei 30°C innerhalb von 5 Minuten unabhängig vom pH-Wert eine Abtötung der Sporen um mehr als 4 Zehnerpotenzen nachweisen.

SPRÖSSIG et al. [1977] untersuchten die keimabtötende Wirkung des Bleichmittelaktivators TAGU, der ebenfalls intermediär Peressigsäure freisetzt, und konnten schon bei Dosierungen von 0,05% Perborat und 0,05% TAGU im Temperaturbereich von 30°C bis 60°C eine effektive bakterizide Wirkung nachweisen. Für eine nachweisbare viruzide Wirkung geben die Autoren eine Mindestkonzentration von 0,1% Perborat und 0,1% TAGU und eine Temperatur von 40°C an. Nach WALLHÄUßER [1995] wirken TAGU-aktivierte Bleichsysteme besser als TAED-aktivierte Bleichsysteme. EGGENSPERGER [1979] bestimmte die Desinfektionswirkung verschiedener Desinfektionsmittel auf Basis persäureabspaltender Verbindungen. Er konnte zeigen, daß isoliert hergestellte Peressigsäure gegen Bakterien, Pilze und Sporen wirksamer war als in situ erzeugte Perbernsteinsäure, Perglutar säure und Perbenzoesäure.

3 Testmikroorganismen zur Beurteilung der mikrobiziden Wirkung von Bleichsystemen

Die Auswahl der Testmikroorganismen zur Prüfung der mikrobiziden Wirksamkeit der Bleichsysteme erfolgte unter Berücksichtigung ihrer Bedeutung für die Wäschehygiene und in Anlehnung an die in der Literatur beschriebenen Methoden zur Prüfung der mikrobiziden Wirkung von Desinfektionsmitteln.

3.1 Bakterien

Für die Bestimmung der bakteriziden Wirkung wurden Vertreter aus der Gruppe grampositiver und gramnegativer Bakterien ausgewählt, deren Bedeutung und wesentlichen Eigenschaften nachfolgend beschrieben werden.

Escherichia coli

Die Gattung *Escherichia* gehört zur Familie *Enterobacteriaceae* zu denen u.a. *Salmonella*, *Shigella*, *Klebsiella* und *Yersinia* gehören. Daneben wird *E. coli* zu der Gruppe der coliformen Bakterien zugerechnet. *E. coli* ist ein natürlicher Bewohner des menschlichen und tierischen Darmtraktes, wobei die meisten *E. coli*-Stämme normalerweise für den gesunden Erwachsenen harmlos sind. Einige *E. coli*-Stämme sind jedoch pathogen und verursachen u.a. Lebensmittelinfektionen, starke Diarrhöen bzw. über endogene Infektionen Harnwegsinfektionen und Sepsis (z.B. enteroinvasive *E. coli* (EIEC), enterotoxische *E. coli* (ETEC), enteropathogene *E. coli* (EPEC), enterohämorrhagische *E. coli* (EHEC)). Das Vorkommen von *E. coli* z.B. in Trinkwasser oder Lebensmitteln deutet auf mangelnde Hygiene und fäkale Kontaminationen hin, weshalb *E. coli* als Indikatororganismus bei Hygieneuntersuchungen dient [SCHLEGEL, 1992].

In Untersuchungen aus der Literatur zur Keimflora von Schmutzwäsche und Waschmaschinen konnten immer coliforme Bakterien nachgewiesen werden [GRÜN, 1979; KENNEDY et al., 1999; LEGNANI und LEONI, 1997]. Diese gelangen i.d.R. durch Körperausscheidungen auf die Wäsche (insbesondere Textilien für die Körperhygiene, z.B. Unterwäsche, Waschhandschuhe etc.). Der verwendete Stamm *E. coli* ATCC 11229 wurde in Anlehnung an die DGHM-Methode zur Prüfung chemischer Desinfektionsverfahren ausgewählt [DGHM, 1991].

Eigenschaften: *E. coli* ist ein gramnegatives, aerob und anaerob wachsendes, bewegliches, Katalase-positives und Oxidase-negatives Stäbchen. *E. coli*-Zellen sind durchschnittlich 3 µm

lang und 1 µm breit und vermehren sich unter optimalen Vermehrungsbedingungen sehr rasch. Ihr Temperaturoptimum liegt zwischen 30°C und 37°C, ihr pH-Optimum liegt zwischen pH 6,0 und 7,0, der pH-Toleranzbereich für das Wachstum zwischen pH 4,4 und 9,0. [WALLHÄUßER, 1995; HAHN et al., 1994; SCHLEGEL, 1992]

Enterococcus faecium

Die Gattung *Enterococcus* gehört zur Familie *Deinococcaceae* zu denen u.a. auch die Gattung *Streptococcus* gehört. Früher wurden die beiden relevanten Arten *Entc. faecium* und *Entc. faecalis* unter der Gattung *Streptococcus* subsummiert, seit 1988 werden sie als eigene Gattung geführt. *Entc. faecium* kommt in der physiologischen Darmflora im Darmtrakt von Menschen und Tieren aber auch auf Pflanzen vor und kann als fakultativ pathogener Keim bei immungeschwächten Menschen durch endogene Übertragung Harnwegsinfektionen, Endokarditis oder Sepsis verursachen. Epidemiologisch gewinnen in neuerer Zeit vancomycinresistente *Entc. faecium* (VRE) immer mehr an Bedeutung [TENOVER, 1996]. Ähnlich wie coliforme Bakterien gelangen Enterokokken über Körperausscheidungen auf die Wäsche und konnten in geringer Anzahl auch aus dieser isoliert werden [GRÜN, 1979]. Der verwendete Stamm *Entc. faecium* ATCC 6057 eignet sich wegen seiner hohen Toleranz gegenüber Temperatur und Alkalität zur Prüfung der Desinfektionswirkung und wird in vielen Methoden als Testkeim zur Prüfung von Desinfektionsverfahren vorgeschrieben [DGHM, 1991].

Eigenschaften: *Enterokokken* sind grampositive, aerob und anaerob wachsende, nicht bewegliche Kokken, die einzeln oder in Ketten vorkommen. *Entc. faecium* ist Katalase-negativ und Oxidase-negativ und weist eine hohe Temperatur- und pH-Toleranz auf. *Entc. faecium* wächst zwischen 10°C und 45°C, das Temperaturoptimum liegt bei 37°C, der pH-Toleranzbereich zwischen 4,5 und 9,6. [HAHN et al., 1994; WALLHÄUßER, 1995]

Staphylococcus aureus

Die Gattung *Staphylococcus* gehört zur Familie *Micrococcaceae*. Staphylokokken kommen ubiquitär u.a. in der physiologischen Bakterienflora der Haut vor. *St. aureus* zählt zu den häufigsten Erregern von Wundinfektionen (Eiterungen) und Sepsis. Einige toxinbildende Stämme können Lebensmittelintoxikationen hervorrufen.

Als Keim der Bakterienflora der Haut gelangt *St. aureus* auf die Wäsche und kann dort auch wiedergefunden werden [GRÜN, 1979; LEGNANI und LEONI, 1997]. Aufgrund seiner epidemiologischen Bedeutung wird der Stamm *St. aureus* ATCC 6538 in die Prüfung von Desinfektionsverfahren einbezogen (DGHM, 1991; DIN EN 1276).

Eigenschaften: Staphylokokken sind grampositive, anaerob und aerob wachsende, unbewegliche Haufenkokken. *St. aureus* ist Koagulase- und Katalase-positiv. Der Wachstumsbereich liegt zwischen 7°C und 46°C, das Temperaturoptimum zwischen 30°C und 37°C, der pH-Toleranzbereich zwischen pH 4,4 und 9,8 und das pH-Optimum zwischen 6,5 und 7,3 [WALLHÄUßER, 1995].

Mycobacterium terrae

Die Gattung *Mycobacterium* gehört zur Familie der *Mycobacteriaceae*. Einige Mycobakterien-Arten besitzen humanpathogene Bedeutung, insbesondere *M. tuberculosis*, der Erreger der Tuberkulose. *M. tuberculosis* kommt natürlicherweise nur beim Menschen vor, kann aber auch durch Tiere übertragen werden. Der Erreger kann über Sputum, Urin oder Stuhl ausgeschieden werden, die Übertragung erfolgt i.d.R. über respiratorische Aerosole. Mycobakterien sind

ausgeprägt widerstandsfähig gegenüber äußeren Einflüssen aufgrund des hohen Lipidanteils in der Zellwand. In der Zellwand sind u.a. Mycolsäuren (langkettige gesättigte Fettsäuren mit 60-90 C-Atomen) enthalten.

Wegen der hohen Pathogenität von *M. tuberculosis* wird zur Bestimmung der tuberkuloziden Wirkung von Desinfektionsverfahren als Ersatz *M. terrae* ATCC 15755 eingesetzt [DGHM, 1991; HINGST et al., 1990; RKI, 1997]. *M. terrae* zählt zu den langsamwachsenden atypischen (d.h. nicht tuberkuloseerregenden) Mycobakterien.

Eigenschaften: *M. terrae* ist ein schwach grampositiv reagierendes, obligat aerobes, unbewegliches, nicht sporenbildendes, Katalase-positives Stäbchen. Die Zellwände von *M. terrae* sind sehr lipidreich und säurefest. *M. terrae* hat eine hohe Generationszeit und wächst bei 37°C optimal, Wachstumsbereich 25°C-37°C, pH-Optimum pH 6,5 – 7,0.

3.2 Hefen und Schimmelpilze

Für die Ermittlung der fungiziden Wirkung von Bleichsystemen wurden stellvertretend eine Hefe und ein Schimmelpilz ausgewählt. Dermatophyten wurden nicht in die Untersuchung mit einbezogen.

Candida albicans

Die Gattung *Candida* zählt zu den asporogenen imperfekten Sproßpilzen und besiedelt als Kommensale häufig den Orogastrointestinaltrakt des Menschen. Die pathogene Species *C. albicans* kann aber auch die Haut, Hautanhangsgebilde und die Schleimhäute befallen oder in den Blutstrom eindringen und zu schwersten Erkrankungen der inneren Organe führen (Candidose). Über die Haut und über Ausscheidungen (Stuhl) von meist erkrankten Personen gelangt *C. albicans* auf Textilien und wird als Ursache für rezidivierende Candidosen gesehen [OSSOWSKI und DUCHMANN, 1997 u. 1999; SCHÖNBORN und SCHUHMANN, 1973]. Der verwendete Stamm *C. albicans* ATCC 10231 wird u.a. für die Prüfung der chemothermischen Wäschedesinfektion eingesetzt [DGHM, 1998].

Eigenschaften: *C. albicans* wächst aerob und anaerob und bildet weiße, glatte, leicht gewölbte Kolonien, Katalase-positiv [HAHN et al. 1994].

Aspergillus niger

Die Gattung *Aspergillus* zählt zu den *Deuteromycetes* also den *Fungi imperfecti* und gehört zur Familie der *Moniliaceae*. Der Schimmelpilz *A. niger* bildet schwarze Konidien, die der Pilzkolonie die typische Färbung und der Species ihren Beinamen „niger“ verleihen. *A. niger* kommt ubiquitär vor und ist ein Schaderreger an organischen Materialien. Auf Textilien kann er zu sog. Stockflecken führen, weshalb der verwendete Stamm *A. niger* DSM 1957 auch für die Bestimmung der Widerstandsfähigkeit von Textilien gegen Schimmelpilze verwendet wird [DIN 53931]. *A. niger* kann beim Menschen allergische Aspergillosen und sog. Otomykosen (Infektionen des äußeren Ohres) hervorrufen [HAHN et al., 1994].

Eigenschaften: *A. niger* bildet schwarze Konidien mit einem Durchmesser von meist 4,0 µm – 5,0 µm. *A. niger* wächst zwischen 6°C und 47°C, das Wachstumsoptimum liegt zwischen 35°C und 37°C, der pH-Toleranzbereich zwischen pH 1,5 und 9,8, Katalase-positiv [REIß, 1997].

3.3 Bakterienviren

Viren sind obligate intrazelluläre Parasiten und von den StoffwechsellLeistungen ihrer Wirtszellen abhängig. Sie kommen ubiquitär dort vor, wo ihre Wirtszellen anzutreffen sind. Humanviren verursachen eine Reihe von Infektionskrankheiten beim Menschen. Humanviren werden u.a. über Kontakt-, Schmier-, Tröpfchen- oder Aerosolinfektionen übertragen und können somit in die Umwelt, d.h. auch auf die Wäsche gelangen. Die Bedeutung der Wäschehygiene bei der Übertragung von Viruserkrankungen ist nicht geklärt. Eine mögliche Beteiligung der Wäsche bei der Übertragung von Hepatitisserkrankungen wird in einer Veröffentlichung des Centers for Disease Control nicht ausgeschlossen [CFDC, 1977].

Die Prüfung der viruziden Wirkung wurde in diese Untersuchung mit einbezogen, um das gesamte Wirkungsspektrum der Bleichsysteme zu erfassen. Dabei wurden als Testviren Bakteriophagen eingesetzt, da die Verwendung von Humanviren sehr aufwendige Kulturverfahren und Schutzmaßnahmen erfordert. Bakteriophagen werden zur Bestimmung der viruziden Wirkung von Desinfektionsmitteln eingesetzt [DIN EN 13610].

Für die Versuche wurden aus der Gruppe der Coliphagen ein DNA-Phage und ein RNA-Phage ausgewählt, deren wesentlichen Eigenschaften nachfolgend kurz beschrieben sind.

Phage PhiX174

Der Phage PhiX174 ist ein einzelsträngiger DNA-Coliphage mit einem eikosaederförmigen Kapsid und einem Durchmesser von ca. 25 nm. Das ringförmige DNA-Molekül hat eine Länge von 5386 Nukleotiden.

Phage MS2

Der Phage MS2 ist ein einzelsträngiger, hydrophiler RNA-Coliphage mit einem eikosaederförmigem Kapsid und einem Durchmesser von ca. 26 nm. Das Genom des RNA-Phagen ist 3569 Nucleotide lang [KLAUS et al., 1992].

4 Material und Methoden

4.1 Testkeime, Testphagen und mikrobiologische Methoden

4.1.1 Mikroorganismenstämme

Als Testkeime wurden folgende Stämme verwendet:

gramnegative Bakterien

Escherichia coli **ATCC 11229** entspricht DSM 787

grampositive Bakterien

Enterococcus faecium **ATCC 6057** entspricht DSM 2146

Staphylococcus aureus **WS 2286** entspricht ATCC 6538 bzw. DSM 799

Mycobacterium terrae **ATCC 15755** entspricht DSM 43227

Hefen

Candida albicans **ATCC 10231** entspricht DSM 1386

Schimmelpilze

Aspergillus niger **DSM 1957** entspricht ATCC 6275

4.1.2 Bakteriophagenstämme und dazugehörige Wirtsstämme

Als Testphagen und Wirtsbakterien wurden folgende Stämme verwendet:

Phage		Wirt	
PhiX174	DSM 4497, entspricht ATCC 13706-B1	<i>Escherichia coli</i>	DSM 13127
MS2	DSM 5694, entspricht ATCC 15597-B1	<i>Escherichia coli</i>	DSM 5695

4.1.3 Nährmedien und Verdünnungsmedien

Die verwendeten Nährmedien zur Anzucht bzw. Lebendkeimzahlbestimmung sind in Tab. 4-1 für alle Mikroorganismen dargestellt. Alle Nährmedien wurden mit H_2O_{dest} hergestellt und bei 121°C 20 Minuten autoklaviert.

Nährmedium	Hersteller/ Artikelnummer	Verwendung
Caseinpepton-Sojamehlpepton-Lösung (CaSo-Lösung)	OXOID/CM 129	Flüssigkultivierung von <i>E. coli</i> spp. <i>Entc. faecium</i> <i>St. aureus</i>
Caseinpepton-Sojamehlpepton-Nährboden (CaSo-Agar)	OXOID/CM 131	Bestimmung des Phagentiters
Caseinpepton-Sojamehlpepton-Weichagar	¹⁾	Bestimmung des Phagentiters
Bierwürze-Pepton-Nährboden (Malzextrakt-Agar)	OXOID/CM 59	Kultivierung bzw. Koloniezählbestimmung von <i>C. albicans</i> <i>A. niger</i>
Middlebrook 7H10-Nährboden + Middlebrook OADC Enrichment	Difco/262710 BBL/211886	Kultivierung und Kolonie- zählbestimmung von <i>M. terrae</i>
Plate-Count-Nährboden (PC-Agar)	OXOID CM 325	Kultivierung bzw. Kolonie- zählbestimmung von <i>E. coli</i> <i>Entc. faecium</i> <i>C. albicans</i> <i>St. aureus</i>
1/15 M Sørensen-Phosphatpuffer	²⁾	Verdünnungs- und Suspensionsmedium

¹⁾ Herstellung: Zusatz von 0,6% Agar-Agar zu einer CaSo-Lösung, unter Rühren aufkochen lassen und anschließend autoklavieren

²⁾ Herstellung durch Mischen von einer 1/15 M KH_2PO_4 -Lösung mit einer 1/15 M Na_2HPO_4 -Lösung und Einstellen des pH-Wertes auf 7,0

Tab. 4-1: Nährmedien zur Kultivierung der Testkeime

4.1.4 Kultivierung und Herstellung der Keim- bzw. Phagensuspensionen

Zur Herstellung der Keimsuspensionen wurden aus den Stammkulturen Subkulturen angelegt und aus diesen die Gebrauchskulturen bzw. die Keimsuspensionen gewonnen.

4.1.4.1 Anzucht der Teststämme

Für die Anzucht der Subkultur wurde aus der jeweiligen Stammkultur eine Einzelkolonie durch Verdünnungsausstrich auf den entsprechenden Nähragar überimpft und unter den in Tab. 4-2 angegebenen Bedingungen bebrütet.

Keim	Nährboden	Temperatur/Bebrütungsdauer
<i>E. coli</i> spp.	PC-Agar	37°C/ 24 h
<i>Entc. faecium</i>	PC-Agar	37°C/ 24 h
<i>St. aureus</i>	PC-Agar	37°C/ 24 h
<i>M. terrae</i>	Middlebrook-Agar	37°C/ 21 d
<i>A. niger</i>	Malzextrakt-Agar	30°C/ 5 d
<i>C. albicans</i>	Malzextrakt-Agar	30°C/ 72 h

Tab. 4-2: Kultivierungsbedingungen für die Subkulturen

Die Gebrauchskulturen wurden aus Subkulturen der 3. bis 6. Passage gewonnen. Aufgrund der langen Bebrütungsdauer von *M. terrae* wurde die Gebrauchskultur bereits aus der 1. Subkultur gewonnen.

4.1.4.2 Gewinnung der Keimsuspensionen

Die Keimsuspensionen (=Basissuspension) wurden nach Bedarf für den einmaligen Einsatz angelegt und die ausreichende Keimzahl wie unter Punkt 4.1.5 beschrieben kulturell überprüft.

E. coli , *Entc. faecium* und *St. aureus*

Für die Gewinnung der Gebrauchskultur von *E. coli* bzw. *Entc. faecium* bzw. *St. aureus* wurde aus der Subkultur eine Einzelkolonie in 300 ml CaSo-Lösung überimpft und 24 h bei 37°C im Wasserbad inkubiert. 30 ml dieser Gebrauchskultur wurden 15 min bei 10.000xg zentrifugiert, der Überstand wurde verworfen und das erhaltene Sediment in 10 ml 1/15 M Sørensen-Phosphatpuffer resuspendiert. Die zu erwartende Keimzahl dieser Basissuspension lag bei 10⁹ KbE/ml.

M. terrae

Für die Gewinnung der Mycobakterien-Suspension wurde der Rasen der Subkultur mit 5 ml 1/15 M Sørensen-Phosphatpuffer mit einem sterilen Glasspatel abgeschwemmt und zweimal durch Zentrifugieren (15 min bei 3.000xg) und Wiederaufnahme (Resuspension) im gleichen Puffervolumen gewaschen. Die gewaschene Bakteriensuspension wurde durch Schütteln mit

ca. 5 Glasperlen (Durchmesser: ca. 5 mm) pro 5 ml homogenisiert. Die nicht suspendierbare Fraktion setzte sich am Boden ab und für die Versuche wurde der Überstand verwendet. Die zu erwartende Keimzahl dieser Basissuspension betrug ca. 10^7 KbE/ml.

C. albicans

Für die Herstellung der Basissuspension von *C. albicans* wurde der Keimrasen der Subkultur mit 5-10 ml 1/15 M Sørensen-Phosphatpuffer unter Verwendung von 5 Glasperlen (Durchmesser ca. 5 mm) pro Platte abgeschwemmt, in ein steriles Reagenzglas überführt und durch Schütteln eine homogene Suspension gewonnen. Die zu erwartende Keimzahl der Basissuspension betrug ca. 10^7 - 10^8 KbE/ml.

A. niger

Zur Gewinnung der Konidiensuspension von *A. niger* wurde der Schimmelrasen der Subkultur mit einem Teelöffel sterilem Seesand überschichtet und in der geschlossenen Petrischale vorsichtig geschüttelt. Der Seesand von 2-3 Petrischalen wurde in 50 ml 1/15 M Sørensen-Phosphatpuffer (mit Zusatz von 0,1% Tween 80®, Fa. MERCK, 8.22187) überführt und durch starkes Schütteln im Medium verteilt. Nachdem der Sand sich am Boden abgesetzt hatte, wurde der Überstand als Konidiensuspension verwendet. Die zu erwartende Keimzahl der Konidiensuspension betrug ca. 10^7 KbE/ml.

Bakteriophagen

Für die Gewinnung der Phagensuspension wurden 0,1 ml der Phagenstammkultur mit 0,2 ml einer 24 h CaSo-Lösung-Kultur des Wirtsbakteriums vermischt und nach 10 Minuten Standzeit mit 10 ml CaSo-Lösung aufgefüllt und bei 37°C bis zur Lyse der Bakterien bebrütet (ca. 2- 7 h). Nachdem der Ansatz klar geworden war, wurde er durch ein 0,2 µm Einmalmembranfilter (Minisart® Fa. SARTORIUS) filtriert. Der zu erwartende Phagentiter der Phagensuspension lag zwischen 10^9 und 10^{10} PFU/ml. Die hergestellte Basisphagensuspension konnte über mehrere Wochen gelagert und verwendet werden.

4.1.5 Bestimmung der Lebendkeimzahl

Die Bestimmung der Lebendkeimzahl erfolgte mit Ausnahme von *A. niger* nach dem Koch'schen Plattengußverfahren durch Anlegen von dezimalen Verdünnungsreihen und Ausplattieren von 1 ml der jeweiligen Verdünnungsstufe mit geschmolzenem Nährboden. Als Verdünnungsmedium wurde 1/15 M Sørensen-Phosphatpuffer verwendet.

Die Keimzahl von *A. niger* wurde durch Oberflächenkultur bestimmt, indem 0,1 ml der jeweiligen Verdünnungsstufe mit einem sterilen Drigalski-Spatel auf der Oberfläche des Nährbodens ausgespatelt wurden.

Als Nährboden für die Keimzahlbestimmung wurde in den meisten Fällen ein Vollmedium gewählt. Auf diesem können auch subletal geschädigte Mikroorganismen regenerieren und werden somit bei der Keimzahlbestimmung als lebende Keime erfaßt. Die verwendeten Nährböden und Inkubationsbedingungen für die einzelnen Mikroorganismen sind in Tab. 4-3 aufgeführt.

Testmikroorganismus	Nährboden	Methode	Inkubationsbedingungen Temperatur / Zeit
<i>E. coli</i>	PC-Agar	Gußkultur	37°C/24 h (48 h)
<i>Entc. faecium</i>	PC-Agar	Gußkultur	37°C/48 h (72 h)
<i>St. aureus</i>	PC-Agar	Gußkultur	37°C/24 h (48 h)
<i>M. terrae</i>	Middlebrook-Agar mit OADC-Enrichment	Gußkultur	37°C/21 d
<i>C. albicans</i>	PC-Agar	Gußkultur	30°C/72 h (96 h)
<i>A. niger</i>	Malzextrakt-Agar	Spatelverfahren	25°C/3-5 d

Tab. 4-3: Kultivierungsbedingungen zur Bestimmung der Lebendkeimzahl

Am Ende der Bebrütungszeit wurden die nicht auszählbaren Platten verworfen und die Platten mit auszählbaren Kolonien ausgewertet. Nach dem Auszählen wurden die verwertbaren Platten weitere 24 – 48 h bebrütet und erneut ausgezählt. Zur Berechnung der Lebendkeimzahl wurden nur Platten mit Koloniezahlen zwischen 15 und 300 KbE verwendet. Pro Verdünnungsstufe wurden 3 Parallelen angesetzt und aus den auswertbaren Platten der arithmetische Mittelwert gebildet und die Keimzahl in KbE/ml angegeben.

4.1.6 Bestimmung des Phagentiters

Die Bestimmung des Phagentiters erfolgte nach der Doppelschichtagar-Methode. Dazu wurde von den Wirtsbakterien eine 24 h-Kultur bei 37°C in CaSo-Lösung inkubiert. Aus der Phagensuspension wurden dezimale Verdünnungsreihen angelegt und 0,1 ml der entsprechenden Verdünnung mit 5 ml geschmolzenem Weichagar, der in Reagenzgläsern bei 45°C im Wasserbad gehalten wurde, und 0,1 ml der Wirtsbakterienkultur vermischt. Anschließend wurde dieser Weichagar auf einer CaSo-Agar-Platte gleichmäßig ausgegossen. Von jeder Verdünnung wurden 2 Parallelen angesetzt und bei 37°C 24 h bebrütet. Am Ende der Bebrütungsdauer wurde die Anzahl der gebildeten Plaques pro Platte gezählt. Für die Bestimmung des Phagentiters wurden nur Platten deren Anzahl der Plaques zwischen 15 und 150 lagen verwendet und aus den auswertbaren Platten der arithmetische Mittelwert gebildet. Die Angabe des Phagentiters erfolgte in PFU/ml (plaque forming unit = plaque-bildende Einheit).

4.2 Reagenzien und analytische Methoden

4.2.1 Bleichmittel, Bleichmittelaktivatoren und Bleichmittelkatalysatoren

Alle in dieser Arbeit verwendeten Bleichmittel, Bleichmittelaktivatoren und Bleichmittelkatalysatoren wurden, falls nicht anders gekennzeichnet, von der Fa. Henkel zur Verfügung gestellt und sind nachfolgend aufgelistet.

Der Aktivsauerstoffgehalt der Bleichmittel wurde in Vorversuchen jodometrisch bestimmt und in regelmäßigem Abstand überprüft. Es konnte eine ausreichende Stabilität der Bleichmittel nachgewiesen werden. Die Dosierung der Bleichmittel erfolgte als Festsubstanz in Gewichtsprozent bzw. bei flüssigen Bleichmitteln als Volumenprozent pro Volumeneinheit.

(1) Bleichmittel

Bleichmittel	Wirkstoffgehalt (in 100% Reinsubstanz)	Herkunft
Natriumperborat-Monohydrat (PB), kristallines Pulver, > 99%	ca. 14,6 % Aktivsauerstoff	Fa. HENKEL, Düsseldorf
Natriumpercarbonat (PC), kristallines Pulver, > 99%	ca. 13,2 % Aktivsauerstoff	Fa. HENKEL, Düsseldorf
Phthalimido-peroxo-capronsäure (PAP), granuliert, ca. 70% Handelsname: EURECO®	ca. 5,8% Aktivsauerstoff	Fa. SYNTANA, Mühlheim an der Ruhr
Natriumhypochlorit-Lösung (NaOCl)	ca. 11,9 % Aktiv-Chlor	MERCK, 1.05614
Peressigsäure (PES), ca. 40%	ca. 21,5 % Aktivsauerstoff	MERCK, 1.07222

(2) Bleichmittelaktivatoren

Bleichmittelaktivator	Aktivsauerstoffgehalt (theoretisch)	Herkunft
Tetraacetylenylendiamin (TAED), kristallin	ca. 14,2 %	Fa. HENKEL, Düsseldorf
Natrium-Nonanoyloxybenzolsulfonat (NOBS), kristallin	ca. 5,0 %	Fa. HENKEL, Düsseldorf

(3) Bleichmittelkatalysator

Bleichmittelkatalysator	Herkunft
MnTACN (12,3% Mn)	Fa. HENKEL, Düsseldorf

4.2.2 Puffermedien und Herstellung der Bleichlösungen

Um den Einfluß des pH-Wertes zu untersuchen, mußten die Versuche in gepufferten Lösungen durchgeführt werden, da die eingesetzten Bleichmittel in wäßriger Lösung eine pH-Änderung bewirkten. Die ausgewählten Puffer sollten folgende Anforderungen erfüllen:

- hohe Pufferkapazität
- keine Beeinflussung der Mikroorganismen durch das Puffermedium
- keine Reaktion des Puffermediums mit den Bleichsystemen (= keine Wirkstoffzehrung)
- keine Beeinflussung des Puffers durch den Autoklavierprozeß

In Vorversuchen wurden verschiedene Pufferlösungen auf ihre Eignung getestet. Dazu wurde erst die Pufferkapazität von verschiedenen Pufferlösungen bestimmt, indem die maximal verwendete Konzentration des Bleichsystems zu den Pufferlösungen dosiert wurde und der pH-

Wert der Lösung bestimmt wurde. Anschließend wurde untersucht, ob die Pufferlösungen die Mikroorganismen beeinflussten. Hierfür wurde 1 ml der Bakteriensuspension zu 99 ml Pufferlösung zugegeben und 60 Minuten bei Raumtemperatur stehen gelassen. Es zeigte sich, daß höherkonzentrierte Puffersysteme die Mikroorganismen schädigten, weshalb eine verringerte Pufferkapazität in Kauf genommen wurde. Bei niedrigen Bleichmitteldosierungen (bis 0,2%) wich der eingestellte pH-Wert in den ausgewählten Pufferlösungen maximal um +/- 0,3 pH-Einheiten vom Sollwert ab. Die Messung der pH-Werte erfolgte soweit nicht anders vermerkt bei einer Temperatur von 22°C (+/- 2°C) mit einem Präzisions-pH-Meter (Fa. WTW, Typ pH 531) mittels einer Standard-Einstabmeßkette (METTLER, InLab 406).

Weiterhin wurde bestimmt, inwieweit eine Wirkstoffzehrung der Bleichsysteme durch die Puffersubstanzen stattfindet. Dazu wurden 0,1 g des Bleichmittels in 100 ml Pufferlösung gelöst und nach einer Reaktionszeit von 0 min und 40 min wurde der Aktivsauerstoffgehalt der Lösung jodometrisch ermittelt. Es zeigte sich, daß in den ausgewählten organischen Trispufferlösungen mit Zusatz von NaOCl bzw. Peressigsäure ein Verlust von Aktivsauerstoff bzw. Aktivchlor auftrat. Deshalb wurde für diese Bleichmittel ein weiteres anorganisches Puffersystem in die Untersuchungen aufgenommen.

Die Pufferlösungen wurden vor der Herstellung der Bleichlösung autoklaviert. Durch den Autoklavierprozeß änderte sich der pH-Wert der Pufferlösungen um +/- 0,1 pH-Einheiten. Des weiteren mußte die temperaturabhängige pH-Änderung der Puffer in Kauf genommen werden. Da die meisten Versuche zwischen 30°C und 40°C durchgeführt wurden, bewegte sich die pH-Änderung innerhalb des Toleranzbereiches.

Für die Versuchsansätze wurden die in Tab. 4-4 aufgeführten Puffersysteme eingesetzt.

pH-Wert	Molarität und Puffersystem	Herstellung
pH 7	0,14 M Sørensen-Phosphatpuffer	19,05 g KH_2PO_4 ad 1000 ml $\text{H}_2\text{O}_{\text{dest}}$ 19,87 g Na_2HPO_4 ad 1000ml $\text{H}_2\text{O}_{\text{dest}}$ Mischen beider Lösungen und Einstellen des pH-Wertes auf 7,00
pH 9	0,14 M Trispuffer/HCl	16,96 g Tris(hydroxymethyl)-aminomethan (MERCK, 1.08382) ad 1000 ml $\text{H}_2\text{O}_{\text{dest}}$ Einstellen des pH -Wertes auf pH 9,00 mit 0,1 N HCl
pH 10 [T]	0,14 M Trispuffer/HCl	16,96 g Tris(hydroxymethyl)-aminomethan (MERCK, 108382) ad 1000 ml $\text{H}_2\text{O}_{\text{dest}}$ Einstellen des pH -Wertes auf pH 10,00 mit 0,1 N HCl
pH 10 [C]	0,05 M Carbonat-Puffer/NaOH	4,20 g NaHCO_3 ad 1000 ml $\text{H}_2\text{O}_{\text{dest}}$ Einstellen des pH-Wertes auf pH 10,00 mit 0,1 N NaOH
pH 11	0,14 M Na_2HPO_4 -Puffer/NaOH	19,87 g Na_2HPO_4 ad 1000 ml $\text{H}_2\text{O}_{\text{dest}}$ Einstellen des pH-Wertes auf pH 11,00 mit 0,1 N NaOH

Tab. 4-4: Puffermedien für die Versuchsansätze

Die Bleichlösungen wurden hergestellt, indem unmittelbar vor Versuchsbeginn die abgewogenen Bleichmittel bzw. Bleichmittelaktivatoren in 99 ml der jeweiligen sterilen Pufferlösung in Babyflaschen zudosiert und unter kräftigem Schütteln gelöst wurden. Die Zugabe des Bleichmittelkatalysators konnte nicht in fester Form erfolgen, da die eingesetzten Mengen des Katalysators sehr gering waren. Deshalb wurde vom Katalysator eine 0,018%ige

Lösung hergestellt und aus dieser Lösung 10 µl in 99 ml des jeweiligen Puffermediums zudosiert. Dies entsprach einer effektiven Konzentration des Bleichmittelkatalysators in der Bleichlösung von 0,00018%. Bei der Versuchsdurchführung mußte darauf geachtet werden, daß im Versuch keine Bleichmittelrückstände oberhalb des Flüssigkeitsspiegels an der Glaswand der Babyflaschen haften blieben.

4.2.3 Inaktivierung der Bleichsysteme durch Enthemmer

Um eine weitere Reaktion der Bleichmittel nach Versuchsende ausschließen zu können und zur Ausschaltung antimikrobieller Nachwirkungen, mußten die Bleichsysteme inaktiviert werden. Die untersuchten Bleichsysteme setzen als bleichwirksames Agens H_2O_2 und organische Persäuren frei. Die Enthemmersubstanzen sollten die Bleichmittel inaktivieren und in möglichst geringer Volumendosierung wirksam sein.

Zur Inaktivierung des H_2O_2 eignet sich das Enzym Katalase, das Wasserstoffperoxid zu Wasser und molekularem Sauerstoff zersetzt. Die Katalase gehört zu den aktivsten Enzymen und zeichnet sich durch eine sehr hohe Umsatzrate aus. Ausgehend von der maximal zu erwartenden Konzentration an H_2O_2 wurde in Vorversuchen die benötigte Menge der Katalase ermittelt. Dazu wurde von der Bleichmittellösung mit der höchsten Konzentration (1,0 %) eine 1:10-Verdünnung angelegt und diese mit verschiedenen Mengen Katalase (10 µl, 20 µl, 50 µl und 100 µl) versetzt. Die Zersetzung des H_2O_2 wurde zuerst mittels Teststreifen (MERCK, 1.1001, Nachweisgrenze 0,5 mg/l) überprüft und anschließend mit 20%iger Schwefelsäure angesäuert und mit einer Spatelspitze KJ versetzt. Blieb die Lösung klar, so war der ganze Aktivsauerstoff zersetzt, eine auftretende Gelbfärbung deutete auf eine unzureichende Inaktivierung hin.

Zur Inaktivierung organischer Persäuren und anderer Oxidationsmittel eignet sich Natriumthiosulfat als Enthemmungs-(Inaktivierungs-)mittel. Ausgehend von der maximal zu erwartenden Konzentration an Aktivsauerstoff aus organischen Persäuren wurde in Vorversuchen die benötigte Menge Natriumthiosulfat bestimmt. Dazu wurde von der Bleichmittel-/Aktivatorlösung mit der höchsten Konzentration (1,0%:0,2%) eine 1:10-Verdünnung angelegt und diese mit 20 µl Katalase und verschiedenen Mengen einer 1 M Natriumthiosulfatlösung (100 µl, 200 µl, 500 µl) versetzt. Die Zersetzung der Peressigsäure wurde zuerst mittels Teststreifen (MERCK, 1.10084, Nachweisgrenze 5 mg/l) überprüft. Anschließend wurde die Lösung mit 20%iger Schwefelsäure angesäuert und mit einer Spatelspitze KJ versetzt. Blieb die Lösung klar, so war der ganze Aktivsauerstoff zersetzt, eine auftretende Gelbfärbung deutete auf eine unzureichende Inaktivierung hin.

Aus den Ergebnissen der Vorversuche ergaben sich folgende Dosierungen für die Enthemmungsmittel:

Enthemmersubstanz	Dosierung	Hersteller/Artikelnummer
Katalase (aus Rinderleber) Aktivität 1.300.000 U/ml [†]	20 µl in 9 ml Verdünnungsmittel	MERCK/1.05185
1M Natriumthiosulfatlösung (sterilfiltriert)	200 µl in 9 ml Verdünnungsmittel	-

[†]Die Sterilität der eingesetzten Katalase wurde regelmäßig überprüft.

Tab. 4-5: Enthemmungsmittel und Dosierung

In weiteren Vorversuchen konnte nachgewiesen werden, daß die Enthemmung ausreichend war und die Enthemmersubstanzen das Mikroorganismenwachstum nicht beeinflussten. Dazu wurden 99 ml der Bleichlösung mit den Enthemmungsmitteln versetzt und im Anschluß 1 ml der Keimsuspensionen bzw. Phagensuspensionen zugegeben und 30 min bei Raumtemperatur stehen gelassen. In einem zweiten Ansatz wurde 1 ml der Keim- bzw. Phagensuspension in 99 ml 0,14 M Sørensen-Phosphatpuffer zugegeben und ebenfalls 30 min bei Raumtemperatur belassen. Nach 30 min wurde aus beiden Ansätzen die Keimzahl bzw. der Phagentiter bestimmt. Die ermittelten Keimzahlen bzw. Phagentiter der beiden Ansätze waren nicht signifikant verschieden.

4.2.4 Belastungssubstanzen

Schmutzbelastungen (z.B. Proteine) können die Wirkung eines mikrobiziden Wirkstoffes erheblich beeinträchtigen. Um mögliche Wirkstoffzehrungen durch Schmutzbelastungen zu untersuchen, wurde als Modellsubstanz lyophilisiertes Rinderalbumin (SERVA, 11930) gewählt, um damit den sog. Eiweißfehler zu bestimmen. Für die Versuche wurde gemäß EN 1276 eine hohe Belastung von 0,3% Rinderalbumin eingesetzt.

4.3 Bestimmung der Abtötungswirkung in Abhängigkeit von der Temperatur, vom pH-Wert und vom Bleichsystem im quantitativen Suspensionsversuch

4.3.1 Ermittlung der thermischen und pH-abhängigen Abtötungskurven

In Vorversuchen wurde der Einfluß des pH-Wertes auf die thermische Abtötung von *E. coli*, *Entc. faecium*, *St. aureus*, *M. terrae* und *C. albicans* im Temperaturbereich zwischen 50°C und 65°C untersucht. Die Versuche wurden in thermostat-temperierten¹ Wasserbädern durchgeführt. 1 ml der jeweiligen Keimsuspension wurde mit 99 ml der vorerwärmten sterilen Pufferlösung in Babyflaschen zugegeben. Nach dem Durchmischen wurde aus dem Versuchsansatz in bestimmten Zeitintervallen (5, 10, 20 und 40 Minuten) 1 ml entnommen und zu 9 ml einer gekühlten Inaktivierungslösung gegeben. Die Bestimmung der Keimzahl bzw. des Phagentiters erfolgte wie unter 4.1.5 bzw. 4.1.6 beschrieben.

4.3.2 Ermittlung der thermischen und pH-abhängigen Abtötungskurven mit Zusatz von Bleichmitteln und Bleichmittelsystemen

In diesen Versuchsreihen wurde die pH-abhängige Wirkung der Bleichmittel bzw. Bleichmittelsysteme auf die unter 3.1.1 und 3.1.2 aufgeführten Mikroorganismen bei verschiedenen Temperaturen von 30°C bis 60°C untersucht. Die Dosierung der jeweiligen Bleichmittel bewegte sich zwischen 0,1 % und 1,0 % und diejenige der Bleichmittelaktivatoren zwischen 0,01 % und 0,2 %. Die Konzentration des Bleichmittelkatalysators betrug 0,00018 %. Zusätzlich wurde noch das Verhältnis zwischen Bleichmittel und Aktivator variiert von 1:1 bis 10:1.

Alle Versuche wurden in thermostat-temperierten¹ Wasserbädern durchgeführt. 1 ml der jeweiligen Keimsuspension wurde mit 99 ml der vorerwärmten sterilen Pufferlösung in Babyflaschen vermischt und sofort das jeweilige Bleichsystem in entsprechenden Konzentrationsverhältnissen zudosiert. Nach dem Durchmischen wurde aus dem

¹ Die Einhaltung der Temperatur (+/- 0,5°C) im Wasserbad wurde regelmäßig kontrolliert.

Versuchsansatz in bestimmten Zeitintervallen (5, 10, 20 und 40 Minuten) 1 ml entnommen und zu 9 ml der Inaktivierungslösung gegeben. Durch leichtes Schütteln wurde der physikalisch gelöste Sauerstoff aus der Verdünnung ausgeschüttelt und aus dieser die Keimzahl bzw. der Phagentiter wie unter 4.1.5 und 4.1.6 beschrieben bestimmt.

Jeder Versuchsansatz wurde mindestens 3 mal durchgeführt. Wurde bei gleichen Versuchsansätzen eine Differenz der Überlebenskeimzahlen von $|\log KbE| > 1$ überschritten, mußte der Versuch wiederholt werden. Aus den Ergebnissen der Einzelversuche wurde der arithmetische Mittelwert berechnet.

Für einige ausgewählte Bleichsystemdosierungen wurde die Wirkung unter Eiweißbelastung untersucht. Dazu wurde zu Beginn der Versuche 0,3 g Rinderalbumin in 99 ml der sterilen Pufferlösungen gelöst und die Versuche wie oben beschrieben durchgeführt.

4.3.3 Ermittlung der D- und z-Werte und Reduktionsfaktoren

Zur Charakterisierung und Beurteilung der Wirksamkeit verschiedener keimvermindernder Verfahren hat sich u.a. die Bestimmung der D-Werte, der z-Werte und der Reduktionsfaktoren bewährt [KRÄMER, 1997].

D-Wert

Der D-Wert gibt die Zeit in Minuten an, die bei einer bestimmten Temperatur erforderlich ist, um die Ausgangskeimzahl einer Mikroorganismenpopulation um eine Zehnerpotenz zu reduzieren. Der D-Wert kann sowohl grafisch als auch rechnerisch ermittelt werden. Trägt man die Anzahl der überlebenden Keime logarithmisch in Abhängigkeit von der Erhitzungsdauer auf, so erhält man die Abtötungsgerade aus der der D-Wert bestimmt werden kann. Rechnerisch wird der D-Wert nach folgender Gleichung berechnet:

$$D = \frac{t}{\log a - \log b}$$

a = Keimzahl zum Zeitpunkt t_0
 b = Überlebenskeimzahl zum Zeitpunkt t_1
 t = Erhitzungsdauer ($t_1 - t_0$)

z-Wert

Der z-Wert gibt die Temperaturerhöhung in °C an, die notwendig ist, um den D-Wert auf 1/10 zu reduzieren. Analog zum D-Wert kann der z-Wert grafisch bestimmt werden indem man die D-Werte logarithmisch über die Temperatur aufträgt und aus der Geraden den z-Wert bestimmt. Der z-Wert errechnet sich nach folgender Gleichung:

$$z = \frac{T_1 - T_2}{\log D_2 - \log D_1}$$

D_1 = D-Wert bei der höheren Temperatur T_1
 D_2 = D-Wert bei der niedrigeren Temperatur T_2

Reduktionsfaktor

Um quantitative Aussagen über die Abtötungswirkung eines Verfahrens zu erhalten wird der Grad der Abtötung als sog. Reduktionsfaktor angegeben. Der Reduktionsfaktor gibt die Anzahl der Zehnerpotenzen an, um welche die Lebendkeimzahl bei Anwendung eines bestimmten Verfahrens innerhalb einer bestimmten Zeit reduziert wurde. Der Reduktionsfaktor ist definiert als

$$RF = \log \text{KbE}_{T_0} - \log \text{KbE}_{T_1}$$

KbE_{T_0} = Anzahl der Keime zum Zeitpunkt $t=0$

KbE_{T_1} = Anzahl der Keime zum Zeitpunkt T_1 (Endpunkt)

4.4 Bestimmung der Abtötungswirkung unter Praxisbedingungen

Die Wirkung einer ausgewählten Bleichmitteldosierung wurde im Rahmen eines Praxistests in Anlehnung an die DGHM-Methode zur chemothermischen Wäschedesinfektion [DGHM, 1991] mit ausgewählten Testkeimen untersucht. Die Versuche wurden bei der Fa. HENKEL in Düsseldorf durchgeführt.

4.4.1 Versuchsvorbereitung

Testkeime und Kultivierungsbedingungen

Testkeim	Nährboden zur Anzucht	Selektivnährboden	Temperatur/ Bebrütungsdauer
<i>Enterococcus faecium</i> ATCC 6057	Hirn-Herz-Glucose-Agar (OXOID, CM 375)	KF-Streptococccen-Agar (MERCK, 10707)	37 °C/24 h
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	Hirn-Herz-Glucose-Agar (OXOID, CM 375)	Mannit-NaCl-Phenolrot-Agar (MERCK, 5404)	37 °C/24 h
<i>Escherichia coli</i> ATCC 11229	Hirn-Herz-Glucose-Agar (OXOID, CM 375)	Eosin-Methylenblau- Lactose-Agar (MERCK, 1347)	37 °C/24 h
<i>Klebsiella pneumoniae</i> DSM 6135	Hirn-Herz-Glucose-Agar (OXOID, CM 375)	Eosin-Methylenblau- Lactose-Agar (MERCK, 1347)	37 °C/24 h
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	Sabouraud-Glucose-Agar (OXOID, CM 41)	Biggy-Agar (OXOID, CM 589)	37 °C/72 h

Tab. 4-6: Kultivierungsbedingungen der Testkeime im Praxistest

Herstellung der Keimsuspensionen

Die Keime wurden 24 h (Bakterien) bzw. 72 h (*C. albicans*) bei 37°C auf dem in Tab. 4-6 für die Anzucht genannten Nährböden angezüchtet und mit 5 ml CaSo-Lösung abgeschwemmt. Die erhaltene Keimsuspension wurde durch Glaswolle filtriert.

Kontamination der Keimträger

Als Keimträger wurde ein Standardbaumwollgewebe nach DIN 53919 (WFK, Krefeld) in Stücke von 1 cm² geschnitten, durch Spülen in H₂O_{dest} ausgewaschen und anschließend im Autoklaven bei 121°C 20 Minuten sterilisiert. Die sterilisierten Keimträger wurden über Nacht bei Raumtemperatur in Glaspetrischalen getrocknet.

Die Kontamination der Keimträger erfolgte durch Einlegen der Keimträger in die Keimsuspensionen für 15 Minuten. Anschließend wurden die Keimträger in geschlossenen Petrischalen über Nacht bei 37°C aufbewahrt. Pro Testkeim wurden 30 Keimträger präpariert.

Für jeden Versuch wurden pro Keim 20 Keimträger in ein steriles Säckchen aus Standardbaumwolle gegeben und die Säckchen mit einem bunten Faden verschlossen. Anhand der Farbe des Fadens konnte erkannt werden, welcher Keim sich in dem Säckchen befand.

Aus den restlichen 10 Keimträgern je Keim wurde die Keimzahl bestimmt. Dazu wurden diese in 10 ml CaSo-Lösung ausgeschüttelt und anschließend durch Oberflächenkultur auf CaSo-Agar die Keimzahl ermittelt. Die Auswertung erfolgte nach 24-stündiger (Bakterien) bzw. 72-stündiger (*C. albicans*) Bebrütung bei 37°C.

4.4.2 Durchführung des Praxisversuche

Die Versuchsbedingungen der Praxisversuche sind in Tab. 4-7 dargestellt.

	Versuch 1	Versuch 2
Temperatur	30°C	40°C
Bleichmitteldosierung	30g Perborat-Monohydrat 6g TAED	30g Perborat-Monohydrat 6g TAED
Wassermenge im Hauptwaschgang	13,5 l	13,4 l
effektive Bleichmittelkonzentration	0,22% Perborat-Monohydrat 0,044% TAED	0,22% Perborat-Monohydrat 0,044% TAED
Programm	Buntwaschprogramm	Buntwaschprogramm
Flottenverhältnis	1:2,6	1:2,6
Aktive Waschzeit	51 min	45 min
Temperaturschwankungen	28,4°C – 29,4°C	38,0°C – 40,1°C
Wasser	Leitungswasser, Wasserhärtebereich 3	

Tab. 4-7: Versuchsparameter im Praxistest

Die Versuche wurden in Haushaltswaschmaschinen des Typs MIELE Novo Tronic W 918 durchgeführt. Vor Versuchsbeginn wurden die Maschinen gründlich desinfiziert. Die Keimträgersäckchen wurden alle in einen grobmaschigen Sack gegeben, der zusammen mit einer sterilen Wäschebeiladung in die Maschine gelegt wurde. Das Bleichmittelsystem wurde in das Waschmittelfach der Maschine dosiert. Jeder Versuch wurde doppelt durchgeführt.

Am Ende der aktiven Waschzeit, d.h. vor Beginn des Spülprozesses wurden die Maschinen geöffnet und die Keimträgersäckchen mit sterilen Handschuhen entnommen und in eine

Schliffstopfenflasche mit 150 ml Inaktivierungslösung (Zusammensetzung: 3% Tween 80, 0,3% Lecithin, 0,1% Histidin, 0,5% Natriumthiosulfat in CaSo-Lösung) überführt (=Elutionsflüssigkeit). Zusätzlich wurden aus der Maschine 500 ml Waschflotte entnommen und mit 500 ml doppelt konzentrierter Inaktivierungslösung vermischt.

4.4.3 Auswertung der Ergebnisse

Aufarbeitung der Testkeimträger

Die Keimträger mit den Bakterien wurden aus den Säckchen entnommen und jeder einzelne Keimträger in jeweils 10 ml Inaktivierungslösung überführt. Nach ausgiebigem Schütteln wurden die Röhrcen 7 Tage bei 37°C bebrütet. Am 3. und 7. Tag der Bebrütung wurde aus jedem Röhrcen eine Subkultur durch Ausstrich auf dem jeweiligen in Tab. 4-6 angegebenen Selektivagar angelegt und diese Subkulturen nach 3-tägiger Bebrütung bei 37°C auf Wachstum der Testkeime geprüft.

Die Keimträger, die mit *C. albicans* inokuliert waren, wurden mit einer sterilen Pinzette auf Sabouraud-Glucose-Agar ausgestrichen und auf dem Agar 3 Tage bei 30°C bebrütet.

Überprüfung der Elutionsflüssigkeit bzw. Waschflotte

Nach der Aufarbeitung der Keimträger wurde die Keimzahl der Elutionsflüssigkeit durch Oberflächenkultur auf den in Tab. 4-6 aufgeführten Selektivnährböden bestimmt. Der Rest der Elutionsflüssigkeit und die Waschflotte wurde komplett 7 Tage bei 37°C bebrütet und am 3. und 7. Tag durch Ausstrich auf den Selektivnährböden auf Wachstum der Testkeime geprüft. Die Auswertung erfolgte nach 3-tägiger Bebrütung bei 37°C.

4.5 Modellsystem zur Bestimmung der pH-abhängigen Bleichwirkung ausgewählter Bleichmittelsysteme

Aus der Literatur sind nur wenige Studien zum Einfluß des pH-Wertes auf die Bleichwirkung von Bleichsystemen bekannt, weshalb in diesen Versuchsreihen die pH-abhängige Bleichwirkung anhand eines ausgewählten Bleichmittelsystems bestimmt wurde. Hierfür wurde ein einfaches Modellsystem entwickelt. Eine Farbstofflösung wurde mit den entsprechenden Bleichmitteln versetzt und die Bleichwirkung durch photometrische Messung bestimmt. Die Bleichversuche wurden in einem pH-Bereich von pH 5 bis pH 11 durchgeführt.

4.5.1 Reagenzien

Farbstoffe:

Absorptionsmaximum λ

Lebensmittelfarbstoff BRILLANTBLAU FCF E 133

$\lambda = 630 \text{ nm}$

Lebensmittelfarbstoff ERYTHROSIN E 127

$\lambda = 527 \text{ nm}$

Pufferlösungen:

pH-Wert	Molarität und Puffersystem	Herstellung
pH 5 pH 6 pH 7 pH 8	0,5 M Sørensen-Phosphatpuffer	68,45 g KH_2PO_4 ad 1000 ml $\text{H}_2\text{O}_{\text{dest}}$ 70,98 g Na_2HPO_4 ad 1000ml $\text{H}_2\text{O}_{\text{dest}}$ Mischen beider Lösungen und Einstellen des pH-Wertes
pH 9 pH 10 pH 11	0,1 M NaHCO_3 -Puffer/NaOH	8,4 g NaHCO_3 ad 1000 ml $\text{H}_2\text{O}_{\text{dest}}$ Einstellen des pH-Wertes auf pH 10,00 mit 0,1 N NaOH

Die ausreichende Pufferkapazität der Pufferlösungen wurde in Vorversuchen nachgewiesen. Die Pufferlösungen wurden mit 0,001% des Farbstoffes versetzt und angefärbt.

Bleichmittel (vgl. Kap. 4.2.1)**Natriumperborat-Monohydrat mit und ohne Tetraacetylenhendiämin (TAED)****Natriumhypochlorit****Peressigsäure****Wasserstoffperoxid (30%, MERCK 1.08597)**Inaktivierungsmedium (vgl. 4.2.3)

Inaktivierungssubstanz	Dosierung	Hersteller/Artikelnummer
Katalase (aus Rinderleber) Aktivität 1.300.000 U/ml*	10 µl in 15 ml Farbstofflösung	MERCK/1.05185
2 M Natriumthiosulfatlösung (sterilfiltriert)	50 µl in 15 ml Farbstofflösung	-

4.5.2 Ermittlung der pH-abhängigen Bleichwirkung bei 40°C

Für die Bleichversuche wurden 100 ml der gepufferten Farbstofflösung im Wasserbad auf 40°C erwärmt. Nach Erreichen einer konstanten Versuchstemperatur wurden in einem Versuchsansatz 0,2% Natriumperborat-Monohydrat und im zweiten Versuchsansatz 0,2% Natriumperborat-Monohydrat und 0,04% TAED zudosiert. Nach jeweils 5, 10, 20 und 40 Minuten wurde aus der Lösung ein Aliquot (15 ml) entnommen und in ein Reagenzglas, in dem die Inaktivierungssubstanzen vorgelegt wurden, gegeben. Die Bleichwirkung wurde über die Extinktion der Lösung im Photometer bei der für den Farbstoff angegebenen Wellenlänge des Absorptionsmaximums gemessen.

5 Ergebnisse

5.1 Antimikrobielle Wirkung von Bleichmitteln und Bleichsystemen im quantitativen Suspensionsversuch

Die antimikrobielle Wirkung der Bleichmittel und Bleichsysteme wurde im quantitativen Suspensionsversuch nach der in Kapitel 4.3 beschriebenen Methode bestimmt. In Vorversuchen wurde die Hitzeabtötung und das Verhalten der Mikroorganismen in den verschiedenen Pufferlösungen ermittelt. Die pH-Werte der verwendeten Pufferlösungen wurden bei Raumtemperatur auf die gewünschten Werte eingestellt (vgl. Kapitel 4.2.2). In Abhängigkeit von der Temperatur und bei Zugabe hoher Bleichmitteldosierungen (> 0,2%) veränderten sich die pH-Werte der Pufferlösungen z.T. erheblich, so daß die effektiven pH-Werte der Bleichlösungen teilweise um eine pH-Einheit vom eingestellten pH-Wert abwichen. Diese pH-Abweichungen wurden in Kauf genommen, da es nicht möglich war, ein Puffersystem mit ausreichender Pufferkapazität zu finden, das die Mikroorganismen nicht beeinflußte. Die Angaben der pH-Werte in Tabellen und Abbildungen beziehen sich, soweit nicht anders angegeben, auf die bei 20°C eingestellten pH-Werte der Pufferlösungen ohne Zusatz von Bleichmitteln. Die Versuchsansätze wurden im neutralen bis alkalischen pH-Bereich durchgeführt. Dabei wurden in einigen Versuchsreihen mit pH 10 unterschiedliche Puffersubstanzen verwendet, da Vorversuche die Vermutung nahe legten, daß die Puffersubstanzen mit den Bleichmitteln reagierten. Deshalb wurde für die Pufferlösung mit pH 10 ein organischer Tris-Puffer (im weiteren gekennzeichnet durch die Abkürzung pH 10 [T]) und ein anorganischer Carbonat-Puffer (im weiteren gekennzeichnet durch die Abkürzung pH 10 [C]) ausgewählt (vgl. S. 48).

In Vorversuchen wurde geprüft, inwieweit die untersuchten Aktivatoren (TAED, NOBS) und der Katalysator (Mn-TACN) selbst mikrobizide Eigenschaften besitzen. Es konnte nachgewiesen werden, daß die Aktivatoren bzw. der Katalysator in 0,2%iger Konzentration keinen der untersuchten Testkeime zwischen 30°C und 60°C nachteilig beeinflussten.

5.1.1 Bakterizide Wirkung

Zur Prüfung der bakteriziden Wirkung von Bleichsystemen wurden sowohl gramnegative als auch grampositive Bakterien auf ihre thermische und chemothermische Empfindlichkeit gegenüber ausgewählten Bleichmittelsystemen untersucht.

5.1.1.1 *Enterococcus faecium* ATCC 6057

(1) *Thermische Inaktivierung in Abhängigkeit vom pH-Wert*

Die Vorversuche zur Hitzeabtötung von *Entc. faecium* zeigten, daß die thermische Inaktivierung von *Entc. faecium* erst ab einer Temperatur von 65°C einsetzte und stark pH-abhängig war (Abb. 5-1). Unterhalb von 60°C war innerhalb der Versuchsdauer von 40 Minuten im untersuchten pH-Bereich (pH 7 bis 11) keine thermische Inaktivierung festzustellen. Die Hitzeempfindlichkeit von Mikroorganismen wird durch die Angabe des D-Wertes charakterisiert. Der D-Wert gibt die Zeit in Minuten an, die zur Abtötung von 90% (= 1 Zehnerpotenz) einer Mikroorganismenpopulation bei konstanter Temperatur erforderlich ist (vgl. Kap. 4.3.3). In Tab. 5-1 sind die ermittelten D_{65} -Werte für die Abtötung von *Entc. faecium* in Abhängigkeit vom pH-

Wert dargestellt. Der Vergleich der D-Werte bzw. der Abtötungskurven in Abb. 5-1 zeigt, daß *Entc. faecium* im neutralen Medium die größte Hitzeresistenz aufwies und daß diese mit steigender Alkalität abnahm. Auffallend ist die signifikante Abnahme der Hitzetoleranz zwischen pH 10 und pH 11. Die Erhöhung des pH-Wertes von pH 10 auf pH 11 führte bei 65°C zu einer Abnahme des D-Wertes auf 1/6.

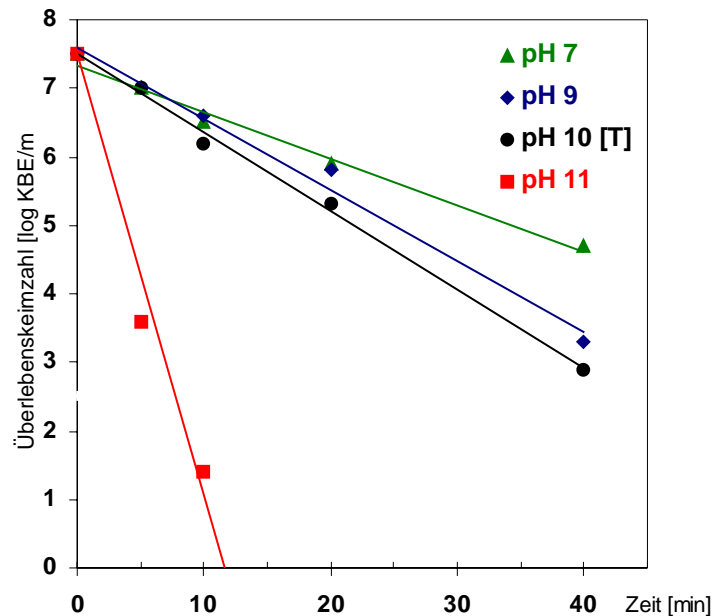


Abb. 5-1: Thermische Abtötung von *Entc. faecium* ATCC 6057 in Abhängigkeit vom pH-Wert bei 65°C (T= Tris-Puffer)

pH-Wert (bei 20°C)	7	9	10 [T]	11
effektiver pH-Wert (bei 65°C)	7,0	8,3	9,0	10,2
D ₆₅ -Wert in Minuten	13,5	9,6	8,7	1,5

T =Tris-Puffer

Tab. 5-1: D₆₅-Werte von *Entc. faecium* ATCC 6057 bei unterschiedlichen pH-Werten

(2) Wirkung nicht-aktivierter Bleichmittel

Perborat und Percarbonat

Das Bakterium *Entc. faecium* eignete sich durch seine hohe Hitze- und Alkalientoleranz sehr gut zur Untersuchung der bakteriziden Wirkung nicht-aktivierter Bleichmittel im Temperaturbereich zwischen 30°C und 60°C. In Abb. 5-2 ist die pH-abhängige Wirkung von 0,1%igen (linke Grafik) und 0,2%igen Perboratlösungen (rechte Grafik) bei 60°C vergleichend dargestellt. Mit einer Perboratdosierung von 0,1% konnte bei 60°C innerhalb von 40 min eine pH-abhängige Abtötung von *Entc. faecium* um 2 bis 6 Zehnerpotenzen nachgewiesen werden. In der Bleichmittellösung mit pH 7 war die Wirkung am geringsten (2 Zehnerpotenzen nach 40 Minuten), bei pH 11 am besten (6 Zehnerpotenzen nach 20 Minuten). Die Verdoppelung der Perboratkonzentration auf 0,2% führte zu einer signifikanten Wirkungssteigerung (rechte Grafik).

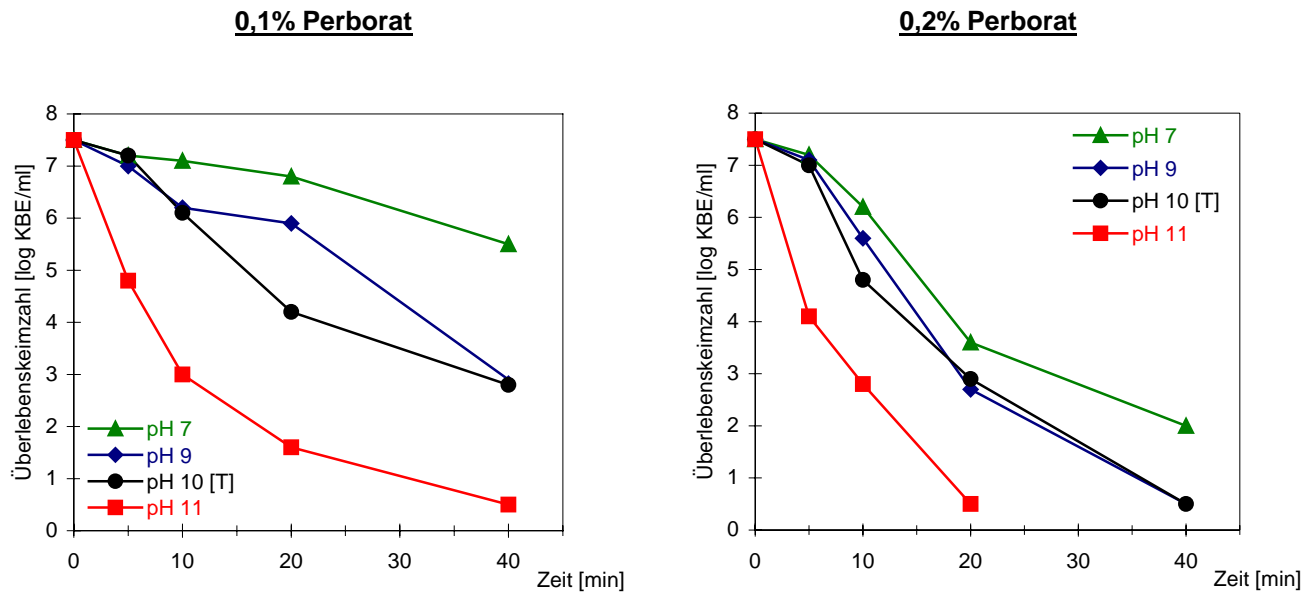


Abb. 5-2: Abtötung von *Entc. faecium* ATCC 6057 durch Perborat unterschiedlicher Konzentrationen in Abhängigkeit vom pH-Wert bei 60°C (T= Tris-Puffer)

Die Bleichwirkung von Percarbonat ist nach SKAGERLIND et al. [1998] der Bleichwirkung von Perborat insbesondere bei niedrigeren Temperaturen überlegen. Die Untersuchung der bakteriziden Wirkung der Bleichmittel Perborat und Percarbonat von STEINHAUER [1997] deuten ebenfalls darauf hin, daß mit Percarbonat bessere Effekte erzielt werden können.

Aufgrund dieser Hinweise wurden vergleichende Untersuchungen zur Wirkung der Bleichmittel Perborat und Percarbonat im Niedrigtemperaturbereich bei 40°C durchgeführt. Die vergleichende Darstellung der pH-abhängigen Wirkung verschiedener Perborat- und Percarbonatdosierungen in Abb. 5-3 läßt erkennen, daß eine signifikante Wirkung der Bleichmittel Perborat und Percarbonat auf *Entc. faecium* bei 40°C erst mit hohen Bleichmitteldosierungen erzielt werden konnte. Es ist zu beachten, daß aufgrund der hohen Bleichmitteldosierungen der effektive pH-Wert in den Bleichlösungen deutlich über dem ursprünglich eingestellten pH-Wert der Pufferlösungen lag. In Tab. 5-2 sind die effektiven pH-Werte nach Zugabe der höchsten Bleichmitteldosierung angegeben. Die Abtötungskurven in Abb. 5-3 zeigen, daß die Wirkung von Perborat und Percarbonat bei den untersuchten Konzentrationen (0,4% und 1,0%) erst nach 20 Minuten einsetzte und nach 40 Minuten zu signifikanten Abtötungseffekten führte. Bei einer Bleichmitteldosierung von 0,4% (linke Grafiken) konnte mit Percarbonat insbesondere bei den höheren pH-Werten eine bessere Wirkung erzielt werden im Vergleich zu Perborat. Im Versuch mit 0,4% Percarbonat betrug die Abnahme der Keimzahl nach 40 Minuten in Abhängigkeit vom pH-Wert der Bleichlösung 0 Zehnerpotenzen bei pH 7, 1,5 Zehnerpotenzen bei pH 9 und 3,5 Zehnerpotenzen bei pH 10 [T] und pH 11. Im Vergleich dazu war in 0,4%igen Perboratlösungen nach 40 Minuten nur bei pH 11 eine leichte Abtötung zu beobachten (1,5 Zehnerpotenzen). Bei der höheren Bleichmitteldosierung von 1,0% Percarbonat bzw. Perborat waren in der Wirkung der Bleichmittel keine Unterschiede zu erkennen. Trotz der effektiv höheren pH-Werte (vgl. Tab. 5-2) konnte ein Einfluß des pH-Wertes festgestellt werden: im Puffer mit pH 7 war die Wirkung unabhängig von Bleichmittel und Dosierung deutlich schlechter im Vergleich zu den höheren pH-Werten, wo eine 1%ige Bleichmitteldosierung nach 40 Minuten zu einer Abtötung der *Entc. faecium*-Zellen um 4,5 Zehnerpotenzen führte.

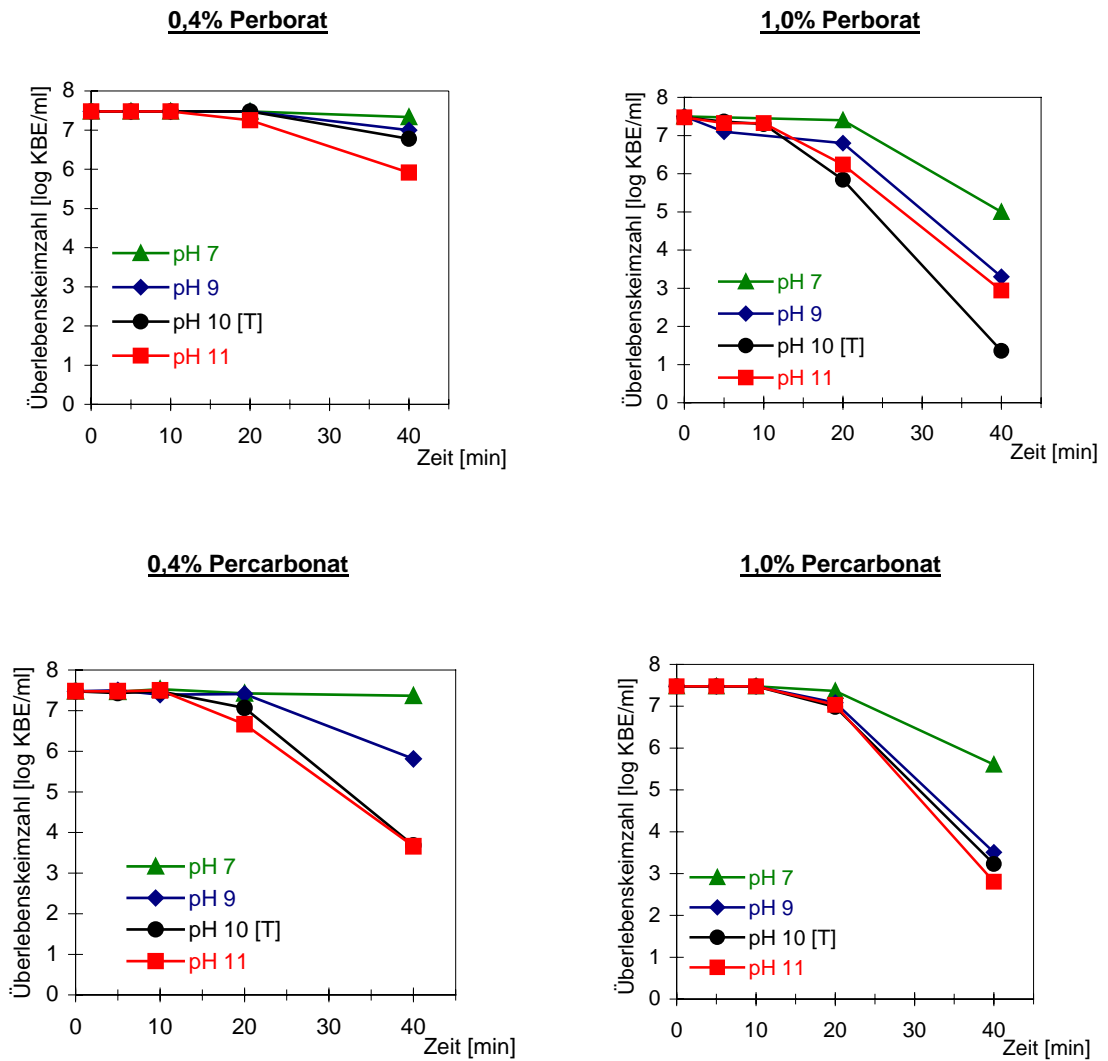


Abb. 5-3: Abtötung von *Entc. faecium* ATCC 6057 durch Perborat bzw. Percarbonat unterschiedlicher Konzentrationen in Abhängigkeit vom pH-Wert bei 40°C (T= Tris-Puffer)

pH-Wert (bei 20°C)	7	9	10 [T]	11
effektiver pH-Wert nach Zugabe von 1% Perborat	8,9	9,8	10,3	10,8

T= Tris-Puffer

Tab. 5-2: Effektive pH-Werte in den Puffermedien nach Zugabe von 1% Perborat

Phthalimido-peroxo-capronsäure (PAP)

PAP ist eine organische Persäure die z.T. in Fleckensalzen als Bleichmittel enthalten ist und laut Herstellerangaben nachweislich eine mikrobizide Wirkung besitzt (SYNTANA, 2000). Im Rahmen dieser Untersuchungen wurde die pH-abhängige Wirkung von PAP auf *Entc. faecium* bei 30°C bestimmt. In 0,2%igen PAP-Lösungen traten bei den verschiedenen pH-Werten unterschiedliche Abtötungseffekte auf (Abb. 5-4). In der 0,2%igen Bleichmittellösung mit pH 7 konnte nach 5 Minuten eine Abtötung von *Entc. faecium* um mehr als 7 Zehnerpotenzen beobachtet werden, bei pH 11 wurde dieser Effekt erst nach 40 Minuten erreicht. Mit 0,1%igen

PAP-Lösungen konnte nur bei pH 7 eine Abtötungswirkung nachgewiesen werden, wobei diese nach 5 Minuten mehr als 7 Zehnerpotenzen betrug (Daten nicht dargestellt).

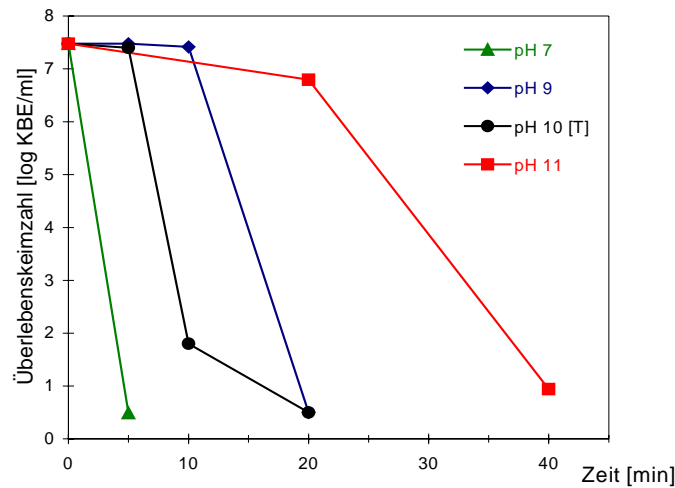


Abb. 5-4: Abtötung von *Entoc. faecium* ATCC 6057 durch 0,2% PAP in Abhängigkeit vom pH-Wert bei 30°C (T= Tris-Puffer)

Natriumhypochlorit

In diesen Versuchsreihen wurde die pH-abhängige Wirkung von Natriumhypochlorit als Vergleichsreferenz unter den gleichen pH-Bedingungen untersucht, da Natriumhypochlorit wegen seiner guten bleichenden und desinfizierenden Wirkung bei niedrigen Temperaturen als Bleich- und Desinfektionsmittel eingesetzt wird. Die Ergebnisse der Wirkung 0,1%iger Natriumhypochloritlösungen auf *Entoc. faecium* bei 30°C sind in Abb. 5-5 dargestellt. Unter diesen Bedingungen zeigte die 0,1%ige Natriumhypochloritlösung trotz niedrigerem Wirkstoffgehalt im Vergleich zu den Persalzen eine signifikant bessere Wirkung: innerhalb von 5 Minuten waren in den anorganischen Pufferlösungen mit pH 7, pH 10 [C] und pH 11 die Bakterien um mehr als 7 Zehnerpotenzen abgetötet, hingegen konnte in den organischen Tris-Puffern mit pH 9 und pH 10 [T] nach 40 Minuten kein Effekt nachgewiesen werden. Offenbar spielt das Puffermedium eine entscheidende Rolle bei der Wirkung von Natriumhypochlorit, das u.U. mit der organischen Puffersubstanz reagieren kann.

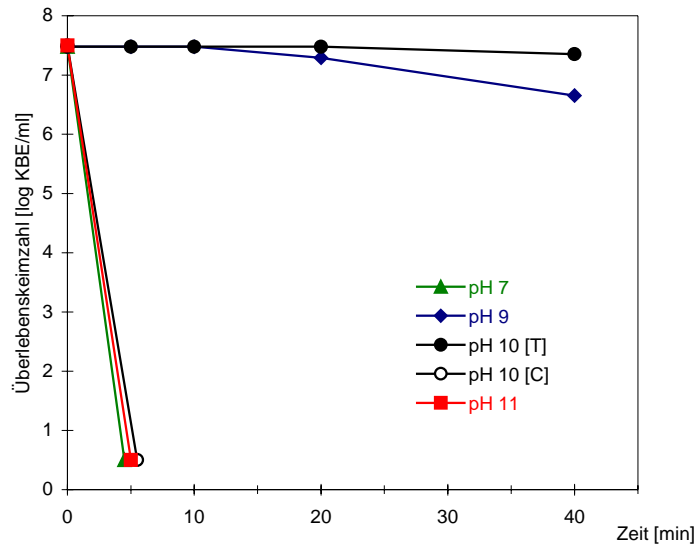


Abb. 5-5: Abtötung von *Entc. faecium* ATCC 6057 durch 0,1% Natriumhypochlorit in Abhängigkeit vom pH-Wert bei 30°C (T= Tris-Puffer, C= Carbonat-Puffer)

Peressigsäure

Die Peressigsäure wird aufgrund des breiten Wirkungsspektrums und der schnellen Wirksamkeit in schon geringen Konzentrationen als Desinfektionsmittel eingesetzt. Da bei der aktivierten Bleiche mit TAED intermediär Peressigsäure entsteht, wurde die Wirkung von Peressigsäure in die Untersuchung zum Vergleich mit einbezogen. Die Versuche wurden mit 0,1%igen Peressigsäurelösungen bei pH 7, pH 9, pH 10 [T] und pH 11 bei 30°C durchgeführt. Unter den gewählten Bedingungen konnte die *Entc. faecium*-Population unabhängig vom pH-Wert innerhalb von 5 Minuten um mehr als 7 Zehnerpotenzen abgetötet werden (Daten nicht dargestellt).

(3) Wirkung aktivierter Bleichsysteme

Die Versuchsansätze zur Untersuchung der Wirkung aktivierter Bleichsysteme auf *Entc. faecium* wurden ausschließlich im Niedrigtemperaturbereich bei 30°C und 40°C mit den Bleichmittelaktivatoren TAED und NOBS und dem Bleichmittelkatalysator Mn-TACN durchgeführt. Mit diesen Versuchsreihen sollte neben dem Temperatur- und pH-Einfluß insbesondere der Einfluß der Bleichmittelkonzentration und der Aktivatorkonzentration auf den bakteriziden Effekt ermittelt werden.

TAED-aktivierte Bleichsysteme

Bleichmittelsysteme mit dem Bleichmittelaktivator TAED bilden in situ Peressigsäure, die sowohl eine bleichende als auch eine mikrobizide Wirkung besitzt. In Abb. 5-6 ist die pH-abhängige Abtötungswirkung TAED-aktivierter Bleichsysteme mit verschiedenen Perborat-/TAED-Konzentrationen bei 40°C (Versuchsreihe A) und bei 30°C (Versuchsreihe B) vergleichend wiedergegeben. Es zeigte sich, daß die Wirkung TAED-aktivierter Bleichsysteme sowohl von der **Temperatur**, der Perborat- und TAED-**Konzentration**, dem **Konzentrations-**

verhältnis beider Komponenten und vom **pH-Wert** wesentlich beeinflusst wurde. Die effektiven pH-Werte der Bleichmittellösungen sind in Tab. 5-3 angegeben.

Aus der Literatur zur Bleichwirkung aktivierter Bleichsysteme geht hervor, daß optimale Bleichergebnisse mit TAED-aktivierten Bleichmitteln im pH-Bereich zwischen pH 8 und pH 10 erzielt werden [REINHARDT, 1994a; PORSCH et al., 1990].

Bezüglich der mikrobiziden Wirkung TAED-aktivierter Bleichmittel zeigte sich in allen Versuchsreihen ebenfalls ein deutlicher **Einfluß des pH-Wertes**: in neutralen Ansätzen konnte unabhängig von der Temperatur und Bleichmitteldosierung eine signifikant bessere Abtötungswirkung erzielt werden als unter alkalischen Bedingungen. Weitere Untersuchungen zur mikrobiziden Wirkung TAED-aktivierter Bleichsysteme bei pH 6 führten zu keiner Wirkungssteigerung im Vergleich zur Wirkung bei pH 7 (Daten nicht dargestellt). In einigen Versuchsreihen wurde anhand ausgewählter Konzentrationen zusätzlich der Einfluß der Puffersubstanz untersucht, da vorausgehende Untersuchungen die Vermutung nahe legten, daß die Bleichmittel mit den organischen Tris-Puffern reagierten. Deshalb wurde ein anorganischer Carbonat-Puffer mit pH 10 (pH 10 [C]) als Vergleich zum organischen Tris-Puffer (pH 10 [T]) mit in die Untersuchungen einbezogen. Bei einer Dosierung der Bleichmittel von 0,1% Perborat und 0,02% TAED (5:1) konnte sowohl bei 40°C als auch bei 30°C in dem anorganischen Puffer (pH 10 [C]) eine bessere Abtötungswirkung erzielt werden als im organischen Tris-Puffer (Abb. 5-6, A2 und B2).

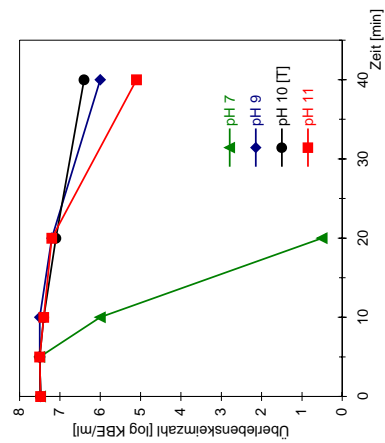
Aus den Ergebnissen in Abb. 5-6 geht der Einfluß der Aktivatorkonzentration auf die bakterizide Wirkung hervor. Durch die Erhöhung der **TAED-Konzentration** wurde eine signifikante Wirkungssteigerung bei allen untersuchten pH-Werten erreicht. Die Verdoppelung der TAED-Konzentration von 0,01% auf 0,02% führte bei einer konstanter Perboratkonzentration von 0,1% zu einer Steigerung der Wirkung bei allen pH-Werten (Abb. 5-6, A1 und A2; A3 und A4 bzw. B1 und B2; B3 und B4). Der Zusatz von 0,1% TAED zu 0,1% Perborat (1:1) führte bei 40°C unabhängig vom pH-Wert innerhalb von 5 Minuten zu einer Abtötung der *Entc. faecium*-Zellen um mehr als 7 Zehnerpotenzen (Daten nicht dargestellt).

In weiteren Versuchsreihen wurde die Konzentration des Bleichmittels und des Aktivators verdoppelt und die **Konzentrationsverhältnisse** (Bleichmittel:Aktivator 10:1 bzw. 5:1) beibehalten. Die Verdoppelung der Konzentrationen von Perborat und TAED führte bei einem Konzentrationsverhältnis von 10:1 sowohl bei 40°C als auch bei 30°C zu einer Steigerung der Abtötungswirkung (vgl. Abb. 5-6 A1 und A3; A2 und A4 bzw. B1 und B3; B2 und B4). Bei einem Konzentrationsverhältnis von Perborat:TAED von 5:1 zeigte die Erhöhung der Konzentration von Perborat und TAED insbesondere bei 30°C eine deutliche pH-abhängige Wirkungssteigerung. Bei 40°C war die Wirkungssteigerung insbesondere bei den höheren pH-Werten signifikant.

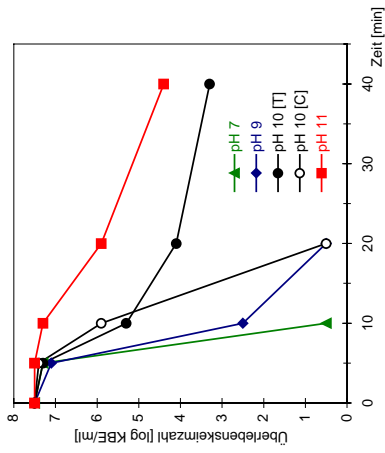
Der Vergleich der Abtötungswirkung bei 40°C (Versuchsreihen A) und 30°C (Versuchsreihen B) zeigt den Einfluß der **Temperatur** auf den mikrobiziden Effekt des TAED-aktivierten Bleichsystems. Durch die Erhöhung der Temperatur von 30°C auf 40°C konnte die Abtötungswirkung wesentlich beschleunigt werden. Bei der höheren Temperatur waren für eine signifikante Abtötungswirkung kürzere Einwirkzeiten erforderlich.

Betrachtet man den Verlauf der Abtötungskurven, so fällt die „lag-Phase“ in der Abtötungskinetik auf. Offenbar handelt es sich bei der Abtötung der Mikroorganismen durch Bleichsysteme um eine Reaktionsordnung ungleich Eins. Aufgrund dieses nicht-linearen Kurvenverlaufes erschien die Angabe der D-Werte als Kenngröße für die Abtötungswirkung der Bleichsysteme nicht sinnvoll.

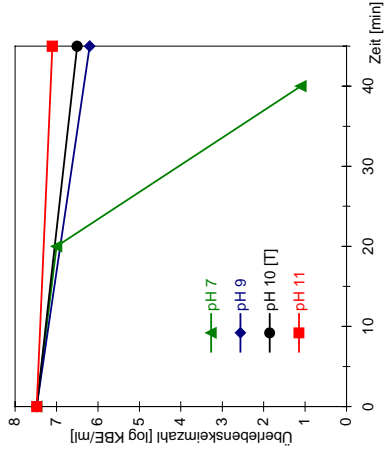
A: 40°C



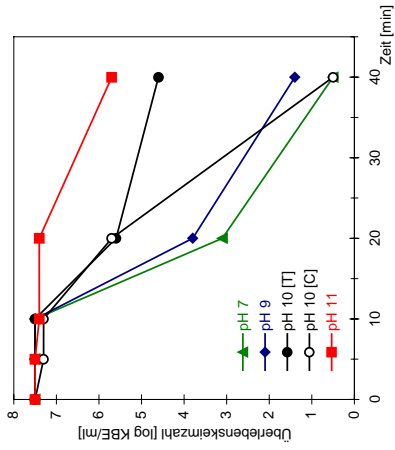
A1: 0,1% Perborat + 0,01% TAED (10:1)



A2: 0,1% Perborat + 0,02% TAED (5:1)

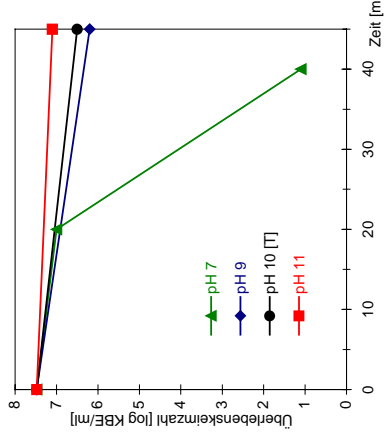


A3: 0,2% Perborat + 0,02% TAED (10:1)

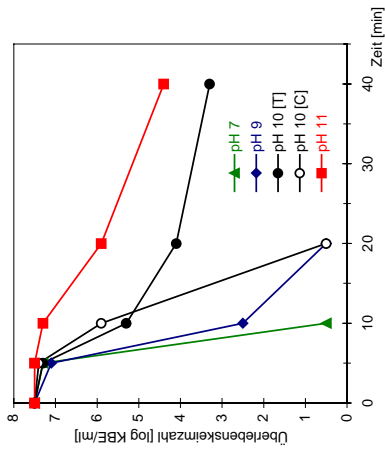


A4: 0,2% Perborat + 0,04% TAED (5:1)

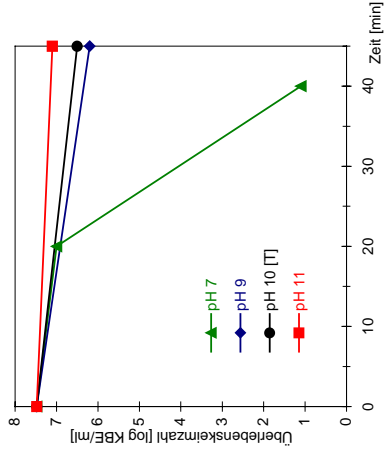
B: 30°C



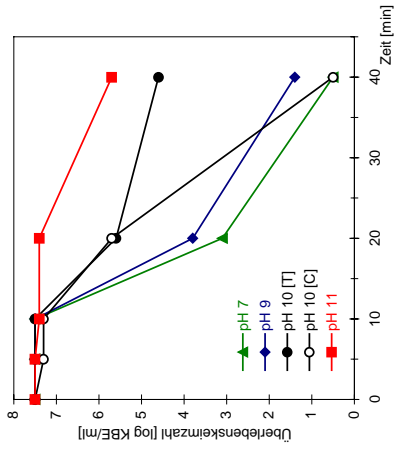
B1: 0,1% Perborat + 0,01% TAED (10:1)



B2: 0,1% Perborat + 0,02% TAED (5:1)



B3: 0,2% Perborat + 0,02% TAED (10:1)



B4: 0,2% Perborat + 0,04% TAED (5:1)

A3: 0,2% Perborat + 0,02% TAED (10:1)

A4: 0,2% Perborat + 0,04% TAED (5:1)

B3: 0,2% Perborat + 0,02% TAED (10:1)

B4: 0,2% Perborat + 0,04% TAED (5:1)

Abb. 5-6: Abtötung von *Entc. faecium* ATCC 6057 durch Perborat und TAED unterschiedlicher Konzentrationen in Abhängigkeit vom pH-Wert bei 40°C (Versuchsreihe A) und 30°C (Versuchsreihe B) (T=Tris-Puffer, C=Carbonat-Puffer)

pH-Wert bei 20°C	7	9	10 [T] [*]	10 [C] [*]	11
effektiver pH- Wert nach Zugabe von 0,2% Perborat und 0,04% TAED	7,3	9,2	9,7	10,0	10,6

^{*}T= Tris-Puffer, C= Carbonat-Puffer

Tab. 5-3: Effektive pH-Werte der Pufferlösungen nach Zugabe von 0,2% Perborat und 0,04% TAED

In Anlehnung an die Versuche mit Perborat wurde die Wirkung von TAED-aktiviertem Percarbonat in ausgewählten Konzentrationen bei 30°C und 40°C untersucht, da nach SKAGERLIND et al. [1998] bei niedrigen Temperaturen die Bleichwirkung von Percarbonat und TAED etwas besser ist als die von Perborat und TAED. Die Ergebnisse dieser Versuchsreihen in Abb. 5-7 zeigen, daß die bakterizide Wirkung von TAED-aktiviertem Percarbonat mit der Wirkung von TAED-aktiviertem Perborat vergleichbar war (Abb. 5-6) und hier ebenfalls der pH-Wert, die Konzentration und die Temperatur die Wirkung wesentlich beeinflussten. Bei den niedrigeren pH-Werten (pH 7 und pH 9) trat die mikrobizide Wirkung von Percarbonat und TAED im Vergleich zu Perborat und TAED in gleicher Konzentration etwas schneller ein. Die Verdoppelung der TAED-Konzentration führte bei 40°C zu einer signifikanten Wirkungssteigerung, insbesondere bei pH 10 [T] und pH 11 (Abb. 5-7, A1 und A2). Der Vergleich der Grafiken A2, B2 und B1 in Abb. 5-7 zeigt, daß eine Temperaturabsenkung um 10 K die Wirkung von 0,1% Percarbonat und 0,02% TAED signifikant verschlechterte und daß durch die Verdoppelung der Bleichmittelkonzentration diese teilweise kompensiert werden konnte.

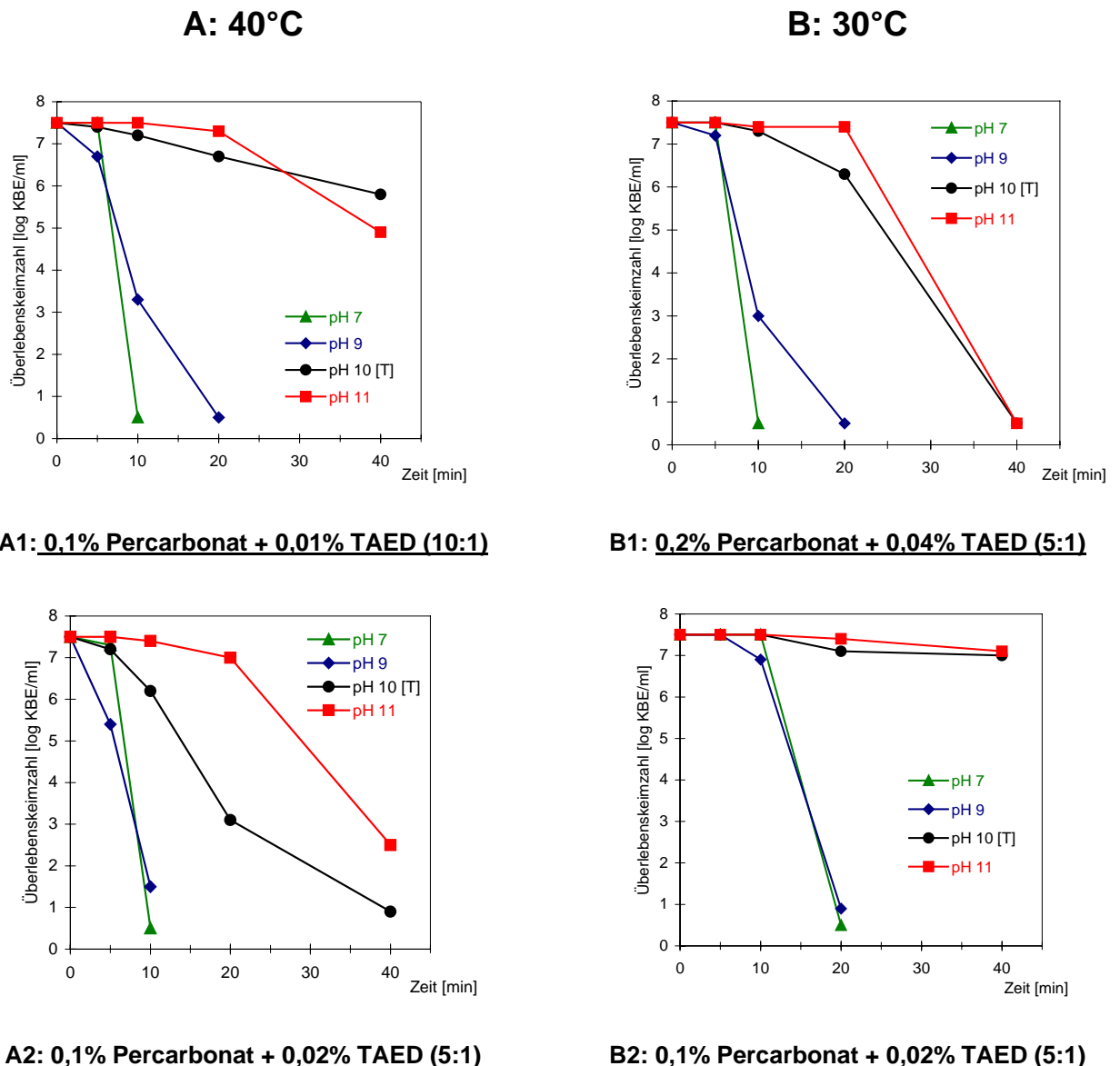


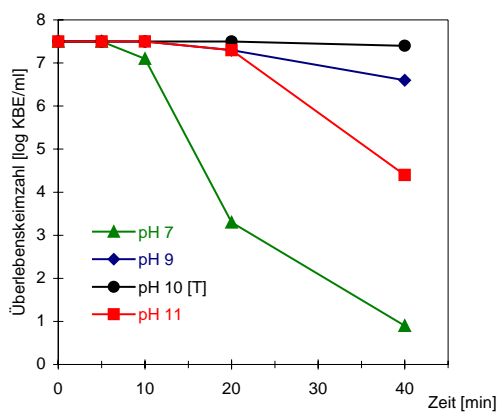
Abb. 5-7: Abtötung von *Entc. faecium* ATCC 6057 durch Percarbonat und TAED unterschiedlicher Konzentrationen in Abhängigkeit vom pH-Wert bei 40°C (Versuchsreihe A) und 30°C (Versuchsreihe B) (T= Tris-Puffer)

In weiterführenden Versuchen wurde der Einfluß einer **Schmutzbelastung** auf die bakterizide Wirkung TAED-aktivierter Bleichmittel bestimmt. Schmutzbelastungen (z.B. Proteine) können die Wirkung eines mikrobiziden Wirkstoffes erheblich beeinträchtigen. Im Bleichprozeß kann die Wirkung oxidativer Bleichmittel durch die Anwesenheit oxidierbarer Substanzen vermindert werden, da die Bleichmittel auch mit diesen reagieren können. Um mögliche Wirkstoffzehrungen durch Schmutzbelastungen zu untersuchen, wurde in den Versuchsreihen als Modellsubstanz lyophilisiertes Rinderalbumin gewählt, um damit in Anlehnung an die Prüfung von Desinfektionsmitteln den sog. Eiweißfehler zu bestimmen. Für die Versuche wurde eine hohe Belastung von 0,3% Rinderalbumin eingesetzt. Die Ergebnisse in Abb. 5-8 zeigen die pH-abhängige Wirkung eines Bleichsystems mit einer 0,3%igen Albuminbelastung (Versuchsreihe A) im Vergleich zum Versuchsansatz ohne Albuminbelastung (Versuchsreihe B) bei ausgewählten Perborat/TAED-Konzentrationen. Die Ergebnisse machen deutlich, daß der

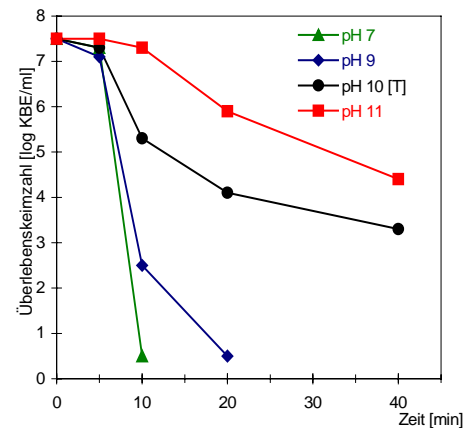
Zusatz von 0,3% Albumin die mikrobizide Wirkung des untersuchten Bleichsystems mit Perborat und TAED signifikant verschlechterte. Es fällt auf, daß der Wirkungsverlust durch die Albuminbelastung insbesondere bei den niedrigeren pH-Werten (pH 7 und pH 9) stärker war als bei pH 11. Durch die Erhöhung der Bleichmittelkonzentration konnte der Wirkungsverlust teilweise ausgeglichen werden (Abb. 5-8, A1 und A2).

Zusätzliche Versuchsreihen zum Einfluß von Blut auf die Wirkung der Bleichsysteme konnten zeigen, daß durch den Zusatz von 0,5% defibriertem Schafsblut (OXOID, FSR-1055) ein totaler Wirkungsverlust auftrat und bei der untersuchten Bleichmitteldosierung von 0,1% Perborat und 0,02% TAED bei 40°C unabhängig vom pH-Wert keine bakterizide Wirkung mehr zu erkennen war (Daten nicht dargestellt).

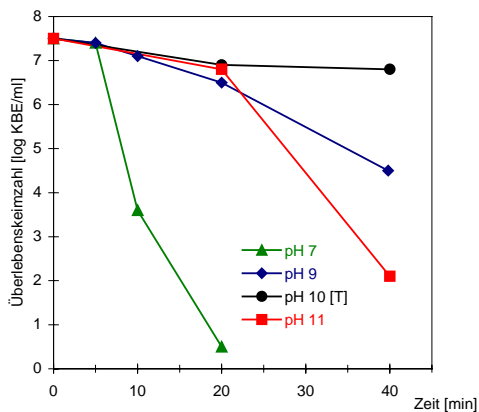
A: mit 0,3% Albuminbelastung



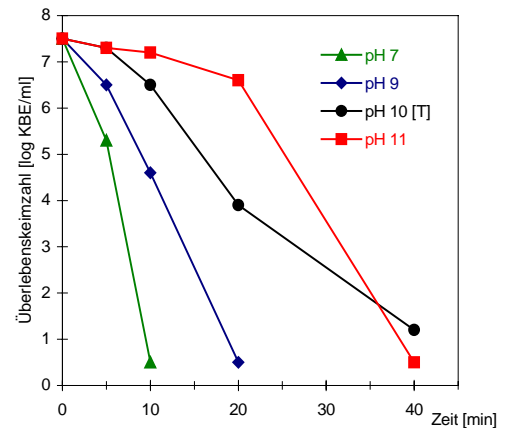
B: ohne Albuminbelastung



A1: 0,1% Perborat + 0,02% TAED (5:1)



B1: 0,1% Perborat + 0,02% TAED (5:1)



A2: 0,2% Perborat + 0,04% TAED (5:1)



B2: 0,2% Perborat + 0,04% TAED (5:1)



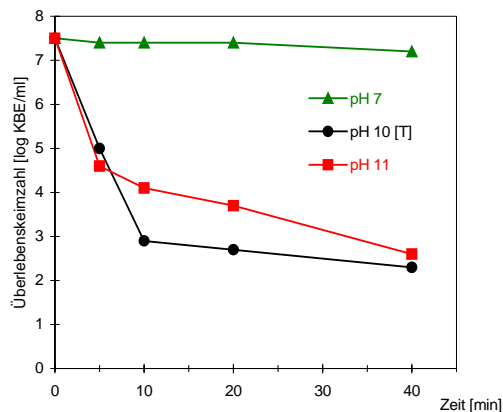
Abb. 5-8: Abtötung von *Entc. faecium* ATCC 6057 durch Perborat und TAED unterschiedlicher Konzentrationen in Abhängigkeit vom pH-Wert bei 40°C mit (Versuchsreihe A) und ohne Albuminbelastung (Versuchsreihe B) (T= Tris-Puffer)

NOBS-aktivierte Bleichsysteme

Bleichmittelsysteme mit dem Bleichmittelaktivator NOBS bilden in situ Pernonansäure, die aufgrund ihres Oxidationspotentials bleichend und desinfizierend wirkt. Die Bleichwirkung NOBS-aktivierter Bleichsysteme soll im Vergleich zu den TAED-aktivierten Bleichsystemen besser sein [WHALLEY, 1998]. Nach BALDRY und FRASER [1988] ist die desinfizierende Wirkung der Pernonansäure der Wirkung von Peressigsäure überlegen, weshalb in diesen Versuchsreihen die bakterizide Wirkung NOBS-aktivierter Bleichsysteme ermittelt wurde. Die NOBS-aktivierten Bleichsysteme zeigten eine ausgesprochen gute Abtötungswirkung gegenüber *Entc. faecium*. Schon in geringen Dosierungen von 0,05% Perborat und 0,01% NOBS (5:1) konnte bei 30°C bei allen pH-Werten innerhalb von 5 Minuten eine Abtötung der Keime um mehr als 7 Zehnerpotenzen erreicht werden (Daten nicht dargestellt).

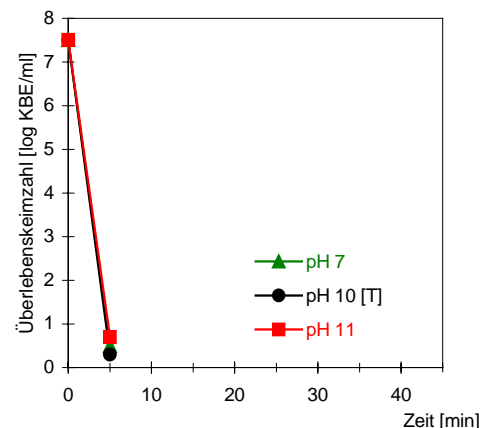
Analog zu den Versuchen mit TAED wurde in weiteren Untersuchungsreihen der Einfluß der Albumin-Schmutzbelastung auf die Wirkung NOBS-aktivierter Bleichmittel bestimmt und die Ergebnisse in Abb. 5-9 vergleichend dargestellt. Der Zusatz von 0,3% Albumin zum NOBS-aktivierten Bleichsystem (linke Grafik) führte zu signifikanten Wirkungsverlusten im Vergleich zum Versuchsansatz ohne Albumin (rechte Grafik). Der Einfluß der Schmutzbelastung war insbesondere bei pH 7 sehr deutlich. Hier konnte innerhalb der Versuchsdauer von 40 Minuten kein bakterizider Effekt nachgewiesen werden. Auffallend ist der Verlauf der Abtötungskurven unter Eiweißbelastung bei pH 10 [T] und pH 11. Bei diesen pH-Werten fand bis zu einer Einwirkzeit von 10 Minuten eine signifikante Abtötung von *Entc. faecium* statt, die bei längerer Einwirkdauer nicht weiter zunahm.

A: mit 0,3% Albuminbelastung



0,1% Perborat + 0,01% NOBS (10:1)

B: ohne Albuminbelastung



0,1% Perborat + 0,01% NOBS (10:1)

Abb. 5-9: Abtötung von *Entc. faecium* ATCC 6057 durch Perborat und NOBS in Abhängigkeit vom pH-Wert bei 40°C mit (Versuchsreihe A) und ohne Albuminbelastung (Versuchsreihe B) (T= Tris-Puffer)

Mn-TACN-katalysierte Bleichsysteme

Der Bleichmittelkatalysator Mn-TACN verbessert die Bleichwirkung von Bleichmitteln indem er die Bildung von Aktivsauerstoff aus Perborat bzw. aktivierten Systemen insbesondere bei Temperaturen $< 20^{\circ}\text{C}$ katalysiert und damit die Bleichreaktion beschleunigt. Aus der Literatur liegen keine direkten Daten zur mikrobiziden Wirkung katalysierter Bleichmittel vor. Im Rahmen dieser Versuchsreihen wurde die pH-abhängige Abtötungswirkung katalysierter Bleichsysteme untersucht. Es zeigte sich, daß der Zusatz des Katalysators Mn-TACN zu nicht-aktiviertem bzw. TAED-aktiviertem Perborat im Niedrigtemperaturbereich keine zusätzliche Verstärkung der Abtötung bewirken konnte. Bei einer Dosierung von 0,1% Mn-TACN zu 0,1% Perborat konnte bei 40°C keine bakterizide Wirkung gefunden werden, die praxisübliche Zudosierung von 0,00018% Mn-TACN zu 0,1% Perborat und 0,01% TAED zeigte ebenfalls keine signifikante Wirkungsverbesserung (Daten nicht dargestellt). Aufgrund dieser Befunde wurden keine weiteren Versuche mit dem Bleichmittelkatalysator Mn-TACN durchgeführt.

5.1.1.2 *Escherichia coli* ATCC 11229

Aufbauend auf den Untersuchungen von STEINHAUER [1997] wurde die Wirkung von Bleichmitteln und Bleichsystemen auf *E. coli* ATCC 11229 in Abhängigkeit vom pH-Wert untersucht, da dieser Aspekt von STEINHAUER nicht berücksichtigt wurde. Im Gegensatz zu den Untersuchungen von STEINHAUER, die für die Bestimmung der Überlebenskeimzahl mit Selektiv-Nährböden arbeitete, wurde in dieser Untersuchung ein Vollmedium (PC-Agar) verwendet, da in Voruntersuchungen nachgewiesen wurde, daß die Wiederfindungsrate auf PC-Agar signifikant höher war im Vergleich zur Wiederfindungsrate auf VRBG-Agar.

(1) *Thermische Inaktivierung in Abhängigkeit vom pH-Wert*

Die Versuchsreihen zur Hitzeinaktivierung von *E. coli* zeigten, daß die *E. coli*-Zellen im Puffermedium mit pH 11 schon bei Raumtemperatur innerhalb von 5 Minuten abgetötet wurden, weshalb dieser pH-Wert in die weiteren Untersuchungen nicht mehr mit einbezogen wurde. In den Pufferlösungen mit pH 7, pH 9 und pH 10 [T] setzte die thermische Inaktivierung von *E. coli* bei 50°C ein und war stark vom pH-Wert abhängig. In Abb. 5-10 ist die thermische Abtötung von *E. coli* in Abhängigkeit vom pH-Wert bei 50°C und 55°C dargestellt. Die ermittelten D-Werte bei den untersuchten Temperaturen und die pH-Werte sind der Tab. 5-4 zu entnehmen. Die Ergebnisse lassen erkennen, daß *E. coli* bei neutralen pH-Werten die größte Hitzetoleranz zeigte und diese mit steigender Alkalität abnahm. Zusätzlich zu den D-Werten wurde der z-Wert der Hitzeabtötung bestimmt und ebenfalls in Tab. 5-4 dargestellt. Der z-Wert gibt die Temperaturerhöhung an, die notwendig ist, um den D-Wert auf 1/10 zu reduzieren. Die ermittelten Daten zeigen, daß mit zunehmendem effektivem pH-Wert die z-Werte von $4,0^{\circ}\text{C}$ bei pH 7,0 auf $5,4^{\circ}\text{C}$ bei pH 9,0 anstiegen. Im Gegensatz dazu nahmen die D-Werte mit steigender Alkalität ab.

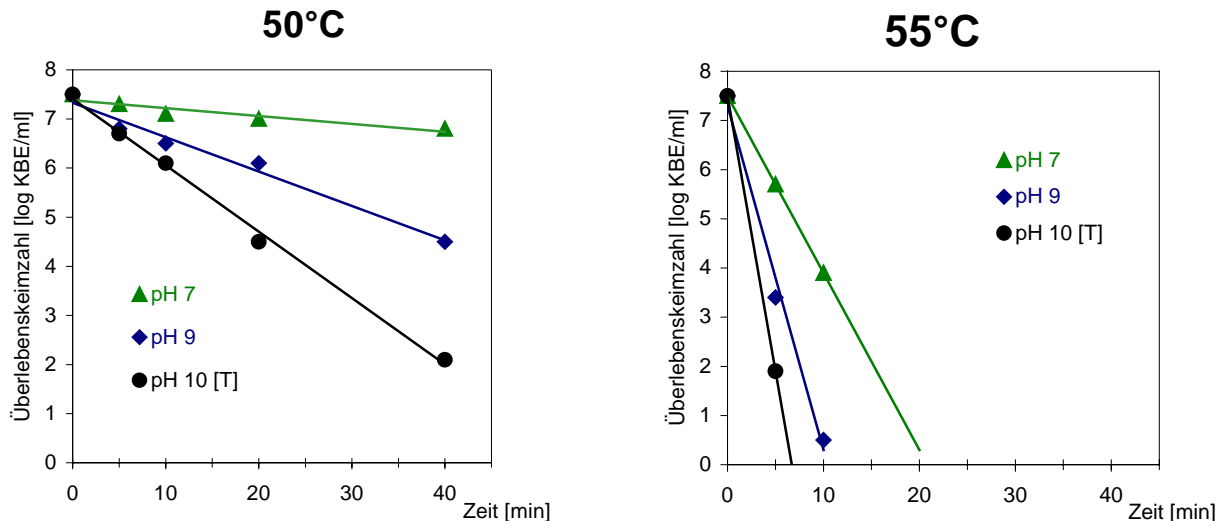


Abb. 5-10: Abtötung von *E. coli* ATCC 11229 in Abhängigkeit vom pH-Wert bei 50°C und 55°C (T= Tris-Puffer)

pH-Wert (bei 20°C)	7	9	10 [T] [*]
effektiver pH-Wert (bei 50°C bzw. 55°C)	7,0	8,3	9,0
D ₅₀ -Wert in Minuten	48,3	13,0	7,2
D ₅₅ -Wert in Minuten	2,7	1,3	0,84
z-Wert in °C	4,0	5,0	5,4

* T= Tris-Puffer

Tab. 5-4: D₅₀-Werte, D₅₅-Werte und z-Wert der thermischen Inaktivierung von *E. coli* ATCC 11229 bei unterschiedlichen pH-Werten

(2) Wirkung nicht-aktivierter Bleichmittel

Perborat

Die Ergebnisse der Untersuchungen der mikrobiziden Wirkung von Perborat auf *E. coli* machten deutlich, daß schon geringe Perboratdosierungen von 0,075% einen signifikanten Abtötungseffekt bewirken konnten, der in Abhängigkeit von der Temperatur mehr oder weniger ausgeprägt war. In Abb. 5-11 ist die Wirkung von 0,075%igen Perboratlösungen bei verschiedenen Temperaturen (30°C bis 50°C) in Abhängigkeit vom pH-Wert dargestellt. Bei 50°C war der Abtötungseffekt in allen Pufferlösungen gleich, so daß unter diesen Bedingungen kein Einfluß des pH-Wertes auf die Abtötung von *E. coli* nachgewiesen werden konnte. Unterhalb von 50°C war die Wirkung von 0,075% Perborat vom pH-Wert der Bleichlösung abhängig, d.h. je höher der eingestellte pH-Wert der Lösung, desto effektiver war die Abtötung von *E. coli*. Bei 30°C konnte nur noch im Puffermedium mit pH 10 [T] eine Abtötungswirkung nachgewiesen werden, die erst zwischen 20 und 40 Minuten einsetzte. In Tab. 5-5 sind die theoretisch ermittelten D-Werte und z-Werte für die chemo-thermische Abtötung von *E. coli*

bei den untersuchten Temperaturen für eine Perboratdosierung von 0,075% aufgeführt. Für die Abtötung bei 30°C wurde kein D-Wert angegeben, da hier die Abtötungskurve in halblogarithmischer Darstellung nicht linear verläuft. Die Senkung der Temperatur führte zu einer Erhöhung der D-Werte. Analog zur thermischen Abtötung wirkte sich eine Erniedrigung des pH-Wertes in einer Erhöhung des D-Wertes aus, umgekehrt stieg der z-Wert der chemo-thermischen Abtötung mit höherem pH-Wert von 17,2°C bei pH 7 auf 24,9°C bei pH 10 [T].

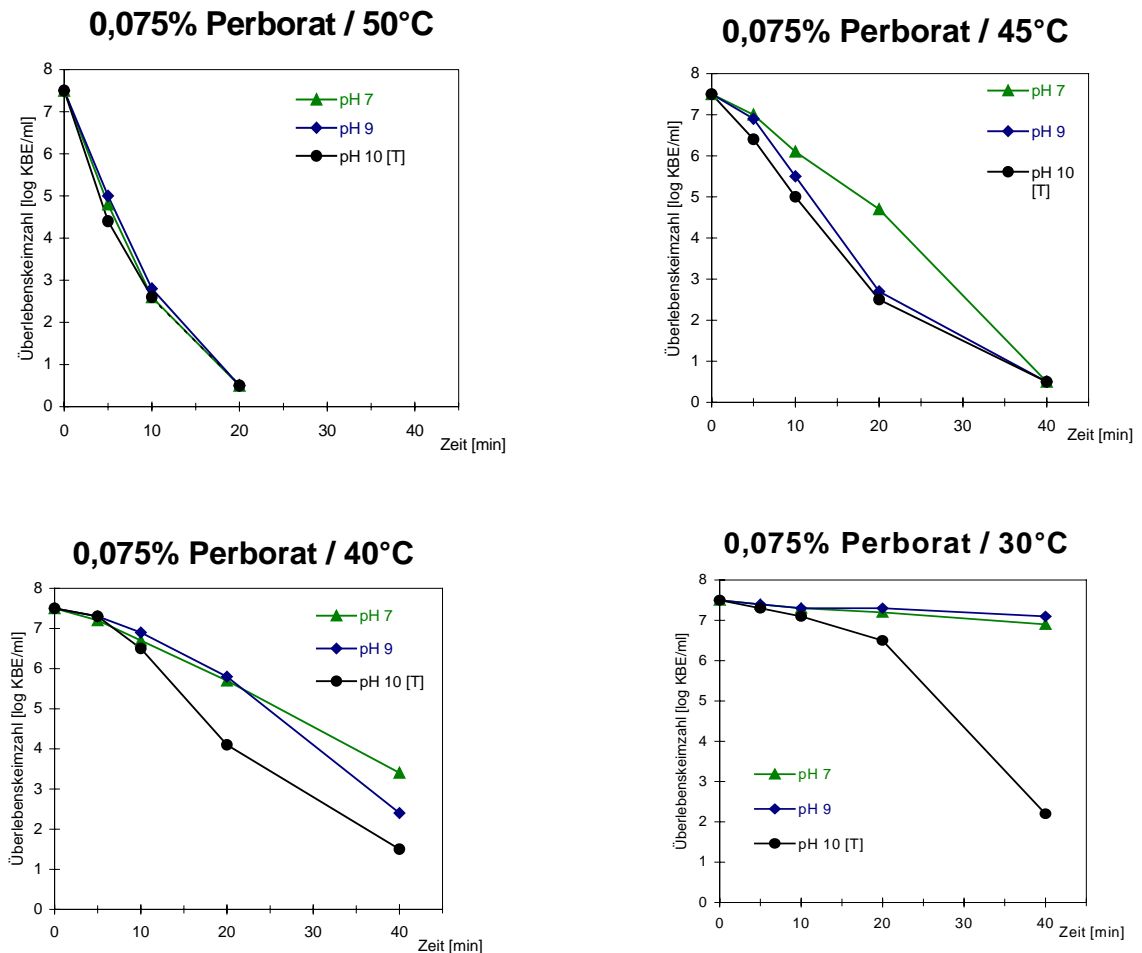


Abb. 5-11: Abtötung von *E. coli* ATCC 11229 durch 0,075% Perborat in Abhängigkeit vom pH-Wert bei verschiedenen Temperaturen (T= Tris-Puffer)

pH-Wert (bei 20°C)	7	9	10 [T] [*]
D-Werte mit 0,075% Perborat			
D₅₀-Wert in Minuten	2,5	2,5	2,5
D₄₅-Wert in Minuten	7,1	4,0	3,3
D₄₀-Wert in Minuten	9,7	7,6	6,3
z-Wert in °C	17,2	20,7	24,9

* T= Tris-Puffer

Tab. 5-5: D-Werte und z-Wert der chemo-thermischen Inaktivierung von *E. coli* ATCC 11229 durch 0,075% Perborat bei unterschiedlichen pH-Werten

In einer weiteren Versuchsreihe wurde der Einfluß der Perboratkonzentration auf den Abtötungseffekt im Niedrigtemperaturbereich ermittelt. Dazu wurde die Wirkung von Perborat in unterschiedlichen Dosierungen (0,1%; 0,2%) bei 30°C untersucht und die Ergebnisse in Abb. 5-12 für beide Konzentrationen vergleichend dargestellt. Die Erhöhung der Perboratdosierung auf 0,2% (rechte Grafik) führte zu einer signifikanten Wirkungssteigerung im Vergleich zu 0,1%igem Perboratzusatz (linke Grafik). Der Konzentrationseffekt trat insbesondere bei pH 7 und pH 9 in Erscheinung, wobei die Abtötungswirkung bei der niedrigeren Konzentration in Abhängigkeit vom pH-Wert erst nach 20 min (pH 10 [T]) bzw. zwischen 20 und 40 min (pH 7 und pH 9) einsetzte.

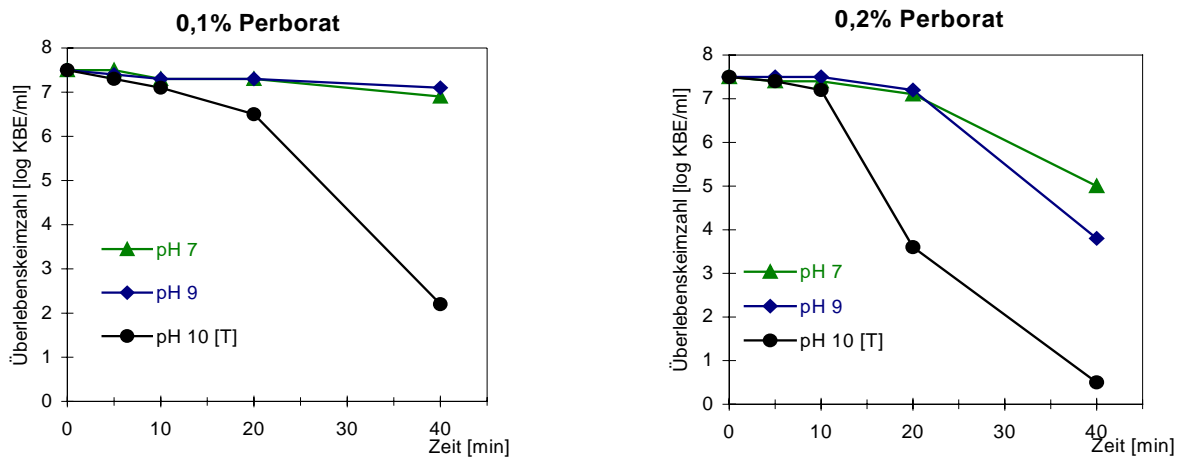


Abb. 5-12: Abtötung von *E. coli* ATCC 11229 durch Perborat unterschiedlicher Konzentrationen in Abhängigkeit vom pH-Wert bei 30°C (T= Tris-Puffer)

(3) Wirkung TAED-aktivierter Bleichsysteme

Die Versuchsreihen zur Wirkung TAED-aktivierter Bleichsysteme auf *E. coli* wurden in Anlehnung an die Untersuchungen von STEINHÄUER [1997] ausschließlich im Niedrigtemperaturbereich bei 30°C und 40°C durchgeführt. Der Zusatz von TAED zu Perborat führte zu einer signifikanten Steigerung der Abtötungswirkung unabhängig vom pH-Wert. In Abb. 5-13 sind die Ergebnisse bei einer Dosierung von 0,075% Perborat (linke Grafik) bzw. 0,075% Perborat und 0,0075% TAED (rechte Grafik) für pH 7 bei 40°C und 30°C vergleichend dargestellt. Die Ergebnisse der anderen pH-Werte wurden nicht in die Grafik aufgenommen, da keine signifikanten Unterschiede im Vergleich zu den dargestellten Ergebnissen bei pH 7 zu erkennen waren. Im aktivierten System trat bei der höheren Temperatur von 40°C innerhalb von 10 Minuten eine Abtötung der *E. coli* -Zellen um mehr als 7 Zehnerpotenzen ein, bei 30°C konnte diese Abtötung erst nach 20 Minuten erreicht werden. Die Angleichung der TAED-Menge an die Perboratmenge (0,075%:0,075%) führte bei allen pH-Werten innerhalb von 5 Minuten zu einer Abtötung um mehr als 7 Zehnerpotenzen (Daten nicht dargestellt).

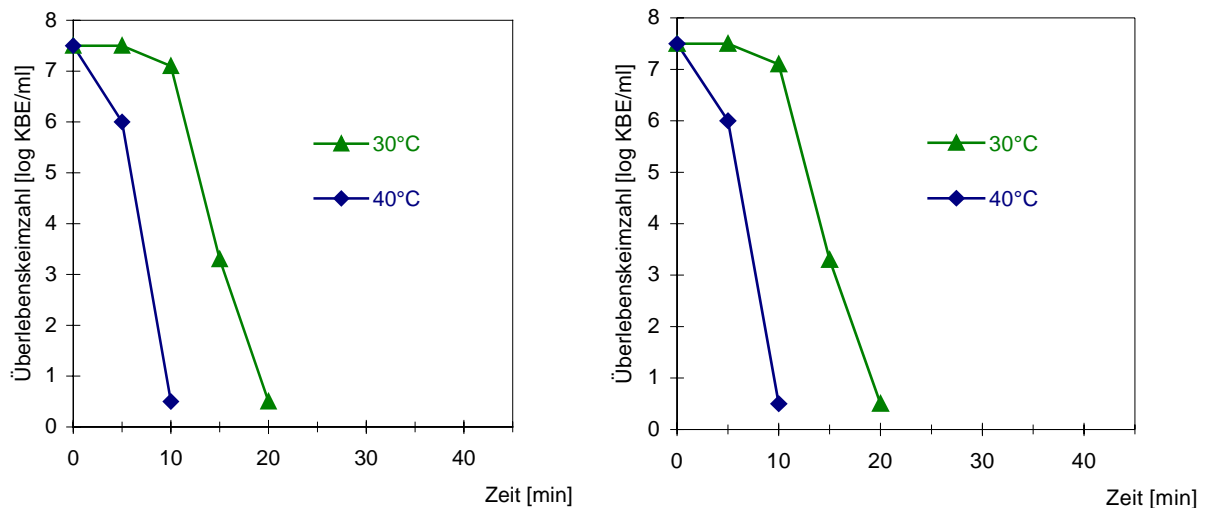
**0,075% Perborat****0,075% Perborat + 0,0075% TAED**

Abb. 5-13: Abtötung von *E. coli* ATCC 11229 durch 0,075% Perborat (linke Grafik) bzw. 0,075% Perborat und 0,0075% TAED (10:1) (rechte Grafik) bei 40°C und 30°C im Puffermedium mit pH 7

5.1.1.3 *Staphylococcus aureus* WS 2286

Die Ergebnisse aus den vorhergehenden Versuchsreihen zur Untersuchung der bakteriziden Wirkung von Bleichmitteln und aktivierten Bleichsystemen auf *Entc. faecium* und *E. coli* hatten gezeigt, daß Unterschiede in der pH-abhängigen Wirkung von Bleichmitteln auftraten. Die Wirkung von nicht-aktiviertem Perborat war bei höheren pH-Werten besser, während die Wirkung von aktivierten Bleichsystemen und PAP bei pH 7 am stärksten war. Ausgehend von diesen Befunden wurden die Versuchsansätze mit *St. aureus* nicht mehr im gesamten alkalischen pH-Spektrum durchgeführt, sondern in den ausgewählten Pufferlösungen mit pH 7 und pH 10 [Tris-Puffer] bzw. pH 10 [Carbonat-Puffer].

(1) *Thermische Inaktivierung in Abhängigkeit vom pH-Wert*

Die Vorversuche zur Hitzeeinaktivierung zeigten, daß die Abtötung von *St. aureus* durch alleinige Temperatureinwirkung erst ab einer Temperatur von 50°C einsetzte und vom pH-Wert mit beeinflusst wurde. Die Ergebnisse der pH-abhängigen thermischen Abtötung von *St. aureus* sind in Abb. 5-14 bzw. die bei dieser Temperatur ermittelten D-Werte sind in Tab. 5-6 dargestellt. Der Vergleich der D-Werte in Tab. 5-6 bzw. der Abtötungskurven in Abb. 5-14 zeigt, daß *St. aureus* im neutralen Medium mit pH 7 eine höhere Hitzetoleranz aufwies als im alkalischen bei pH 10 (Carbonatpuffer).

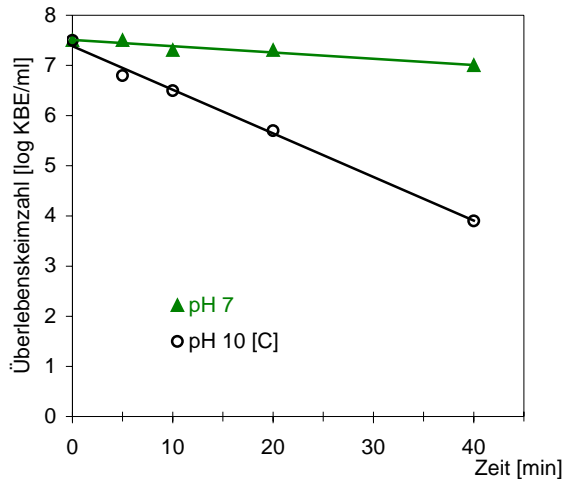


Abb. 5-14: Thermische Abtötung von *St. aureus* WS 2286 in Abhängigkeit vom pH-Wert bei 50°C (C= Carbonat-Puffer)

pH-Wert (bei 20°C)	7	10 [C]*
D ₅₀ -Wert in Minuten	78,7	11,8

* C= Carbonat-Puffer

Tab. 5-6: D₅₀-Werte von *St. aureus* WS 2286 bei unterschiedlichen pH-Werten

(2) Wirkung nicht-aktivierter Bleichmittel

Perborat

Die Versuchsreihen zur keimabtötenden Wirkung von Perborat auf *St. aureus* zeigten, daß *St. aureus* bei 40°C erst durch hohe Perboratdosierungen (1%) abgetötet wurde, wobei hier der pH-Wert für die Wirkung eher eine untergeordnete Rolle spielte (Abb. 5-15). Bei dieser hohen Perboratdosierung von 1,0% war die Pufferkapazität der für die Versuche verwendeten Pufferlösungen beeinträchtigt, weshalb der effektive pH-Wert im Puffer mit pH 7 nach Zugabe des Bleichmittels auf pH 8,9 anstieg, in den alkalischen Pufferlösungen mit pH 10 [C]/[T] stieg er nach Zugabe der Bleichmittel auf pH 10,3 an (vgl. Tab. 5-2, S. 59). In den 1%igen Perboratlösungen setzte die keimabtötende Wirkung des nicht-aktivierten Perborates zwischen 5 und 10 Minuten Einwirkzeit ein und verlief zwischen 10 und 20 Minuten am stärksten. Nach 40 Minuten konnte eine Abnahme der Keimzahl von *St. aureus* um 3 bis 4 Zehnerpotenzen nachgewiesen werden.

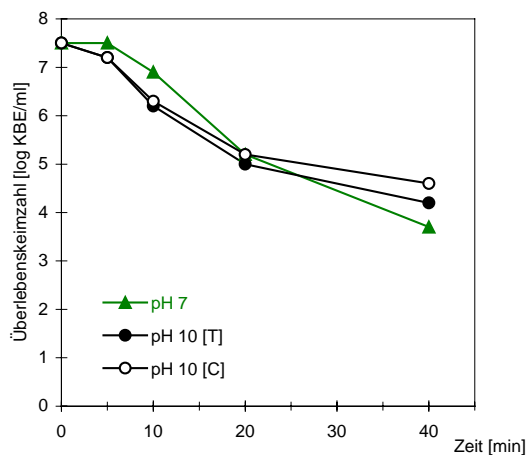


Abb. 5-15: Abtötung von *St. aureus* WS 2286 durch 1,0% Perborat in Abhängigkeit vom pH-Wert bei 40°C (T= Tris-Puffer, C= Carbonat-Puffer)

Phthalimido-peroxo-capronsäure (PAP)

Die Versuche mit der organischen Persäure PAP ergaben, daß die mikrobizide Wirkung von PAP gegenüber *St. aureus* der Wirkung von Perborat deutlich überlegen war. Abb. 5-16 zeigt die Wirkung von PAP in unterschiedlichen Dosierungen bei 30°C. Unabhängig von der Bleichmitteldosierung konnte in der Bleichlösung mit pH 7 eine signifikant bessere Wirkung nachgewiesen werden als in den alkalischen Pufferlösungen. Mit 0,1% PAP wurden in der Bleichlösung mit pH 7 innerhalb von 10 Minuten mehr als 7 Zehnerpotenzen von *St. aureus* abgetötet, in den Bleichlösungen mit pH 10 [C]/[T] waren zu diesem Zeitpunkt nur ca. 2,5 Zehnerpotenzen inaktiviert. Durch die Verdoppelung der Konzentration wurde der mikrobizide Effekt verstärkt: in der 0,2%igen PAP-Lösung von pH 7 nahm die Keimzahl von *St. aureus* innerhalb von 5 Minuten um mehr als 7 Zehnerpotenzen ab, in der alkalischen Lösung wurde dieser Effekt innerhalb von 10 Minuten erreicht, wobei kein signifikanter Einfluß der Puffersubstanz (pH 10 [C]/pH10 [T]) zu beobachten war.

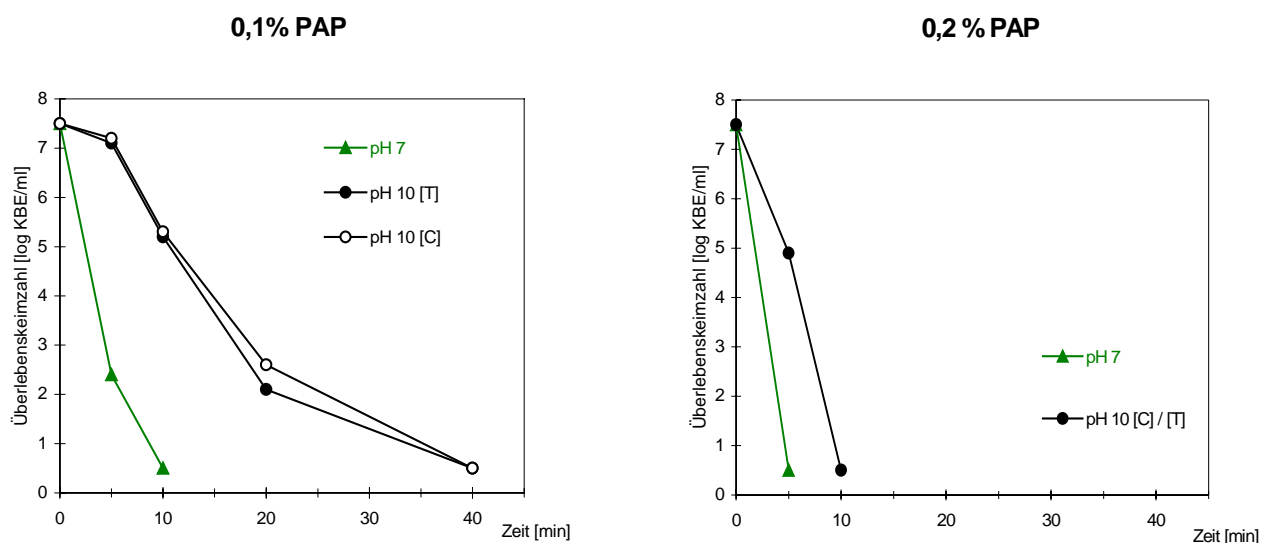


Abb. 5-16: Abtötung von *St. aureus* WS 2286 durch PAP unterschiedlicher Konzentrationen in Abhängigkeit vom pH-Wert bei 30°C (T= Tris-Puffer, C= Carbonat-Puffer)

(3) Wirkung aktivierter Bleichsysteme

TAED-aktivierte Bleichsysteme

Die Ergebnisse zur temperaturabhängigen Wirkung von TAED-aktiviertem Perborat auf *St. aureus* sind in Abb. 5-17 anhand ausgewählter Konzentrationen und unterschiedlicher pH-Werte vergleichend bei 40°C und 30°C dargestellt. Mit der niedrigeren Perborat/TAED-Dosierung von 0,1% Perborat und 0,02% TAED konnte bei 40°C (A1) in den Pufferlösungen mit pH 7 und pH 10 [C] nach 20 Minuten eine Keimabtötung von mehr als 6,5 Zehnerpotenzen nachgewiesen werden. Bei 30°C war die Wirkung derselben Perborat/TAED-Dosierung (Abb. 5-17, B1) erheblich schlechter. Die Abtötungswirkung im organischen Tris-Puffer (pH 10 [T]) war insbesondere bei den niedrigen Dosierungen (A1 und B1) bzw. bei der niedrigeren Temperatur (Abb. 5-17, B1 und B2) der Wirkung im anorganischen Puffer (pH 10 [C]) unterlegen. Die beste Wirkung gegenüber *St. aureus* zeigte das Perborat-/TAED-Bleichsystem im Puffer mit pH 7. In allen Pufferlösungen konnte die Wirkung durch Konzentrationserhöhung (=Verdopplung der Perborat- und TAED-Konzentration) oder durch Temperaturerhöhung gesteigert werden.

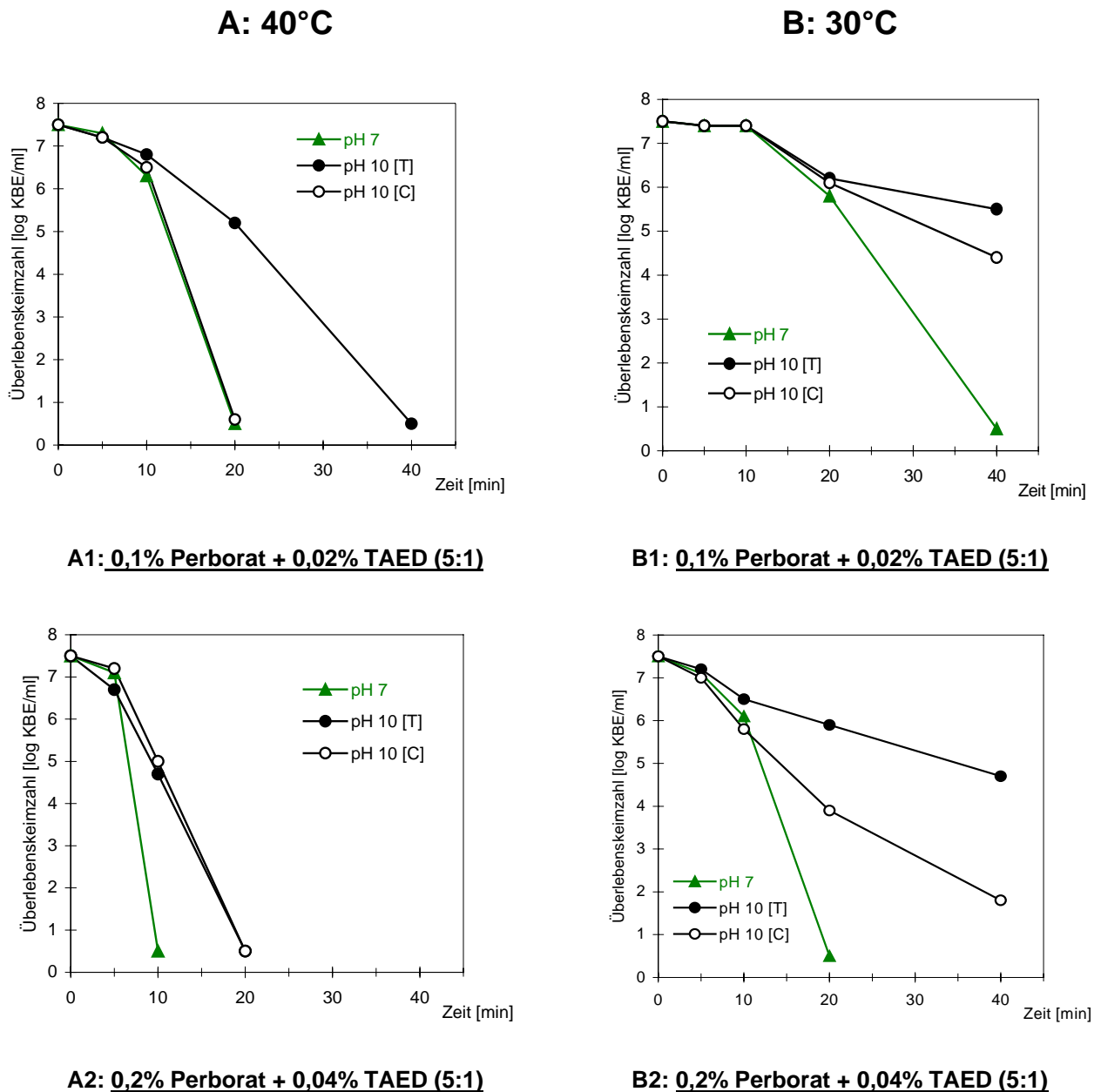


Abb. 5-17: Abtötung von *St. aureus* WS 2286 durch Perborat und TAED unterschiedlicher Konzentrationen in Abhängigkeit vom pH-Wert bei 40°C (Versuchsreihe A) und 30°C (Versuchsreihe B) (T= Tris-Puffer, C= Carbonat-Puffer)

NOBS-aktivierte Bleichsysteme

Die Aktivierung von 0,1% Perborat durch Zusatz des Aktivators NOBS (0,02%) führte zu einer signifikanten Abtötung von *St. aureus*. Unabhängig vom pH-Wert der Bleichlösung bzw. unabhängig von der Puffersubstanz konnte in allen Versuchsansätzen (pH 7, pH 10 [C] und pH 10 [T]) bei 30°C innerhalb von 5 Minuten eine Abnahme der Keimzahl und mehr als 6,5 Zehnerpotenzen nachgewiesen werden (Daten nicht dargestellt). Damit war die Wirkung des NOBS-aktivierten Bleichsystems der Wirkung des TAED-aktivierten Bleichsystems überlegen.

5.1.1.4 *Mycobacterium terrae* ATCC 15755

Die Untersuchungen zur bakteriziden Wirkung von Bleichmitteln auf *M. terrae* erforderten wegen der langen Bebrütungsdauer einen erheblichen Zeitaufwand bzw. große Lagerkapazitäten während der Bebrütungsdauer. Deshalb und aufgrund der Ergebnisse aus den vorausgegangenen Versuchsreihen, wurden für die Bestimmung der Wirkung der Bleichsysteme nur ausgewählte pH-Werte und ausgewählte Konzentrationen in die Versuchsreihen mit einbezogen.

(1) *Thermische Inaktivierung in Abhängigkeit vom pH-Wert*

Die Versuche zur Abtötung von *M. terrae* durch alleinige Temperatureinwirkung in Abhängigkeit vom pH-Wert ergaben, daß eine thermische Inaktivierung von *M. terrae* erst bei Temperaturen über 50°C zu erkennen war. In Abb. 5-18 ist die pH-abhängige Abtötung von *M. terrae* bei 55°C dargestellt. Der Vergleich der D_{55} -Werte in Tab. 5-7 zeigt, daß die D_{55} -Werte mit zunehmendem pH-Wert abnahmen und damit bei höheren pH-Werten eine stärkere Abtötungswirkung erreicht werden konnte.

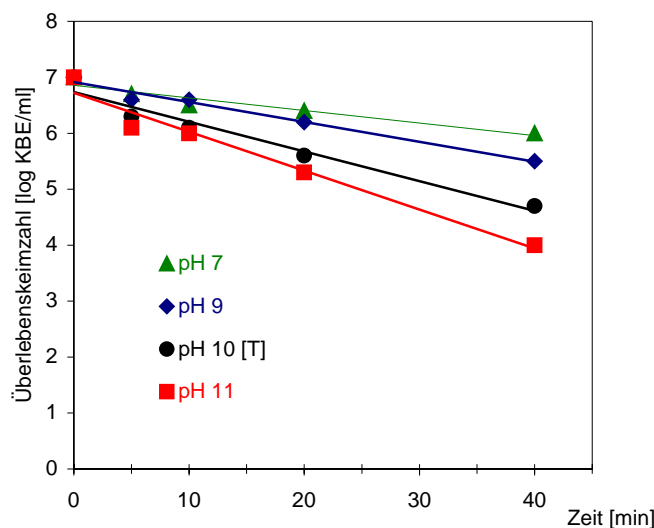


Abb. 5-18: Thermische Abtötung von *M. terrae* ATCC 15755 in Abhängigkeit vom pH-Wert bei 55°C (T= Tris-Puffer)

pH-Wert (bei 20°C)	7	9	10 [T]*	11
effektiver pH-Wert (bei 55°C)	7,0	8,3	9,0	10,2
D_{55}-Wert in Minuten	44,1	28,4	18,4	14,5

T= Tris-Puffer

Tab. 5-7: D_{55} -Werte von *M. terrae* ATCC 15755 bei unterschiedlichen pH-Werten

(2) Wirkung aktivierter Bleichsysteme

TAED-aktivierte Bleichsysteme

Bei der höchsten untersuchten Temperatur von 50°C konnte mit 0,1% Perborat und 0,02% TAED (5:1) eine pH-abhängige Abnahme der Keimzahl von *M. terrae* innerhalb der Versuchsdauer von 40 Minuten nachgewiesen werden (Abb. 5-19), die im Puffer mit pH 7 (6 Zehnerpotenzen nach 40 min) ausgeprägter war als im organischen Tris-Puffer mit pH 10 [T] (3 Zehnerpotenzen nach 40 min).

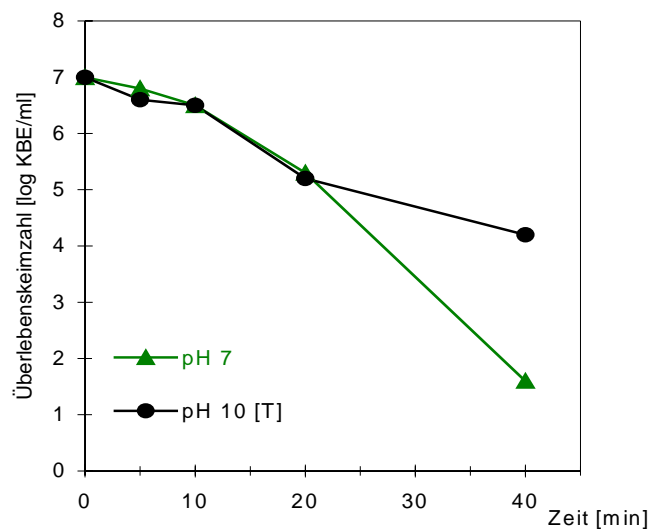


Abb. 5-19: Abtötung von *M. terrae* ATCC 15755 durch 0,1% Perborat und 0,02% TAED (5:1) in Abhängigkeit vom pH-Wert bei 50°C (T= Tris-Puffer)

Weitere Versuche mit Perborat und TAED wurden bei 40°C durchgeführt. Die Wirkung von TAED-aktiviertem Perborat in ausgewählten Konzentrationen ist in Abb. 5-20 vergleichend dargestellt. Es zeigte sich, daß bei der Versuchstemperatur von 40°C mit den ausgewählten Dosierungen nur in der Bleichlösung mit pH 7 innerhalb von 40 Minuten eine Keimabtötung erreicht werden konnte, die durch die Erhöhung der Konzentration der Bleichkomponenten noch verstärkt werden konnte. In der linken Grafik in Abb. 5-20 ist zu erkennen, daß bei der niedrigeren Dosierung (0,2% Perborat:0,04% TAED) die Wirkung verzögert einsetzte, so daß erst nach 40 Minuten eine Abtötung von *M. terrae* um 3,5 Zehnerpotenzen nachweisbar war. Im Vergleich dazu war bei der höheren Dosierung von 0,4% Perborat und 0,08% TAED (rechte Grafik) schon nach 10 Minuten eine Abnahme der Keimzahl zu erkennen. Durch die höhere Konzentration konnte nach 40 Minuten eine Abnahme der Keimzahl um mehr als 6,5 Zehnerpotenzen erreicht werden.

Der Einfluß der Puffersubstanz wurde im Versuchsansatz mit 0,2% Perborat und 0,04% TAED geprüft. Unter diesen Bedingungen waren keine Unterschiede in der Wirkung zwischen dem organischen Tris-Puffer und dem anorganischen Carbonat-Puffer bei pH 10 zu erkennen.

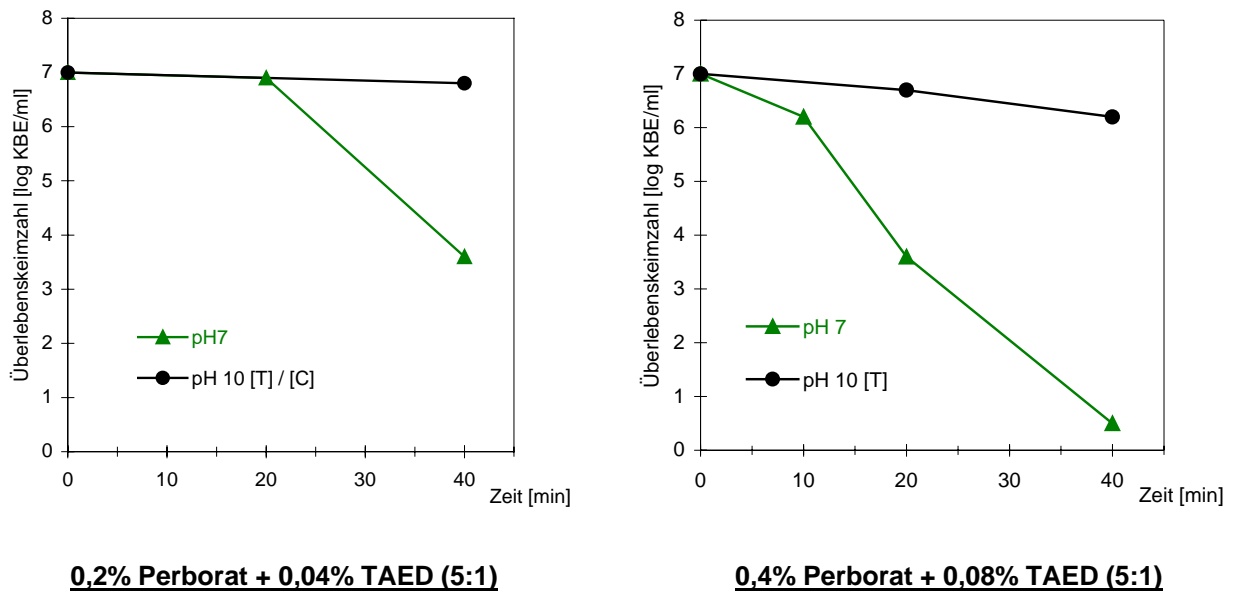


Abb. 5-20: Abtötung von *M. terrae* ATCC 15755 durch Perborat und TAED unterschiedlicher Konzentrationen in Abhängigkeit vom pH-Wert bei 40°C (T= Tris-Puffer, C= Carbonat-Puffer)

NOBS-aktivierte Bleichsysteme

Es zeigte sich, daß die Wirkung des NOBS-aktivierten Bleichsystems der Wirkung des TAED-aktivierten Bleichsystems auch bei *M. terrae* überlegen war. Mit dem NOBS-aktivierten Bleichsystem konnte bei 40°C bei der Dosierung von 0,2% Perborat und 0,04% NOBS sowohl bei pH 7 als auch bei pH 10 [T] innerhalb von 5 Minuten eine Abnahme der Keimzahl um mehr als 6,5 Zehnerpotenzen nachgewiesen werden (Daten nicht dargestellt). In Abb. 5-21 ist die pH-abhängige Wirkung von 0,1% Perborat und 0,02% NOBS (5:1) bei 40°C (linke Grafik) und 30°C (rechte Grafik) vergleichend dargestellt. In dieser Dosierung führte das NOBS-aktivierte Bleichsystem bei 40°C innerhalb von 5 Minuten zu einer signifikanten Abtötung von *M. terrae* um 4 bis 5 Zehnerpotenzen, wobei in der alkalischen Bleichlösung ein leicht besserer Effekt zu beobachten war. Bei längeren Einwirkzeiten konnte nur noch ein minimaler zusätzlicher keimabtötender Effekt nachgewiesen werden. Ähnliche Ergebnisse zeigten sich bei 30°C unter denselben Konzentrationsbedingungen: innerhalb von 5 Minuten wurden durch 0,1% Perborat und 0,02% NOBS zwischen 3,5 und 4,5 Zehnerpotenzen inaktiviert. In den Bleichlösungen mit pH 7 und pH 10 [C] veränderte sich nach 20 Minuten die Keimzahl nicht mehr signifikant, im organischen Tris-Puffer war eine Keimabtötung nur innerhalb von 5 Minuten nachzuweisen, die durch eine verlängerte Einwirkzeit nicht verstärkt werden konnte. Die Ergebnisse zeigten auch hier, daß bei niedrigen Temperaturen ein Einfluß der Puffersubstanz zu erkennen war.

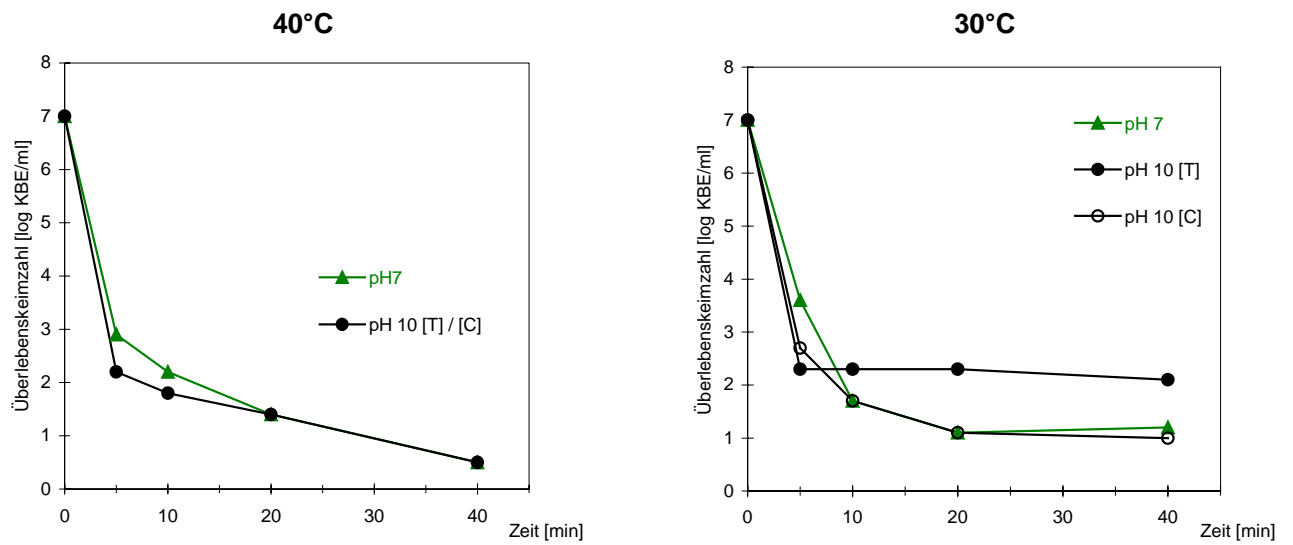


Abb. 5-21: Abtötung von *M. terrae* ATCC 15755 durch 0,1% Perborat und 0,02% NOBS in Abhängigkeit vom pH-Wert bei 40°C und 30°C (T= Tris-Puffer, C= Carbonat-Puffer)

5.1.2 Fungizide Wirkung

Für die Untersuchung der fungiziden Eigenschaften von Bleichmittelsystemen wurden als Testkeime eine Hefe (*C. albicans*) und ein Schimmelpilz (*A. niger*) ausgewählt (vgl. Kap. 3.2). Aufgrund der Erkenntnisse aus den vorhergehenden Versuchsreihen zur Untersuchung der bakteriziden Wirkung wurden einige Versuchsansätze nicht mehr im gesamten alkalischen pH-Spektrum durchgeführt, sondern in den ausgewählten Pufferlösungen mit pH 7 und pH 10 (in 2 verschiedenen Puffersystemen).

5.1.2.1 *Candida albicans* ATCC 10231

(1) Thermische Inaktivierung in Abhängigkeit vom pH-Wert

Die Versuche zur thermischen Abtötung von *C. albicans* zeigten, daß eine nennenswerte Abtötung der Hefe erst über 50°C erkennbar war. In Abb. 5-22 ist die pH-abhängige Abtötung von *C. albicans* bei 55°C dargestellt. Der Vergleich der Abtötungskinetiken bzw. der D-Werte (Tab. 5-8) bei den verschiedenen pH-Werten zeigt eine deutliche pH-Abhängigkeit der Hitzeinaktivierung. Die grafische Darstellung der D_{55} -Werte in Abhängigkeit vom pH-Wert zeigt, daß *C. albicans* bei pH 9 die größte Hitzetoleranz aufwies (Abb. 5-23). Die Erhöhung des pH-Wertes um eine pH-Einheit auf pH 10 [T] führte zu einer Zunahme der Hitzeempfindlichkeit von *C. albicans*. Der D-Wert veränderte sich durch eine weitere pH-Erhöhung um eine pH-Einheit auf pH 11 nicht mehr. Die Erniedrigung des pH-Wertes auf pH 7 wirkte sich ebenfalls in einer Abnahme des D-Wertes aus, diese war jedoch geringer als bei der pH-Erhöhung.

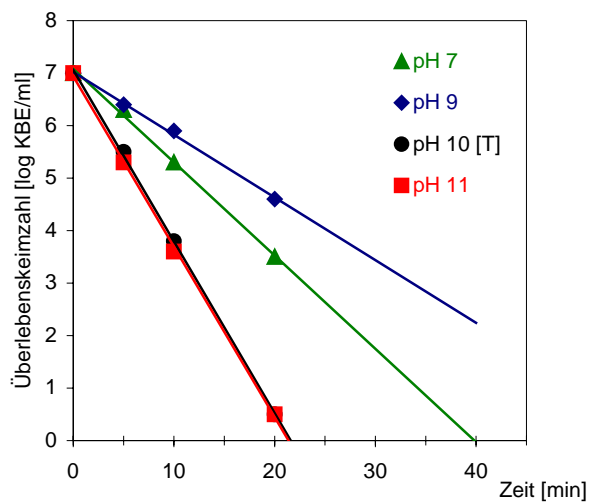


Abb. 5-22: Thermische Abtötung von *C. albicans* ATCC 10231 in Abhängigkeit vom pH-Wert bei 55°C (T= Tris-Puffer)

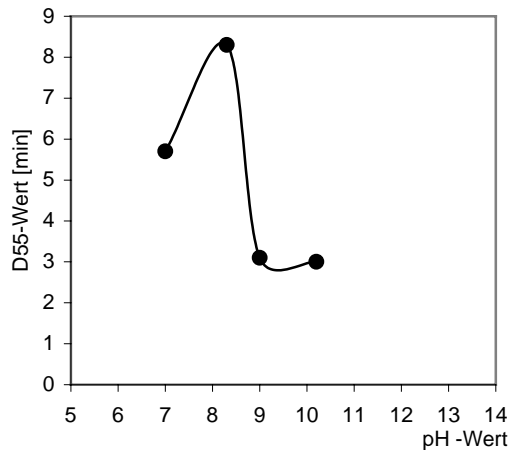


Abb. 5-23: D₅₅-Werte von *C. albicans* ATCC 10231 in Abhängigkeit vom pH-Wert bei 55°C

pH-Wert (bei 20°C)	7	9	10 [T] [*]	11
effektiver pH-Wert (bei 55°C)	7,0	8,3	9,0	10,2
D₅₅-Wert in Minuten	5,7	8,3	3,1	3,0

Tris-Puffer

Tab. 5-8: D₅₅-Werte von *C. albicans* ATCC 10231 bei unterschiedlichen pH-Werten

(2) Wirkung nicht-aktivierter Bleichmittel

Perborat

Aus den Untersuchungen von STARK [1998] ist bekannt, daß eine Abtötung der Hefe *Saccharomyces cerevisiae* bei niedrigen Temperaturen nur durch hohe Perboratkonzentrationen (> 1%) erzielt werden konnte. Deshalb wurde im Rahmen dieser Untersuchungen die Wirkung niedriger Perboratkonzentrationen bei einer subletalen Temperatur von 50°C bestimmt. Es zeigte sich, daß 0,1%ige Perboratlösungen bei 50°C nur bei pH 10 zu einer Abtötung führten und die Abtötungswirkung erst zwischen 20 und 40 Minuten einsetzte (Abb. 5-24). Nach 40-minütiger Einwirkdauer betrug die Abnahme der Keimzahl bei pH 10 [C] 4 Zehnerpotenzen. Bei einer Temperatur von 40°C konnte mit 1,0%iger Perboratdosierung nach 40 Minuten nur eine Keimabtötung um 1 bis 2 Zehnerpotenzen beobachtet werden, die im neutralen Puffermedium am geringsten war (Abb. 5-25).

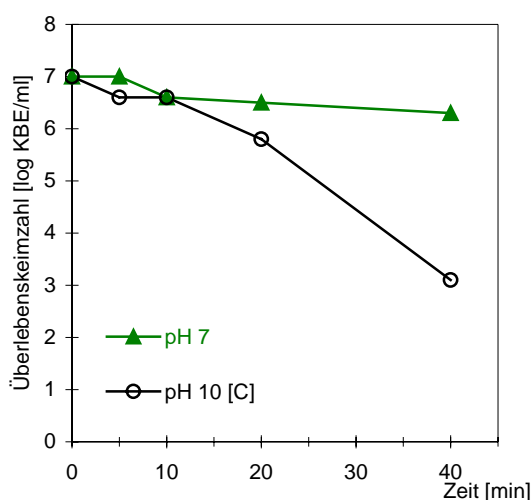


Abb. 5-24: Abtötung von *C. albicans* ATCC 10231 durch 0,1% Perborat in Abhängigkeit vom pH-Wert bei 50°C (C= Carbonat-Puffer)

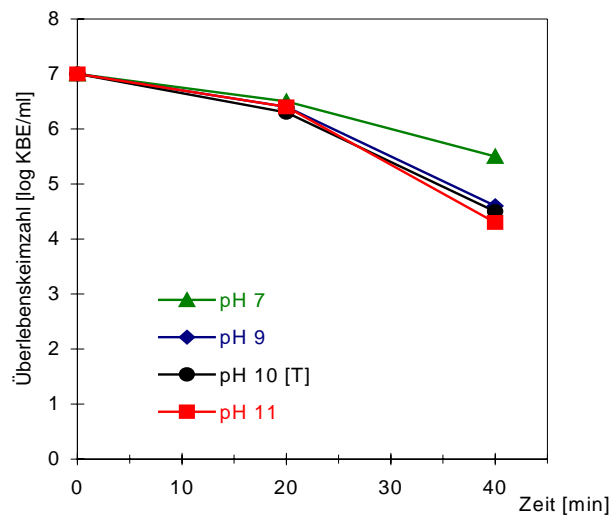


Abb. 5-25: Abtötung von *C. albicans* ATCC 10231 durch 1,0% Perborat in Abhängigkeit vom pH-Wert bei 40°C (T= Tris-Puffer)

Natriumhypochlorit

Aufgrund der geringen fungiziden Wirkung von Perborat im Niedrigtemperaturbereich, wurde zum Vergleich die Wirkung von Natriumhypochlorit auf *C. albicans* bestimmt. In 0,1%igen Natriumhypochloritlösungen betrug die Abtötungswirkung in den anorganischen Puffermedien mit den pH-Werten pH 7, pH 10 [C] und pH 11 innerhalb von 5 Minuten mehr als 6,5 Zehnerpotenzen, im organischen Tris-Puffer mit pH 10 [T] konnte mit dieser Dosierung kein Abtötungseffekt nachgewiesen werden (Daten nicht dargestellt). Offensichtlich treten im organischen Tris-Puffer Interaktionen zwischen Bleichmittel und Puffersubstanz auf, die schon in anderen Versuchen beobachtet wurden (vgl. Kap. 5.1.1.1).

Phthalimido-peroxo-capronsäure (PAP)

Die organische Persäure PAP zeigte in 0,2%iger Dosierung bei 30°C in den untersuchten Puffern mit pH 7 und pH 10 [C] eine minimale Abtötungswirkung gegenüber *C. albicans*: nach 40 Minuten konnte bei pH 7 eine Abnahme der Keimzahl von *C. albicans* um 1,5 Zehnerpotenzen nachgewiesen werden, in der Bleichlösung mit pH 10 konnte keine Keimabtötung beobachtet werden (Abb. 5-26).

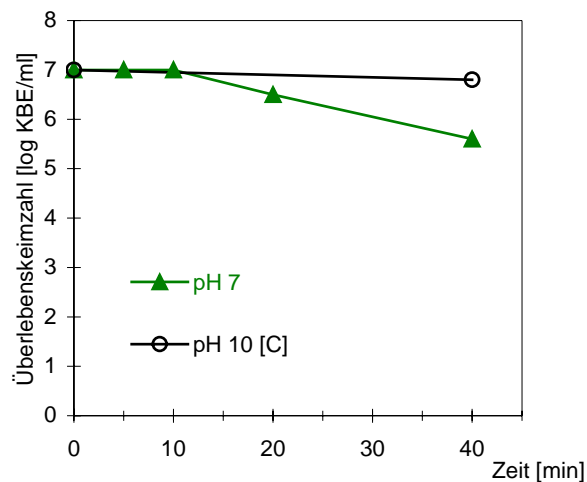


Abb. 5-26: Abtötung von *C. albicans* ATCC 10231 durch 0,2% PAP in Abhängigkeit vom pH-Wert bei 30°C (C= Carbonat-Puffer)

(3) Wirkung aktivierter Bleichsysteme

Nach STARK [1998] sind für die Abtötung von *S. cerevisiae* durch aktivierte Bleichsysteme im Niedrigtemperaturbereich relativ hohe Bleichmittel- und Aktivatorkonzentrationen erforderlich. Aufbauend auf dieser Erkenntnis wurden in dieser Untersuchung die Versuchsreihen zur Ermittlung der Abtötungswirkung aktivierter Bleichsysteme auf *C. albicans* bei den Temperaturen 30°C, 40°C und 50°C mit den Aktivatoren TAED und NOBS durchgeführt.

TAED-aktivierte Bleichsysteme

Bei der höchsten untersuchten Temperatur von 50°C konnte der Zusatz von 0,02% TAED zu 0,1% Perborat (Abb. 5-27, rechte Grafik) im Vergleich zur alleinigen Wirkung von 0,1% Perborat (linke Grafik) eine signifikante Steigerung der Abtötung von *C. albicans* bewirken, insbesondere im Puffermedium mit pH 7. In der alkalischen Pufferlösung mit pH 10 [C] unterschieden sich die Abtötungsraten des aktivierten bzw. nicht-aktivierten Perborates nur geringfügig voneinander.

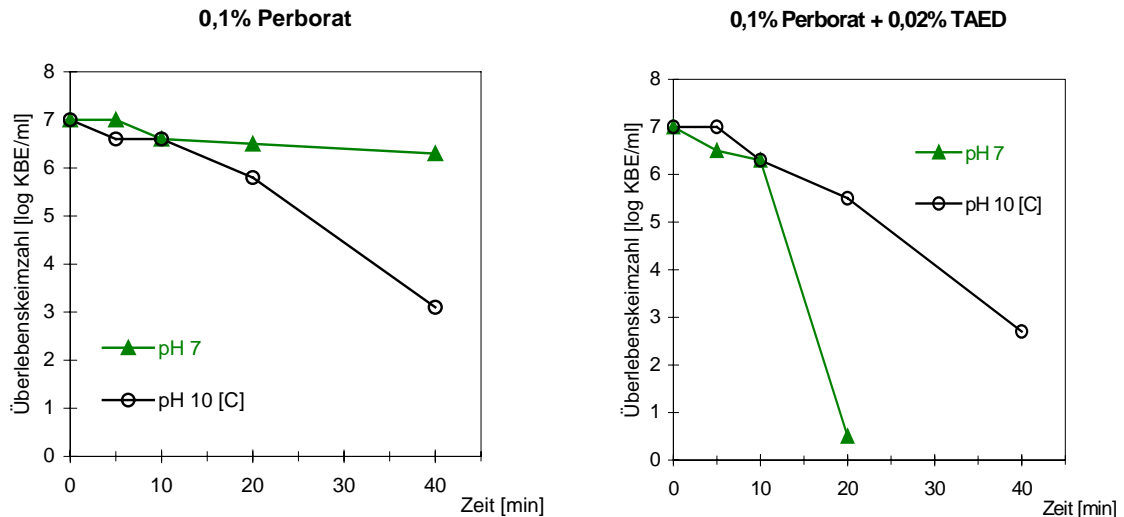
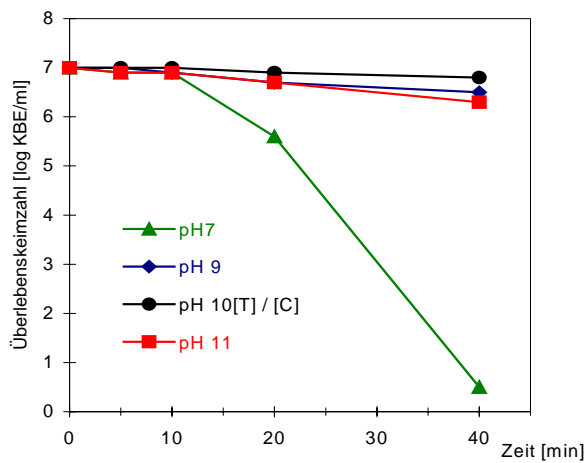


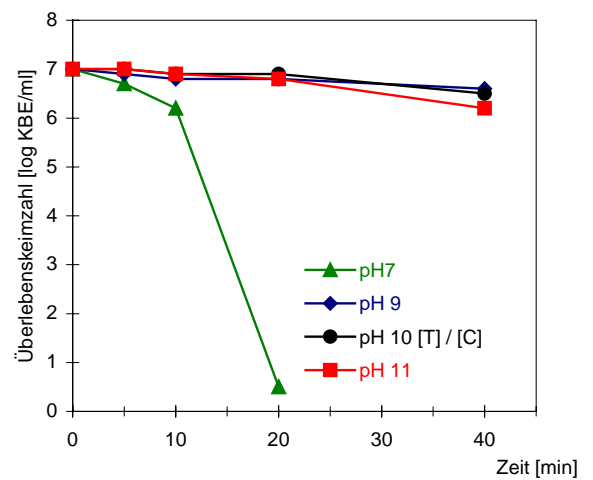
Abb. 5-27: Abtötung von *C. albicans* ATCC 10231 durch 0,1% Perborat (linke Grafik) bzw. 0,1% Perborat und 0,02% TAED (5:1) (rechte Grafik) in Abhängigkeit vom pH-Wert bei 50°C (C= Carbonat-Puffer)

In Abb. 5-28 ist die pH-abhängige Abtötungswirkung unterschiedlicher Perborat-/TAED-Dosierungen bei 40°C vergleichend dargestellt. Wie schon aus den Untersuchungen zur bakteriziden Wirkung bekannt, konnte auch hier eine konzentrations- und pH-abhängige Wirkung der TAED-aktivierten Bleichsysteme nachgewiesen werden. Eine effektive Inaktivierung von *C. albicans* wurde mit den untersuchten Perborat/TAED-Konzentrationen nur bei pH 7 erzielt, bei den höheren pH-Werten war die Wirkung im untersuchten Konzentrationsbereich innerhalb von 40 Minuten unzureichend. In Abhängigkeit von der Perborat/TAED-Konzentration wurden bei pH 7 nach 10 Minuten (D) bzw. 20 Minuten (B und C) bzw. 40 Minuten (A) mehr als 6,5 Zehnerpotenzen abgetötet. Die Erhöhung der TAED-Konzentration verbesserte die Wirkung aktivierter Bleichsysteme auf *C. albicans* signifikant.

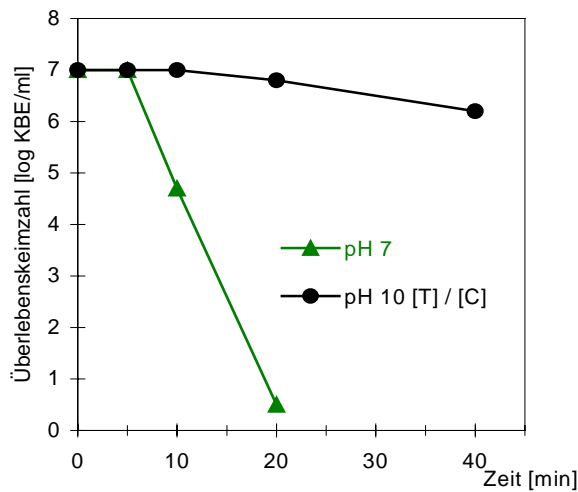
In einigen Versuchsreihen wurde die Wirkung von Perborat und TAED bei pH 10 sowohl im organischen Tris-Puffer (pH 10 [T]) als auch im anorganischen Carbonat-Puffer (pH 10 [C]) bestimmt und es konnte innerhalb der Versuchsdauer von 40 Minuten kein Unterschied in der Wirkung gefunden und damit kein Einfluß des Puffermediums gefunden werden.



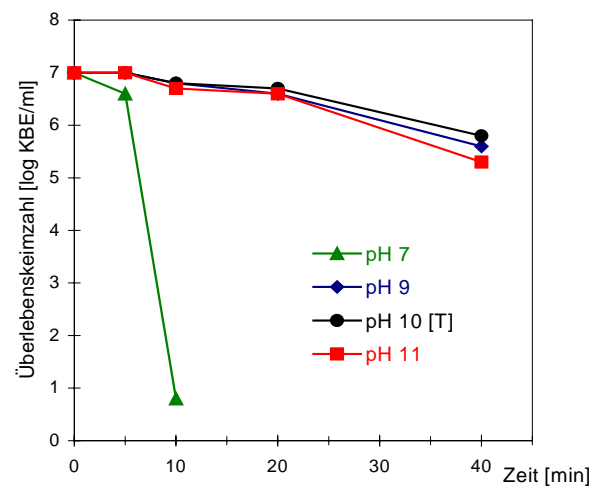
A: 0,1% Perborat + 0,02% TAED (5:1)



B: 0,2% Perborat + 0,04% TAED (5:1)



C: 0,2% Perborat + 0,1% TAED (2:1)



D: 0,4% Perborat + 0,08% TAED (5:1)

Abb. 5-28: Abtötung von *C. albicans* ATCC 10231 durch Perborat und TAED unterschiedlicher Konzentrationen in Abhängigkeit vom pH-Wert bei 40°C (T= Tris-Puffer, C= Carbonat-Puffer)

NOBS-aktivierte Bleichsysteme

Die Untersuchung der Wirkung NOBS-aktivierter Bleichsysteme in einer ausgewählten Konzentration (0,1% Perborat und 0,02% NOBS) bei 40°C und 30°C zeigte, daß die fungizide Wirkung auf *C. albicans* stark vom pH-Wert, dem Puffermedium und der Temperatur mitbestimmt wurde (Abb. 5-29). Bei 40°C nahm die Keimzahl in der Pufferlösung mit pH 11 nach Zugabe von 0,1% Perborat und 0,02% NOBS innerhalb von 5 Minuten um mehr als 6,5 Zehnerpotenzen ab, bei 30°C wurde dieser Effekt erst nach 10 Minuten erreicht. In den Bleichlösungen mit pH 7 und pH 10 [C] lag die Abtötungswirkung gegenüber *C. albicans* bei gleicher Bleichmitteldosierung wenig unterhalb der Wirkung bei pH 11 (linke Grafik).

Bei 30°C konnte eine deutlichere pH-Abhängigkeit in der Wirkung gefunden werden, wie die Darstellung der Ergebnisse in der rechten Grafik von Abb. 5-29 zeigt. Hier konnten mit steigendem pH-Wert bessere Effekte erzielt werden. In beiden Versuchsreihen fällt der Verlauf der Abtötungskinetik im organischen Tris-Puffer (pH 10 [T]) besonders auf: innerhalb der ersten 5 Minuten konnte eine Keimabtötung nachgewiesen werden, während im weiteren Verlauf die Keimzahl jedoch konstant blieb. Im Gegensatz dazu verlief die Keimabtötung sowohl im anorganischen Carbonat-Puffer (pH 10 [C]) als auch bei pH 11 und pH 7 während der 40-minütigen Einwirkdauer kontinuierlich.

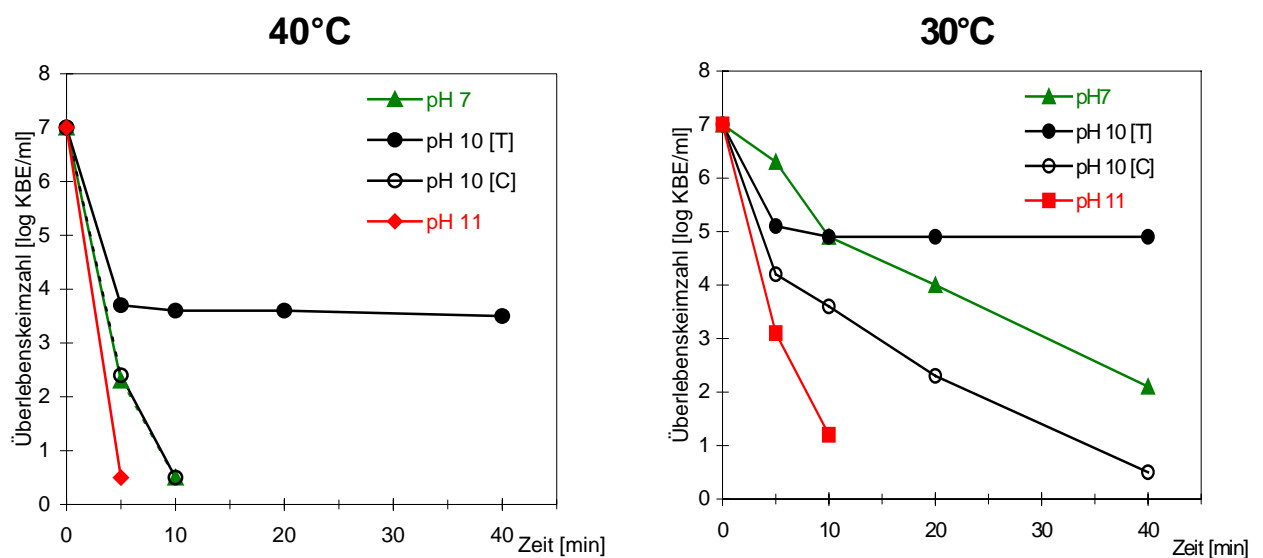


Abb. 5-29: Abtötung von *C. albicans* ATCC 10231 durch 0,1% Perborat und 0,02% NOBS (5:1) in Abhängigkeit vom pH-Wert bei 40°C und 30°C (T= Tris-Puffer, C= Carbonat-Puffer)

5.1.2.2 *Aspergillus niger* DSM 1957

Mit *A. niger* wurden keine Versuche zur pH-abhängigen Hitzeinaktivierung durchgeführt, da hier schon Daten aus früheren Untersuchungen von CERNY [1980a] vorlagen und die Wirkung der Bleichmittel auf *A. niger* ausschließlich im Niedrigtemperaturbereich untersucht wurde.

(1) Wirkung nicht-aktivierter Bleichmittel

Perborat

Die Bestimmung der Empfindlichkeit von *A. niger*-Konidien gegenüber Perborat zeigte, daß mit der höchsten untersuchten Perboratdosierung von 1,0% bei 40°C innerhalb von 40 Minuten eine pH-abhängige Abtötung der Konidien um 0,5 (bei pH 7) bzw. 1,5 Zehnerpotenzen (pH 9, pH 10 [T] und pH 11) erzielt werden konnte (Abb. 5-30). Niedrigere Dosierungen von Perborat führten nach 40 Minuten zu keinem signifikanten Abtötungseffekt (Daten nicht dargestellt).

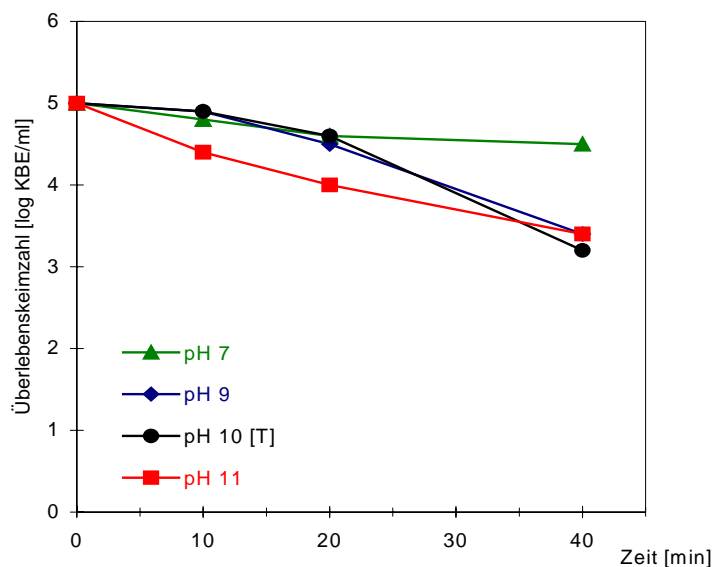


Abb. 5-30: Abtötung von *A. niger* DSM 1957 durch 1,0% Perborat in Abhängigkeit vom pH-Wert bei 40°C (T= Tris-Puffer)

Natriumhypochlorit

Zum Vergleich mit der fungiziden Wirkung von Perborat wurde der keimabtötende Effekt von Natriumhypochlorit auf *A. niger* bei 30°C in Abhängigkeit vom pH-Wert untersucht und in Abb. 5-31 dargestellt. In den untersuchten anorganischen Pufferlösungen nahm die Anzahl der Konidien von *A. niger* bei pH 7 innerhalb von 5 Minuten, bei pH 10 [C] innerhalb von 10 Minuten und bei pH 11 innerhalb von 20 Minuten um mehr als 5,5 Zehnerpotenzen ab. Im organischen Tris-Puffer mit pH 10 [T] konnte nach 40 Minuten keine signifikante Abtötungswirkung nachgewiesen werden, wie dies schon zuvor in den Versuchen mit *C. albicans* beobachtet wurde.

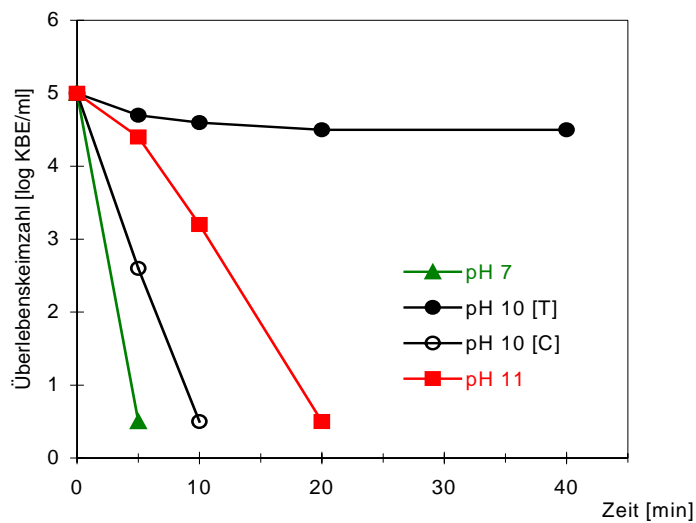


Abb. 5-31: Abtötung von *A. niger* DSM 1957 durch 0,1% Natriumhypochlorit in Abhängigkeit vom pH-Wert bei 30°C (T= Tris-Puffer, C= Carbonat-Puffer)

Phthalimido-peroxo-capronsäure (PAP)

In Abb. 5-32 ist die pH-abhängige fungizide Wirkung der organischen Persäure PAP in 0,2%iger Dosierung bei 40°C dargestellt. Die Ergebnisse zeigten, daß eine signifikante Abtötungswirkung nur bei pH 7 auftrat. Hier konnten innerhalb von 20 Minuten 3,5 Zehnerpotenzen der *A. niger*-Konidien inaktiviert werden. Bei einem höheren pH-Wert war nur eine geringfügige Abnahme der Konidienzahl zu beobachten.

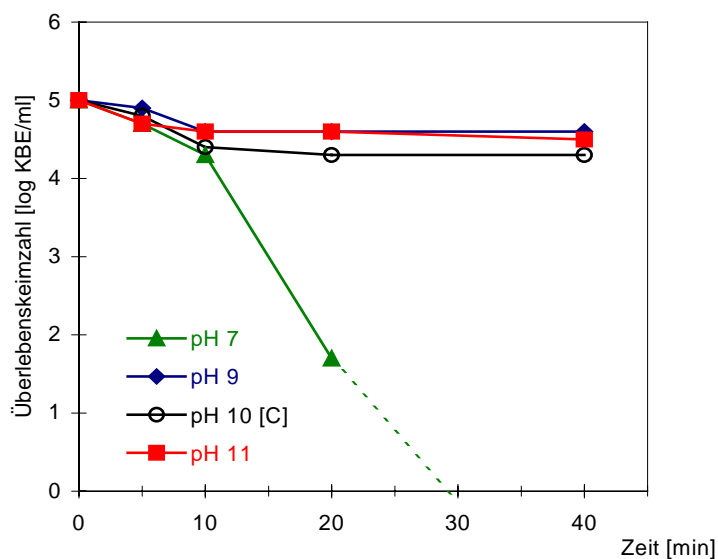


Abb. 5-32: Abtötung von *A. niger* DSM 1957 durch 0,2% PAP in Abhängigkeit vom pH-Wert bei 40°C (C= Carbonat-Puffer)

TAED-aktivierte Bleichsysteme

Durch die Aktivierung von Perborat mit dem Bleichmittelaktivator TAED konnte im untersuchten Niedrigtemperaturbereich bei 40°C in Abhängigkeit von der Konzentration der Bleichkomponenten und vom pH-Wert eine Abtötung der Konidien von *A. niger* bewirkt werden. Die Ergebnisse der Keimabtötung durch verschiedene Perborat/TAED-Konzentrationen bei 40°C in Abhängigkeit vom pH-Wert sind in Abb. 5-33 zusammengefasst. Die beste Wirkung des TAED-aktivierten Bleichsystems gegenüber *A. niger* konnte auch hier bei pH 7 erzielt werden, wobei diese um so früher einsetzte je höher die Perborat/TAED-Konzentrationen waren. In Abhängigkeit von der Bleichmittelkonzentration nahmen die *A. niger*-Konidien in der Bleichlösung von pH 7 innerhalb von 20 Minuten (D) bzw. 40 Minuten (B und C) um mehr als 5,5 Zehnerpotenzen ab. In den alkalischen Lösungen waren zufriedenstellende Abtötungseffekte erst mit höheren TAED-Konzentrationen zu erzielen (B, C und D).

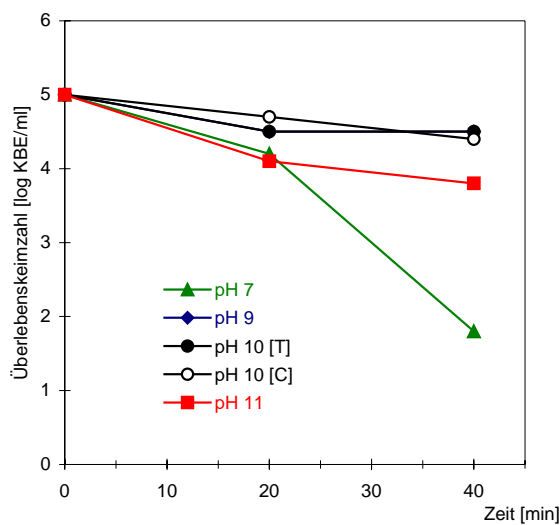
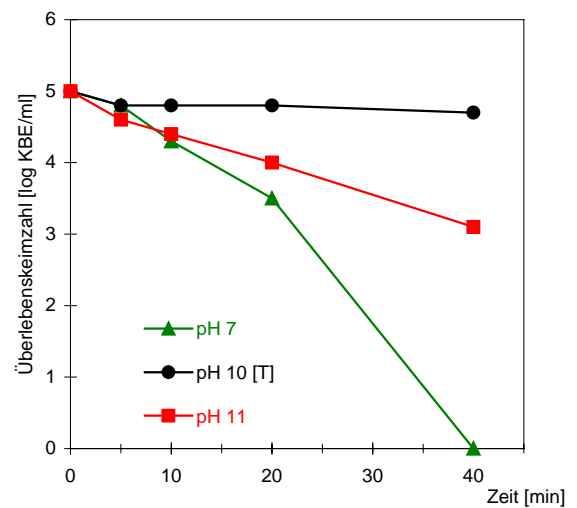
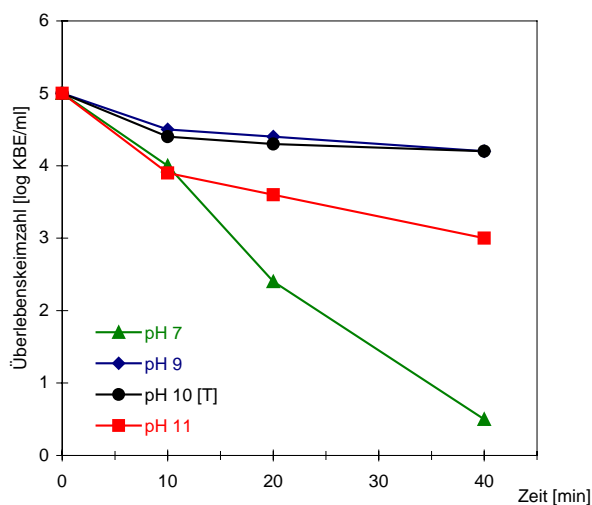
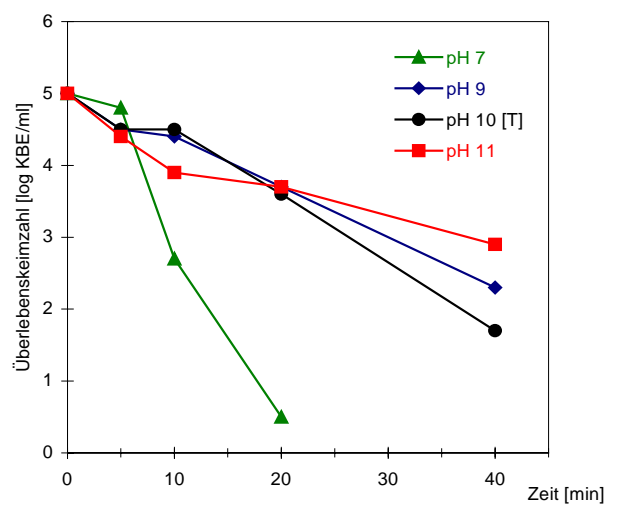
**A: 0,2% Perborat + 0,04% TAED (5:1)****B: 0,2% Perborat + 0,1% TAED (2:1)****C: 0,4% Perborat + 0,08% TAED (5:1)****D: 1,0% Perborat + 0,2% TAED (5:1)**

Abb. 5-33: Abtötung von *A. niger* DSM 1957 durch Perborat und TAED unterschiedlicher Konzentrationen in Abhängigkeit vom pH-Wert bei 40°C (T= Tris-Puffer, C= Carbonat-Puffer)

NOBS-aktivierte Bleichsysteme

In den Versuchsreihen zur Bestimmung der fungiziden Wirkung von NOBS-aktiviertem Perborat auf *A. niger*-Konidien bei 40°C konnte mit einer Konzentration von 0,1% Perborat und 0,02% NOBS (5:1) innerhalb von 5 Minuten bei pH 7, pH 10 [T] und pH 11 eine Abnahme der Keimzahl um mehr als 4,5 Zehnerpotenzen nachgewiesen werden (Daten nicht dargestellt).

Die in Abb. 5-34 dargestellten Ergebnisse der bei 30°C durchgeführten Versuche zeigen im Vergleich zu den Ergebnissen bei 40°C, daß die Temperatur die Wirkung NOBS-aktivierter Bleichsysteme insbesondere im Niedrigtemperaturbereich stark beeinflusste und daß bei der niedrigeren Temperatur der pH-Wert einen deutlichen Einfluß auf den keimabtötenden Effekt ausübte. Wie aus dem Vergleich der Grafiken in Abb. 5-34 zu entnehmen ist, konnte durch die Erhöhung der NOBS-Konzentration bei konstanter Perboratdosierung eine verstärkte Abtötungswirkung bei 30°C erzielt werden.

Im Gegensatz zur Wirkung von NOBS-aktivierten Bleichsystemen auf *C. albicans*, war bei den *A. niger*-Konidien in der Bleichlösung mit pH 7 die beste Wirkung zu erzielen. Die Versuche mit *C. albicans* hatten ebenfalls schon gezeigt, daß bei niedrigeren Temperaturen die Puffer-substanz die Wirkung beeinträchtigen konnte, was auch in den Versuchsreihen mit *A. niger* bestätigt wurde. Hier war im organischen Tris-Puffer pH 10 [T] die Wirkung deutlich schlechter im Vergleich zum anorganischen Puffer pH 10 [C] (rechte Grafik).

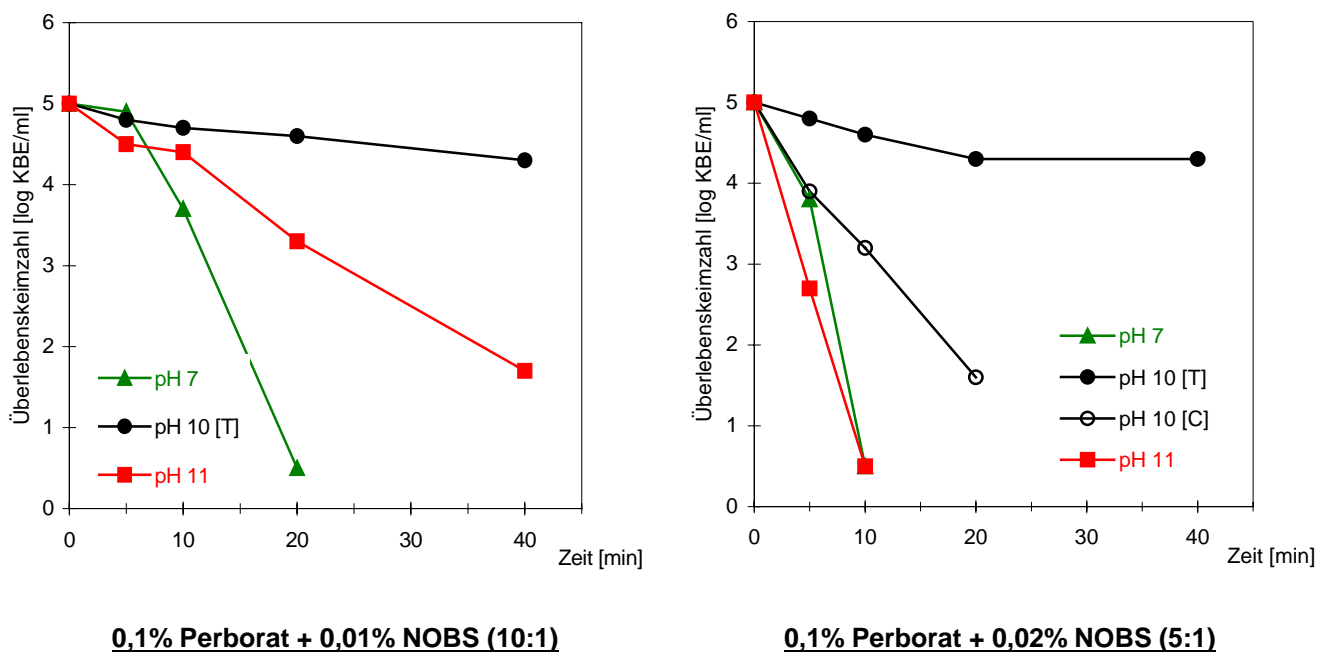


Abb. 5-34: Abtötung von *A. niger* DSM 1957 durch Perborat und NOBS unterschiedlicher Konzentrationen in Abhängigkeit vom pH-Wert bei 30°C (T=Tris-Puffer, C= Carbonat-Puffer)

5.1.3 Phagen-inaktivierende Wirkung

Für die Untersuchung des viruziden Effektes von Bleichmittelsystemen wurden als Modellorganismen Bakteriophagen aus der Gruppe der Coliphagen ausgewählt. Diese Versuchsreihen wurden mit einem DNA-Phagen (PhiX174) und einem RNA-Phagen (MS2) durchgeführt, wobei ausschließlich die Wirkung von aktivierten Bleichsystemen in ausgewählten Puffermedien bestimmt wurde.

5.1.3.1 Phage PhiX174 DSM 4497

Wirkung aktivierter Bleichsysteme

TAED-aktivierte Bleichsysteme

In Abb. 5-35 ist die pH-abhängige Wirkung von 0,2% Perborat und 0,04% TAED (5:1) auf den Phagen PhiX174 bei 40°C und 30°C vergleichend dargestellt. Die Inaktivierung des Phagen PhiX174 durch Perborat und TAED wurde vom pH-Wert ebenso beeinflusst wie von der Temperatur. Am stärksten verlief die Inaktivierung im Puffer mit pH 7: in Abhängigkeit von der Temperatur trat eine Abnahme des Phagentiters um mehr als 5,5 Zehnerpotenzen bei 40°C nach 10 Minuten (linke Grafik) bzw. bei 30°C nach 20 Minuten auf (rechte Grafik). Bei einem pH-Wert der Bleichlösung von pH 10 hing die Inaktivierung von der Puffersubstanz ab, im anorganischen Puffer pH 10 [C] konnten bei beiden Versuchstemperaturen bessere Ergebnisse erzielt werden als im organischen Tris-Puffer pH 10 [T]. Die Erhöhung der Temperatur von 30°C auf 40°C führte sowohl bei pH 7 als auch bei pH 10 zu einer Beschleunigung der Inaktivierung.

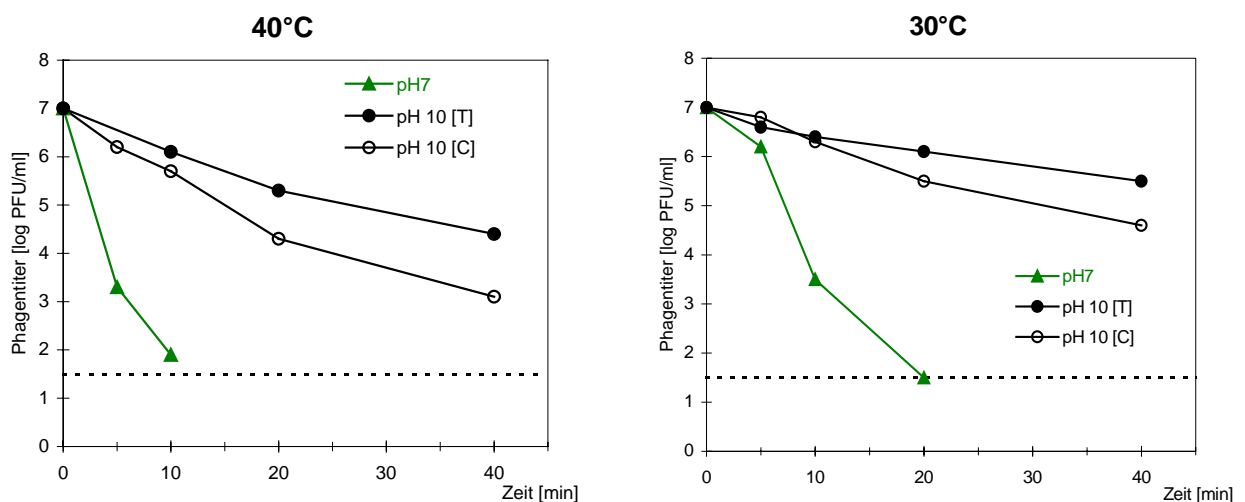


Abb. 5-35: Inaktivierung des Bakteriophagen PhiX174 durch 0,2% Perborat und 0,04% TAED in Abhängigkeit vom pH-Wert bei 40°C und 30°C
(- - - Nachweisgrenze, T= Tris-Puffer, C= Carbonat-Puffer)

NOBS-aktivierte Bleichsysteme

Die Abb. 5-36 zeigt die Wirkung von Perborat und NOBS auf den Phagen PhiX174 bei 40°C und 30°C in unterschiedlichen Dosierungen. Mit dem NOBS-aktivierten Bleichsystem konnten wiederum in der Bleichlösung mit pH 7 signifikant bessere Ergebnisse erzielt werden als bei pH

10, wobei diese von der Konzentration des Bleichsystems abhängig waren. Ähnlich zur Wirkung von TAED-aktivierten Bleichsystemen wurde bei pH 10 ein Einfluß des Puffermediums nachgewiesen: die Inaktivierung im organischen Tris-Puffer pH 10 [T] verlief schlechter als im anorganischen Carbonat-Puffer pH 10 [C]. Bei den Ergebnissen, die bei 40°C (linke Grafik) erzielt wurden, fällt zudem auf, daß bei dem höheren pH-Wert von pH 10 der Phagentiter in den ersten 10 Minuten um ca. 2 Zehnerpotenzen abnimmt und sich im weiteren Verlauf kaum mehr verändert. Ähnliches wurde schon beim fungiziden Effekt der NOBS-Bleichsysteme beobachtet. Der Vergleich der Ergebnisse bei 40°C (Versuchsreihe A) bzw. 30°C (Versuchsreihe B) zeigt, daß durch Temperatur- bzw. Konzentrationserhöhung die Inaktivierung der Phagen beschleunigt werden konnte.

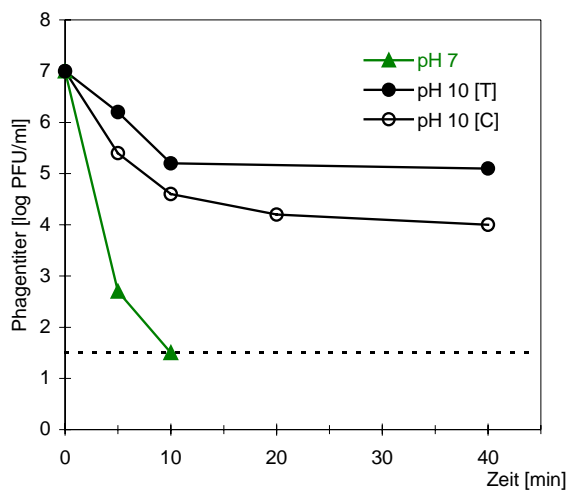
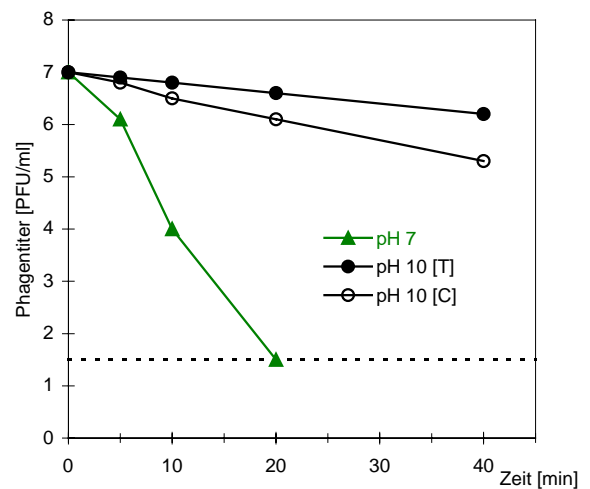
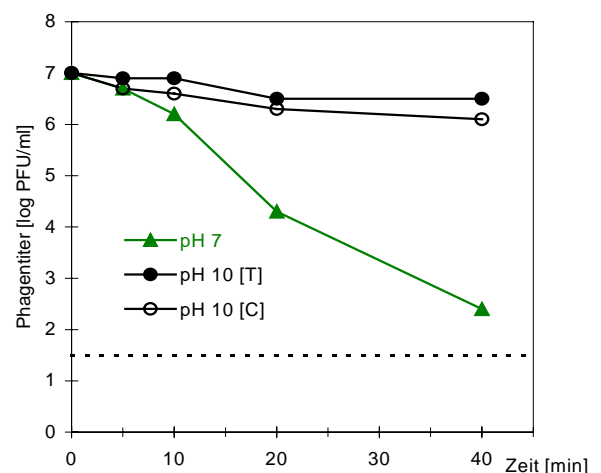
A: 40°C**A1: 0,2% Perborat + 0,04% NOBS (5:1)****B: 30°C****B1: 0,2% Perborat + 0,04% NOBS (5:1)****B2: 0,1% Perborat + 0,02% NOBS (5:1)**

Abb. 5-36: Inaktivierung des Bakteriophagen PhiX174 durch Perborat und NOBS unterschiedlicher Konzentrationen in Abhängigkeit vom pH-Wert bei 40°C und 30°C (- - - Nachweisgrenze, T= Tris-Puffer, C= Carbonat-Puffer)

5.1.3.2 Phage MS2 DSM 5694

(1) Wirkung nicht-aktivierter Bleichmittel

Phthalimido-peroxo-capronsäure (PAP)

Die Dosierung von 0,2% PAP führte bei 30°C zu einer pH-abhängigen Inaktivierung des Phagen MS2 (Abb. 5-37). In der neutralen Bleichlösung erfolgte die Inaktivierung schneller, nach 20 Minuten wurden 4,5 Zehnerpotenzen der Phagen inaktiviert, in der Bleichlösung mit pH 10 [C] wurde ein vergleichbarer Effekt erst nach 40 Minuten erzielt. Auffallend war, daß beide Inaktivierungskinetiken einen leichten konkaven Verlauf aufzeigten.

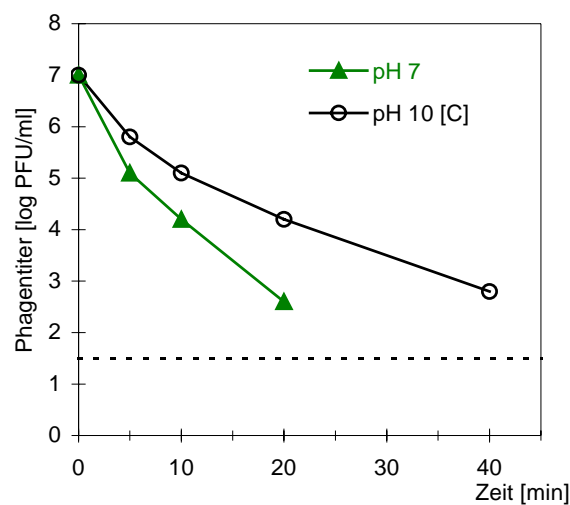
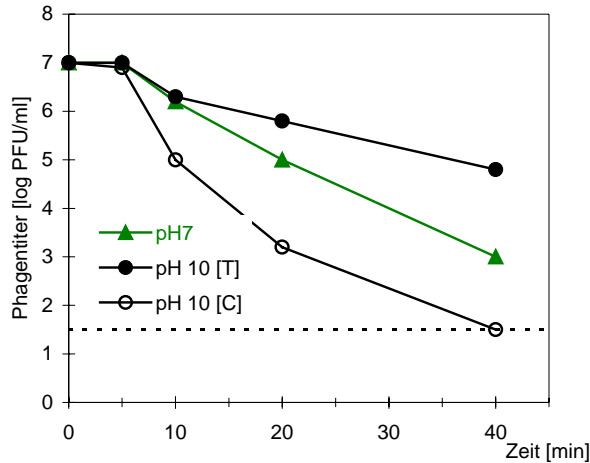


Abb. 5-37: Inaktivierung des Bakteriophagen MS2 durch 0,2% PAP in Abhängigkeit vom pH-Wert bei 40°C (- - - Nachweisgrenze, C= Carbonat-Puffer)

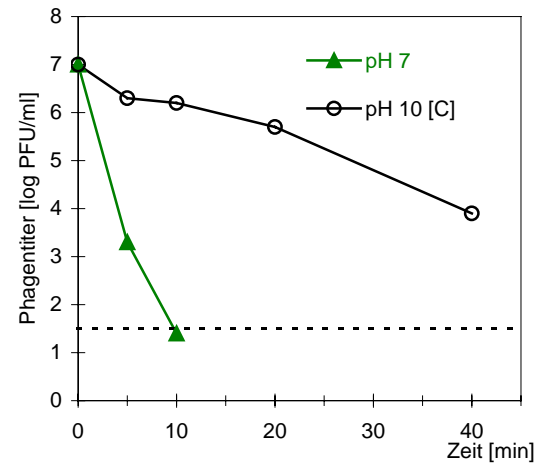
(2) Wirkung aktivierter Bleichsysteme

TAED-aktivierte Bleichsysteme

Die Versuche zur Inaktivierung des Phagen MS2 durch TAED-aktiviertes Perborat zeigten, daß der Phage MS2 erst durch sehr hohe Bleichmittel- und Aktivatorkonzentrationen inaktiviert wurde. In Abb. 5-38 ist die Inaktivierung des Phagen MS2 bei unterschiedlichen Perborat/TAED-Dosierungen in Abhängigkeit vom pH-Wert bei 40°C dargestellt. In Abhängigkeit von den Perboratdosierungen zeigten sich unterschiedliche pH-Einflüsse bei der Inaktivierung der Phagen. Bei hohen Perboratdosierungen (1%) konnte im TAED-aktivierten Bleichsystem im Puffer mit pH 10 [C] die besten Inaktivierungsraten erzielt werden, während die Inaktivierung bei einer Zudosierung von 0,2% Perborat zu 0,2% TAED in der Bleichlösung von pH 7 besser war. Auffallend war, daß eine hohe Perboratdosierung die Wirkung nachteilig beeinflusste, wobei neben dem pH-Einfluß auch die Puffersubstanz eine entscheidende Rolle spielte.



1,0% Perborat + 0,2% TAED (5:1)

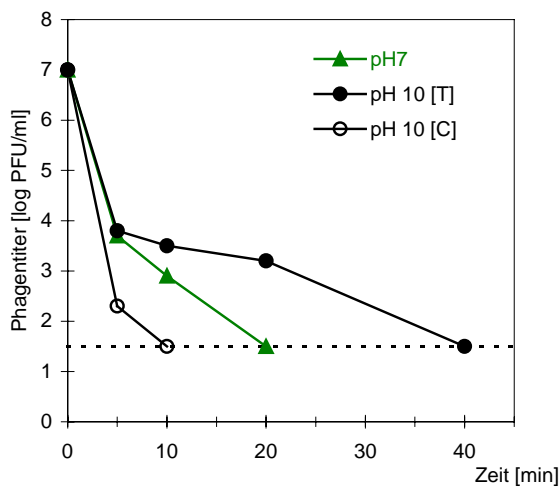


0,2% Perborat + 0,2% TAED (1:1)

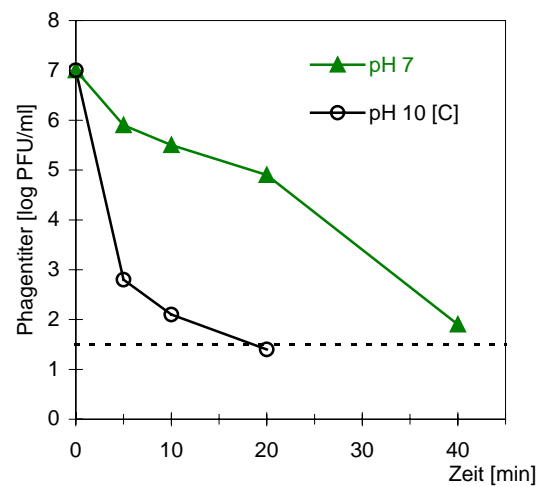
Abb. 5-38: Inaktivierung des Bakteriophagen MS2 durch Perborat und TAED unterschiedlicher Konzentrationen in Abhängigkeit vom pH-Wert bei 40°C (- - - Nachweisgrenze, T= Tris-Puffer, C= Carbonat-Puffer)

NOBS-aktivierte Bleichsysteme

Eine Inaktivierung des Phagen MS2 durch NOBS-aktivierte Bleichsysteme konnte ebenfalls erst mit hohen Dosierungen beobachtet werden, wobei die inaktivierende Wirkung des NOBS-aktivierten Systems im Vergleich zum TAED-aktivierten System besser war. Abb. 5-39 zeigt die Wirkung von Perborat und NOBS unterschiedlicher Konzentrationen in Abhängigkeit vom pH-Wert bei 40°C. Auch hier konnte in der alkalischen Bleichlösung mit pH 10 [C] der beste Effekt erzielt werden, wobei hier bei hohen Perboratzugaben bessere Ergebnisse erzielt wurden. In Abb. 5-39 fällt der konkave Verlauf der Inaktivierungskurven deutlich auf. Innerhalb der ersten fünf Minuten verlief die Inaktivierungskurve sehr steil, während sie im weiteren Verlauf abflachte.



1,0% Perborat + 0,2% NOBS (5:1)



0,2% Perborat + 0,2% NOBS (1:1)

Abb. 5-39: Inaktivierung des Bakteriophagen MS2 durch Perborat und NOBS unterschiedlicher Konzentrationen in Abhängigkeit vom pH-Wert bei 40°C (- - - Nachweisgrenze, T= Tris-Puffer, C= Carbonat-Puffer)

5.2 Antimikrobielle Wirkung von Bleichsystemen unter Praxisbedingungen

Eine umfassende Prüfung der antimikrobiellen Wirksamkeit von Desinfektionsverfahren bzw. Desinfektionswirkstoffen beinhaltet neben der *in vitro* Prüfung (z.B. Suspensionsversuch) auch die Prüfung unter praxisnahen Bedingungen. Dabei sind die Versuchsparameter bei der *Prüfung unter praxisnahen Bedingungen* speziell auf das jeweilige Anwendungsgebiet ausgerichtet.

Ausgehend von den Ergebnissen zur Prüfung der antimikrobiellen Wirksamkeit verschiedener Bleichmittelsysteme wurde in diesen Versuchsreihen die Wirkung eines ausgewählten Bleichsystems (Perborat/TAED) in einer bestimmten Dosierung im Praxistest nach der in Kap. 4.4 beschriebenen Methode untersucht. Für die Versuche wurden Baumwolläppchen mit folgenden Testmikroorganismen kontaminiert : *Entc. faecium*, *E. coli*, *St. aureus*, *K. pneumoniae* und *C. albicans*. Die angeimpfte Keimdichte betrug ca. 10^7 Keime pro Keimträger. Die Durchführung der Waschversuche mit den kontaminierten Keimträgern erfolgte in Haushaltswaschmaschinen bei der Temperatureinstellung 30°C bzw. 40°C im Normalwaschprogramm. Die Konzentration der Bleichmittel betrug in beiden Versuchsreihen 0,2% Perborat und 0,04% TAED (5:1), auf eine Zudosierung von Waschmittel wurde verzichtet, um Nebeneffekte auszuschließen. Die Auswertung erfolgte qualitativ, d.h. am Ende der Waschversuche wurden die Keimträger zur Anreicherung möglicher vorhandener Mikroorganismen in Nährlösungen überführt bzw. die Waschflotte auf das Vorhandensein bzw. Wachstum der für die Versuche eingesetzten Mikroorganismen selektiv geprüft. Die Versuche wurden zur Absicherung der Ergebnisse doppelt durchgeführt. Die Ergebnisse des Praxistests sind in Tab. 5-9 zusammengefasst.

Temperatur	Versuchsreihe A			Versuchsreihe B		
	30°C			40°C		
Probe	Keimträger	Elutions- flüssigkeit	Waschflotte	Keimträger	Elutions- flüssigkeit	Waschflotte
Probenanzahl (Versuch 1/Versuch2)	40 (20/20)	2 (1/1)	2 (1/1)	40 (20/20)	2 (1/1)	2 (1/1)
<i>Entc. faecium</i>	40 (-)	2 (-)	2 (-)	40 (-)	2 (-)	2 (-)
<i>St. aureus</i>	40 (-)	2 (-)	2 (-)	40 (-)	2 (-)	2 (-)
<i>E. coli</i>	40 (-)	2 (-)	2 (-)	40 (-)	2 (-)	2 (-)
<i>K. pneumoniae</i>	40 (-)	2 (-)	2 (-)	40 (-)	2 (-)	2 (-)
<i>C. albicans</i>	9 (+) 31 (++)	2 (++)	2 (-)	1 (-) 24 (+) 15 (++)	1 (-) 1 (+)	2 (-)

Legende: (-) kein Wachstum
(+) nur wenige Mikroorganismen
(++) starkes Mikroorganismenwachstum

Tab. 5-9: Wirkung von 0,2% Perborat und 0,04% TAED im Praxistest (Normalwaschgang).
(Dargestellt sind die Kulturergebnisse nach dem Waschen von kontaminierten Baumwolläppchen in einer Haushaltswaschmaschine mit Zusatz von 0,2% Perborat und 0,04% TAED bei 30°C und 40°C).

Die Ergebnisse der Prüfung unter praxisnahen Bedingungen zeigten, daß durch die Bleichmitteldosierung von 0,2% Perborat und 0,04% TAED bei beiden Temperatureinstellungen (30°C und 40°C) im Normalprogramm der Haushaltswaschmaschine sowohl gramnegative als auch grampositive Bakterien aus der Wäsche eliminiert werden konnten. Ebenso konnten in der Waschflotte keine der inokulierten Bakterien-species wiedergefunden werden. Im Gegensatz dazu zeigten die geprüften Waschverfahren keine ausreichende Eliminationswirkung gegenüber der Hefe *C. albicans*. Diese wurde auf den kontaminierten Keimträgern nach dem Waschprozeß wiedergefunden, während in der Waschflotte keine vermehrungsfähigen Hefe-Zellen mehr nachzuweisen waren. Teilweise war in einigen Versuchsansätzen eine Fremdkontamination nachzuweisen (bakterielle Sporenbildner), die vermutlich über das Leitungswasser oder die Maschine eingetragen wurden.

5.3 Bleichwirkung eines ausgewählten Bleichmittelsystems in Abhängigkeit vom pH-Wert

Die Bleichwirkung eines Bleichmittelsystems hängt von verschiedenen Faktoren ab, zu denen neben der Temperatur und der Konzentration auch der pH-Wert zählen (vgl. Kap. 2). Untersuchungen zum Einfluß des pH-Wertes auf die Bleichwirkung von aktivierten und nicht-aktivierten Bleichsystemen zeigten, daß die beste Bleichwirkung bei TAED-aktivierten Bleichsystemen zwischen pH 8 und pH 9 erzielt wird, während die Bleichwirkung nicht-aktivierter Peroxoverbindungen erst bei höheren pH-Werten zwischen pH 10 und pH 11 optimal ist [REINHARDT, 1994a; PORSCH et al., 1990; DANNACHER und SCHLENKER, 1990]. Im Rahmen der Bestimmung der mikrobiziden Wirksamkeit von Bleichmittelsystemen konnte festgestellt werden, daß die mikrobizide Wirkung der Bleichmittelsysteme stark vom pH-Wert beeinflußt wurde und bei pH 7 maximal war. Da aus der Literatur nur wenige Daten zur Abhängigkeit der Bleichwirkung vom pH-Wert bekannt sind bzw. die Daten sich auf den für Bleichmittel normalerweise in frage kommenden alkalischen pH-Bereich beschränken, wurde in der vorliegenden Arbeit die pH-abhängige Bleichwirkung von NaOCl, H₂O₂, Peressigsäure, Perborat und TAED nach der in Kap. 4.5 beschriebenen Methode untersucht. Die Bleichwirkung wurde in einem einfachen Modellsystem anhand der Abnahme der Extinktion von Farbstofflösungen mit unterschiedlichen pH-Werten bestimmt.

In der ersten Versuchsreihe wurde die Bleichwirkung verschiedener Bleichmittel bei 40°C vergleichend bei pH 7 in 0,5 M Phosphatpuffer und pH 10 in 0,1 M Carbonatpuffer mit dem Farbstoff Erythrosin bestimmt. Die Ergebnisse dieser Versuchseihen sind in Abb. 5-40 vergleichend dargestellt. Es zeigte sich, daß die bleichende Wirkung der untersuchten Bleichmittel i.d.R. im alkalischen bei pH 10 (rechte Grafik) besser war als im neutralen Medium mit pH 7 (linke Grafik). Eine Ausnahme stellte das Natriumhypochlorit (schwarze Kurve) dar, dessen Wirkung im neutralen Medium signifikant besser war als im alkalischen. Der Vergleich der Ergebnisse bei pH 10 (rechte Grafik) zeigt, daß mit Peressigsäure (rote Kurve) das beste Bleichergebnis erzielt wurde, obwohl die Dosierung der Peressigsäure nur 1/20 der Dosierung im Vergleich zu den anderen untersuchten Bleichmitteln betrug. Im aktivierten Bleichsystem führte der Zusatz von TAED zu Perborat zu einer Verbesserung der Bleichwirkung, die insbesondere bei pH 10 sehr ausgeprägt war (Vergleich der blauen Kurven). Demgegenüber konnte mit Perborat (dunkelblaue Kurve) bzw. mit H₂O₂ (grüne Kurve) allein kein signifikanter Effekt erzielt werden.

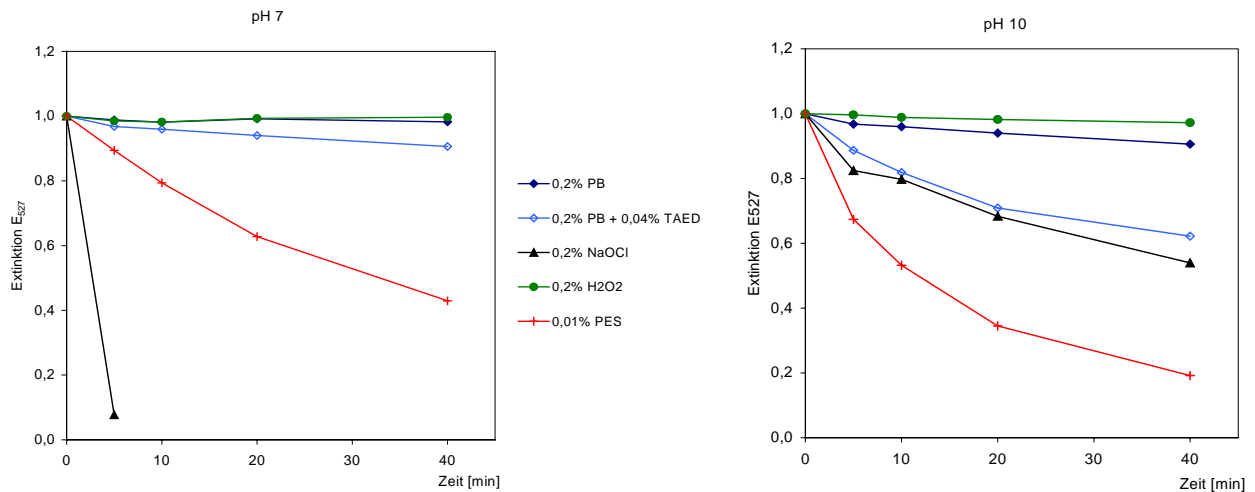


Abb. 5-40: Abnahme der Extinktion einer Farbstofflösung (Erythrosin) nach Zugabe von verschiedenen Bleichmitteln in Abhängigkeit vom pH-Wert bei 40°C

Basierend auf diesen Ergebnissen wurde der Einfluß des pH-Wertes auf die Wirkung von Perborat und TAED in weiteren Versuchsreihen am Farbstoff Brillantblau näher untersucht, da dieser Farbstoff bei niedrigen Bleichmitteldosierungen signifikantere Meßergebnisse lieferte. Für diese vertiefenden Studien wurde die Bleichwirkung im pH Bereich von pH 5 bis pH 11 ermittelt. Es war nicht möglich ein Puffersystem zu finden, das den ganzen pH-Bereich abdeckt, weshalb die Versuche bei pH 5, pH 6, pH 7 und pH 8 in einem Phosphatpuffer und die Versuche bei pH 9, pH 10 und pH 11 in einem Carbonatpuffer durchgeführt wurden. Die pH-abhängige Bleichwirkung von Perborat (linke Grafik) bzw. Perborat und TAED (rechte Grafik) ist in Abb. 5-41 vergleichend dargestellt. Tab. 5-10 gibt die effektiv gemessenen pH-Werte der Pufferlösungen nach Zugabe der Bleichmittel wieder.

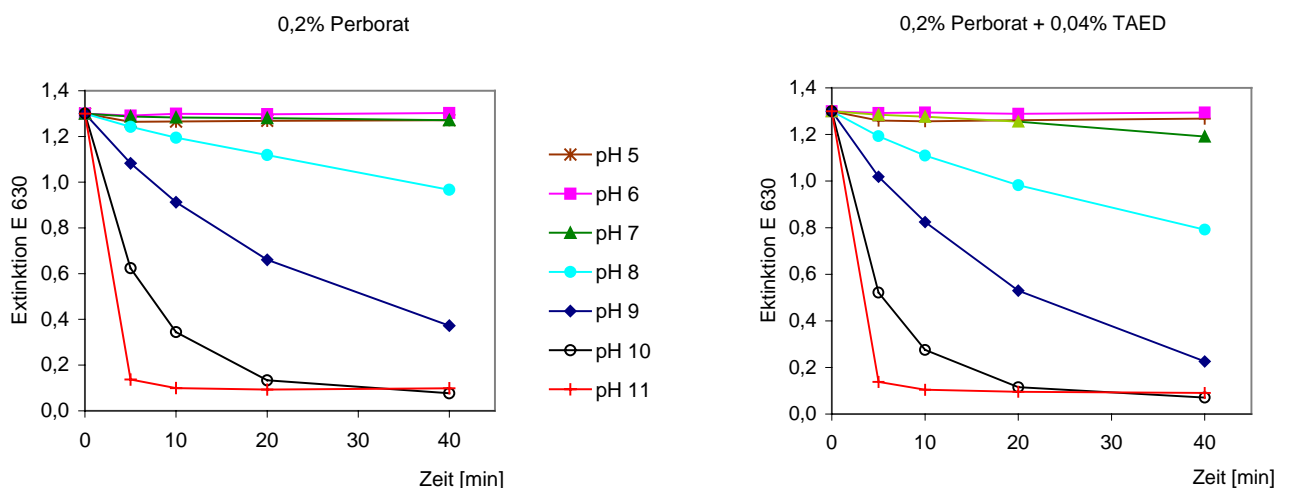


Abb. 5-41: Abnahme der Extinktion einer Farbstofflösung (Brillantblau) durch Perborat und TAED in Abhängigkeit vom pH-Wert bei 40°C

pH (bei 20°C)	pH 5	pH 6	pH 7	pH 8	pH 9	pH 10	pH 11
Puffersystem (P=Phosphat, C= Carbonat)	P	P	P	P	C	C	C
effektiver pH nach Zugabe von 0,2% PB + 0,04% TAED	5,3	6,1	7,1	8,4	9,2	10,0	10,9

Tab. 5-10: Effektive pH-Werte in verschiedenen Puffer nach Zugabe von 0,2% Perborat und 0,04% TAED

Unter den gewählten Versuchsbedingungen konnte eine Bleichwirkung des Farbstoffs Brillantblau nur in den alkalischen Pufferlösungen beobachtet werden, in den Lösungen mit pH 7, pH 6 und pH 5 konnte weder Perborat allein noch Perborat mit TAED eine signifikante Bleichung des Farbstoffs bewirken. Die Erhöhung des pH-Wertes führte sowohl bei Perborat alleine als auch im Versuchsansatz mit Perborat und TAED zu einer Steigerung der Bleichwirkung, je höher der pH-Wert desto besser war das Bleichergebnis. In der Pufferlösung mit pH 11 war die maximale Bleichwirkung unabhängig vom Bleichmittel innerhalb von 5 Minuten erreicht. Unterhalb von pH 10 konnte mit den eingesetzten Bleichmitteldosierungen innerhalb der Versuchsdauer von 40 Minuten die maximale Bleichwirkung nicht erzielt werden. In Abb. 5-42 ist die prozentuale Bleichwirkung der eingesetzten Perborat/TAED-Konzentration nach 40 Minuten in Abhängigkeit vom pH-Wert dargestellt. Die Grafik zeigt, daß das Bleichmaximum des nicht-aktivierten und des TAED-aktivierten Perborates zwischen pH 10 und pH 11 lag. Unterhalb von pH 10 konnte der Zusatz des Aktivators TAED den Bleicheffekt in den alkalischen Lösungen signifikant verstärken, wobei der zusätzliche Effekt am deutlichsten bei pH 8 und pH 9 in Erscheinung trat, wie die Darstellung der Differenz der Bleichwirkung von aktiviertem und nicht-aktiviertem System in Abhängigkeit vom pH-Wert deutlich zeigt (... Δ ...). Leider fand zwischen pH 8 und pH 9 ein Wechsel des Puffersystems statt, so daß ein Einfluß des Puffermediums nicht auszuschließen war.

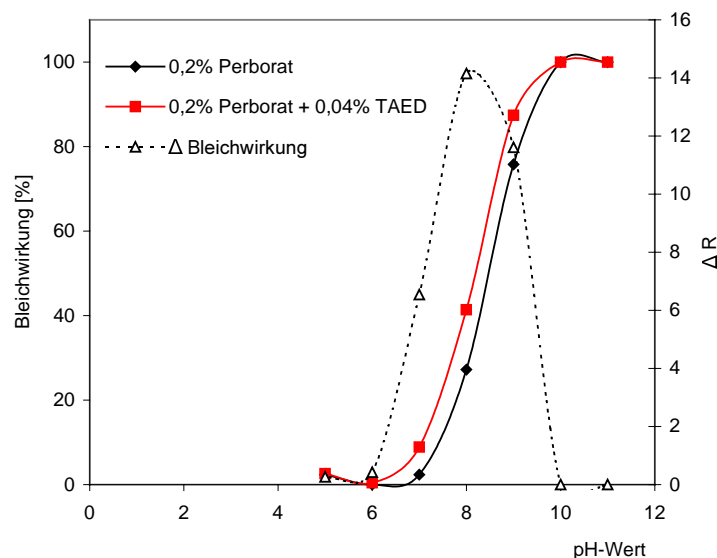


Abb. 5-42: Bleichwirkung bzw. Differenz der Bleichwirkung von Perborat bzw. Perborat/TAED in Abhängigkeit vom pH-Wert bei 40°C
(angegeben ist die Bleichwirkung nach 40-minütiger Bleichdauer, Δ Bleichwirkung = Differenz der Bleichwirkung ΔR zwischen aktiviertem und nicht-aktiviertem Bleichsystem)

6 Diskussion

Im privaten Haushalt hat sich in den letzten Jahren im Bereich der Textilwäsche aus verschiedenen Gründen eine Entwicklung vollzogen, die sich in einer Veränderung der Waschgewohnheiten von der Kochwäsche (95°C) hin zur Niedrigtemperaturwäsche (30°C–60°C) äußerte. Dieser Trend zur Niedrigtemperaturwäsche führte zu Einbußen in der Reinigungs- und Hygienewirkung von textilen Waschprozessen und erforderte deshalb von den Waschmittelherstellern eine Anpassung der Waschmittelrezepturen, um auch unter diesen Bedingungen ein optimales Waschergebnis zu erzielen. Ein wichtiger Bestandteil in vielen Waschmitteln sind Bleichmittel, welche die Aufgabe haben durch ihre oxidierende Wirkung schlecht auswaschbare farbige Verschmutzungen in einem Bleichvorgang zu eliminieren. Klassische Bleichmittel auf Aktivsauerstoffbasis entwickeln eine ausreichende Bleichwirkung jedoch erst bei Temperaturen über 60°C, weshalb für den Niedrigtemperaturbereich (30°C–40°C) neuartige Bleichsysteme auf Aktivsauerstoffbasis entwickelt wurden. Für eine effektive Bleichwirkung von Waschmitteln bei niedrigen Temperaturen stehen zwei Möglichkeiten zur Verfügung: 1. die Erhöhung der Wirksamkeit klassischer Bleichmittel (z.B. Perborat) durch Aktivatoren (TAED, NOBS) sowie 2. die Substitution von Perborat durch andere Peroxoverbindungen (z.B. organische Persäuren). Aktivierte Bleichsysteme nach (1.) bilden im Waschprozeß in situ organische Persäuren, die aufgrund ihres höheren Oxidationspotentials schon bei niedrigen Temperaturen bleichend wirken. Aus der Literatur ist bekannt, daß die Bleichwirkung von Bleichmitteln u.a. durch die Temperatur, den pH-Wert und die Konzentration mitbestimmt wird (vgl. Kap. 2).

Ein wesentlicher Zusatzeffekt der Bleichmittel bzw. der Bleichsysteme ist ihre keimabtötende Wirkung gegenüber Mikroorganismen, weshalb Bleichmittel z.T. auch als Desinfektionsmittel eingesetzt werden. Die Wirkung von Desinfektionsmitteln hängt von verschiedenen Einflußfaktoren u.a. von der Temperatur, dem pH-Wert, dem Wirkungsspektrum, der Einwirkzeit, der Konzentration und von möglichen Interaktionen mit anderen chemischen Substanzen ab.

Im Rahmen der vorliegenden Untersuchungen wurde die mikrobizide Wirkung ausgewählter Bleichsysteme und deren Einflußfaktoren im Vergleich zu den Einflußfaktoren der Bleichwirkung untersucht. Dabei wurde die Dosierung der Bleichmittel in Anlehnung an die Praxis in Prozent (Gewicht/Volumen) angegeben, da diese Dosierungsform für die praktische Anwendung von Bedeutung ist. Zahlreiche Prüfverfahren zur Bestimmung der mikrobiziden Wirksamkeit von Desinfektionsmitteln beziehen sich ebenfalls auf die Anwendungskonzentrationen der zu prüfenden Substanzen. Der Autorin war dabei sehr wohl bewußt, daß einige Unterschiede in der Wirkung teilweise auf die unterschiedlichen Aktiv-Wirkstoffgehalte zurückzuführen sein würden. In Tab. 6-1 sind die Wirkstoffgehalte der eingesetzten Bleichmittel zusammen mit den analytisch bestimmten Aktiv-Wirkstoffkonzentrationen dargestellt. Diese werden bei der Diskussion der Ergebnisse berücksichtigt und an gegebener Stelle näher diskutiert.

Bleichmittel	Theoretischer Wirkstoffgehalt	Analytisch bestimmter Aktiv-Wirkstoffgehalt	Konzentration des Aktiv-Wirkstoffs bei einer Dosierung von 0,1% Bleichmittel
Perborat	16% Aktiv <O>	14,9% Aktiv <O>	9,3 mmol/l Aktiv <O> (ca. 149 ppm)
Percarbonat	12-16% Aktiv <O>	13,2% Aktiv <O>	8,3 mmol/l Aktiv <O> (ca. 132 ppm)
NaOCl	12% Aktiv <Cl>	11,9% Aktiv <Cl>	3,4 mmol/l Aktiv <Cl> (ca. 119 ppm)
H ₂ O ₂	ca. 30% H ₂ O ₂	15,1% Aktiv <O>	9,4 mmol/l Aktiv <O> (ca. 150 ppm)
Peressigsäure	ca. 40% Peressigsäure	16,1% Aktiv <O>	10,0 mmol/l Aktiv <O> (ca. 160 ppm)
Phthalimido-peroxo-capronsäure (PAP)	5,8% Aktiv <O>	4,1 % Aktiv <O>	2,5 mmol/l Aktiv <O> (ca. 41 ppm)

Tab. 6-1: Wirkstoffgehalt verschiedener Bleichmittel

6.1 Die Bleichwirkung von Bleichmitteln und Bleichmittelsystemen und der Einfluß des pH-Wertes

Die Bleichwirkung von Bleichmitteln und Bleichsystemen wird von verschiedenen Parametern bei der Bleichreaktion beeinflusst. U.a. bestimmen im Bleichprozeß die Faktoren Konzentration, Temperatur und pH-Wert das Bleichergebnis maßgeblich, was in der Literatur ausführlich beschrieben ist und in Kap. 2 zusammenfassend dargestellt wurde. In der vorliegenden Arbeit spielte der Einfluß des pH-Wertes auf die bleichende und mikrobizide Wirkung von Bleichsystemen eine wichtige Rolle. Die meisten aus der Literatur verfügbaren Daten zur Bedeutung des pH-Wertes bei der Bleichreaktion beschränken sich allerdings auf Angaben zum Einfluß des pH-Wertes im alkalischen pH-Bereich, da dieser für die meisten Bleichprozesse von Bedeutung ist. Aufgrund der mangelnden Daten zur Bleichwirkung im sauren bis neutralen pH-Bereich, wurde in dieser Arbeit die pH-abhängige Bleichwirkung verschiedener Bleichmittel und Bleichsysteme im pH-Bereich zwischen pH 5 und pH 11 in einem Modellsystem bestimmt (vgl. Kap. 4.5). Anhand der Ergebnisse ist es möglich, den Einfluß des pH-Wertes auf die Bleichwirkung mit dem Einfluß des pH-Wertes auf die mikrobizide Wirkung zu vergleichen.

Die eigenen Untersuchungen zur Bleichwirkung verschiedener Bleichmittel bei pH 7 und pH 10 zeigten, daß die meisten der untersuchten Bleichmittel mit einer Ausnahme bei pH 10 bessere Bleichergebnisse lieferten als bei pH 7 (Abb. 5-40, S. 97). Die beste Bleichwirkung konnte jedoch mit 0,2% Natriumhypochlorit bei pH 7 ermittelt werden. Diese Ergebnisse bestätigen die bekannte Tatsache, daß mit Natriumhypochlorit im Niedrigtemperaturbereich sehr gute Bleichergebnisse erzielt werden können, weshalb Natriumhypochlorit bis heute als Bleichmittel in vielen Bereichen Verwendung findet. Zusätzlich konnte der Einfluß des pH-Wertes bei der Bleichwirkung von Natriumhypochlorit bestätigt werden. In der neutralen Bleichlösung wurde mit Natriumhypochlorit ein besseres Bleichergebnis erzielt im Vergleich zur alkalischen Bleichlösung. Ein Grund ist darin zu sehen, daß bei pH 7 (gemäß (Gl. 1a), S.14) mehr hypochlorige Säure (HOCl) in der Bleichlösung vorliegt als in der alkalischen Lösung (Anteil bei pH 7 ca. 75,5%, bei pH 10 < 1%). Das Redoxpotential der hypochlorigen Säure ist mit +1,5 V höher als das des Hypochloritanions (ClO⁻) mit +0,94 V. Da die hypochlorige Säure als Träger der Bleichreaktion diskutiert wird, wirkt sich eine verminderte Konzentration (resp. des pH-Wertes) in einem geringeren Bleicheffekt aus. Ähnliche Ergebnisse liegen von COONS et al. [1987] vor, die ebenfalls nachweisen konnten, daß die Bleichwirkung von Natriumhypochlorit mit zunehmendem pH-Wertbereich zwischen pH 8,5 und 10,5 abnahm.

Unter alkalischen Bedingungen konnte mit 0,01% Peressigsäure die beste Bleichwirkung erzielt werden, obwohl die Dosierung der Peressigsäure nur 1/20 der Dosierung der anderen Bleichmittel und damit die eingesetzte Aktivsauerstoffkonzentration (1 mmol/l) im Vergleich zu den anderen Bleichmitteln (6 mmol/l Aktiv-Chlor [NaOCl] bzw. 18,6 mmol/l <O> [H₂O₂, Perborat]) deutlich geringer war. Nach Untersuchungen von REINHARDT et al. [1989] besteht zwischen der Bleichwirkung von direkt eingesetzter Peressigsäure im Vergleich zu in situ gebildeter Peressigsäure aus Perborat und TAED bei äquivalenter Peressigsäurekonzentration kein Unterschied. Dies konnten die eigenen Untersuchungen nicht bestätigen, da hier trotz höherer theoretisch zu erwartender Peressigsäurekonzentration von 3,5 mmol/l mit Perborat/TAED ein schlechteres Bleichergebnis erzielt wurde. Möglicherweise ist dies darauf zurückzuführen, daß im Perborat/TAED-System die Peressigsäure erst in situ entsteht. Die in situ Peressigsäurebildung stellt einen zeitabhängigen Prozeß dar, während bei der Direktapplikation von Peressigsäure die Bleichwirkung sofort einsetzt. Trotzdem konnte der Zusatz von TAED zu Perborat eine Steigerung der Bleichwirkung im Alkalischen bewirken, die auf die entstehende Peressigsäure zurückzuführen ist.

In den Bleichlösungen mit pH 7 konnte nur mit Natriumhypochlorit und Peressigsäure ein signifikanter Bleicheffekt erzielt werden, die Bleichwirkung der anderen Bleichmittel ist von der

Bildung des Perhydroxylanions abhängig, dessen Konzentration unter neutralen Reaktionsbedingungen für eine effektive Bleichwirkung nicht ausreicht.

Es zeigte sich, daß die Bleichwirkung nicht linear verlief, sondern mit fortschreitender Bleichdauer die Differenz der Bleichwirkung pro Zeiteinheit abnahm. Ähnliche Ergebnisse fanden SAIN et al. [1997] und führten diese auf eine zunehmende metallinduzierte katalytische Zersetzung der Aktiv-Sauerstoffspezies zurück. Unter den eigenen Versuchsbedingungen kann die Anwesenheit katalytisch wirkender Metallionen nicht ausgeschlossen werden, da der Farbstoff und die Bleichkomponenten keine p.a.-Qualität aufwiesen und ein Bleichmittelstabilisator (z.B. EDTA), der die Metallionen komplex binden könnte, nicht eingesetzt wurde. Zudem wird mit zunehmendem Zeitverlauf auch Bleichmittel für die Bleichreaktion verbraucht, was ebenfalls die Abnahme der Bleichwirkung erklären könnte.

Die Ergebnisse der weiterführenden Untersuchungen zum Vergleich der pH-abhängigen Bleichwirkung (pH-Bereich pH 5 bis pH 11) von TAED-aktiviertem und nicht-aktiviertem Perborat zeigten, daß die beste Bleichwirkung für beide Bleichsysteme zwischen pH 10 und pH 11 erzielt werden konnte (Abb. 5-41, S. 97). Für das nicht-aktivierte Bleichsystem stimmen diese Befunde mit den Daten aus der Literatur exakt überein und sind auf die hohe Konzentration des an der Bleichreaktion beteiligten Perhydroxylanions bei höheren pH-Werten zurückzuführen [DANNACHER und SCHLENKER, 1990]. Die Ergebnisse mit dem TAED-aktivierten Bleichsystem erscheinen auf den ersten Blick überraschend, da viele Autoren als optimalen pH-Wert für die TAED-aktivierte Bleiche einen pH-Wert von 8,2 angeben. PORSCHE et al. [1990] fanden die maximale Bleichwirkung eines aktivierten Bleichsystems, das ebenfalls Peressigsäure freisetzt, bei einem pH-Wert von pH 8,2, wobei die Untersuchungen mit molaren Bleichmittel:Aktivator-Verhältnissen zwischen 4:1 und 1:2 durchgeführt wurden. In den eigenen Untersuchungen betrug das molare Bleichmittel:Aktivator-Verhältnis 11:1. Aufgrund des hohen Perboratüberschusses kann davon ausgegangen werden, daß die Bleichreaktion durch Perborat überwog, was sich in dem Bleichmaximum zwischen pH 10 und pH 11 äußerte. Auffallend an den Ergebnissen war jedoch, daß die maximale Differenz der Bleichwirkung zwischen aktiviertem und nicht-aktiviertem Perborat zwischen pH 8 und pH 9 gefunden wurde. Dies bedeutet, daß die im aktivierten Bleichsystem gebildete Menge an Peressigsäure insbesondere im pH-Bereich zwischen pH 8 und pH 9 effektiv zur Bleichwirkung beiträgt, was die Angaben aus der Literatur zur optimalen Bleichwirkung der Peressigsäure bzw. aktivierter Bleichsysteme wiederum bestätigte. Im Gegensatz dazu konnte KLEBER [1994] in seinen Untersuchungen zum Einfluß des pH-Wertes auf die Bleichwirkung einer TAED-aktivierten Textilbleiche feststellen, daß die maximale Bleichwirkung bei pH 7,5 zu erzielen war, ähnliche Berichte liegen von STEINER [1995] vor. Die unterschiedlichen Angaben zum optimalen pH-Wert der TAED-aktivierten Bleiche könnten auf die unterschiedlichen Versuchsbedingungen zurückzuführen sein (Konzentration der Bleichmittel, Temperatur, Bleichsubstrat, Bleichdauer). Unter den Versuchsbedingungen nach KLEBER [1994] und STEINER [1995] (=hohe Bleichmitteldosierungen, lange Bleichdauer, hohe Temperaturen) wirkt sich ein neutraler pH-Wert u.U. stabilisierend auf die Peressigsäure aus, woraus bessere Bleichergebnisse resultieren können. Die fehlende Bleichwirkung unterhalb von pH 7 zeigte, daß hier offensichtlich keine bleichaktiven Spezies (z.B. Peressigsäure) gebildet werden, wie schon HAUTHAL et al. [1990] zeigen konnten.

Da der Mechanismus der Bleichwirkung letztendlich noch nicht geklärt ist und in Abhängigkeit vom pH-Wert und dem zu bleichenden Substrat mehrere Aktivsauerstoffspezies diskutiert werden, die an der Bleichwirkung beteiligt sind, stehen die eigenen Befunde nicht im Widerspruch zu den Befunden aus der Literatur. In den eigenen Untersuchungen konnte ebenfalls gezeigt werden, daß das Bleichergebnis vom Substrat abhängt, da die Bleichwirkung an unterschiedlichen Farbstoffen (Erythrosin, Brillantblau) unter denselben Bedingungen unterschiedlich ausfiel.

6.2 Der Einfluß des pH-Wertes auf die thermische Abtötung von Mikroorganismen

Die Hitzetoleranz von Mikroorganismen ist eine stammspezifische Eigenschaft, die u.a. vom Milieu des Mediums (pH-Wert, a_w -Wert, Anwesenheit verschiedener Substanzen etc.) in dem die Hitzebehandlung stattfindet abhängt. Eine wichtige Kenngröße, welche die Hitzetoleranz von Mikroorganismen charakterisiert, ist der D-Wert (= dezimale Reduktionszeit).

In Voruntersuchungen wurde die thermische Abtötung der für die Untersuchung ausgewählten Mikroorganismen *Entc. faecium*, *E. coli*, *St. aureus*, *M. terrae* und *C. albicans* in Abhängigkeit vom pH-Wert zwischen pH 7 und pH 11 bestimmt. Ziel dieser Versuchsreihen war es, den Grenzbereich der thermischen Abtötung und die pH-Empfindlichkeit der Mikroorganismen zu ermitteln. Die Bestimmung der pH-abhängigen thermischen Abtötung der ausgewählten Bakterien bestätigte die bereits bekannte Tatsache, daß Bakterien in neutralen Medien eine größere Hitzetoleranz aufweisen als bei alkalischen pH-Werten (mit Ausnahme acidophiler Arten). Dies wurde schon in vielen Untersuchungen nachgewiesen und konnte wiederholt bestätigt werden [Literatur vgl. HUGO, 1971 und PFLUG et al., 2001]. Als Optimum der Thermoresistenz für Bakterien gilt nach PFLUG et al. [2001] der pH-Bereich um den Neutralpunkt zwischen pH 6 und pH 8, also in dem pH-Bereich, der auch das Optimum für das Wachstum der untersuchten Bakterien darstellt. In Abb. 6-1 wurden die D-Werte der untersuchten Mikroorganismen in Abhängigkeit vom pH-Wert dargestellt. Die Ergebnisse der Untersuchungen mit *St. aureus* wurden nicht mit aufgenommen, da hier nur zwei Werte vorlagen und die D-Werte bei einer subletalen Temperatur von 50°C ermittelt wurden.

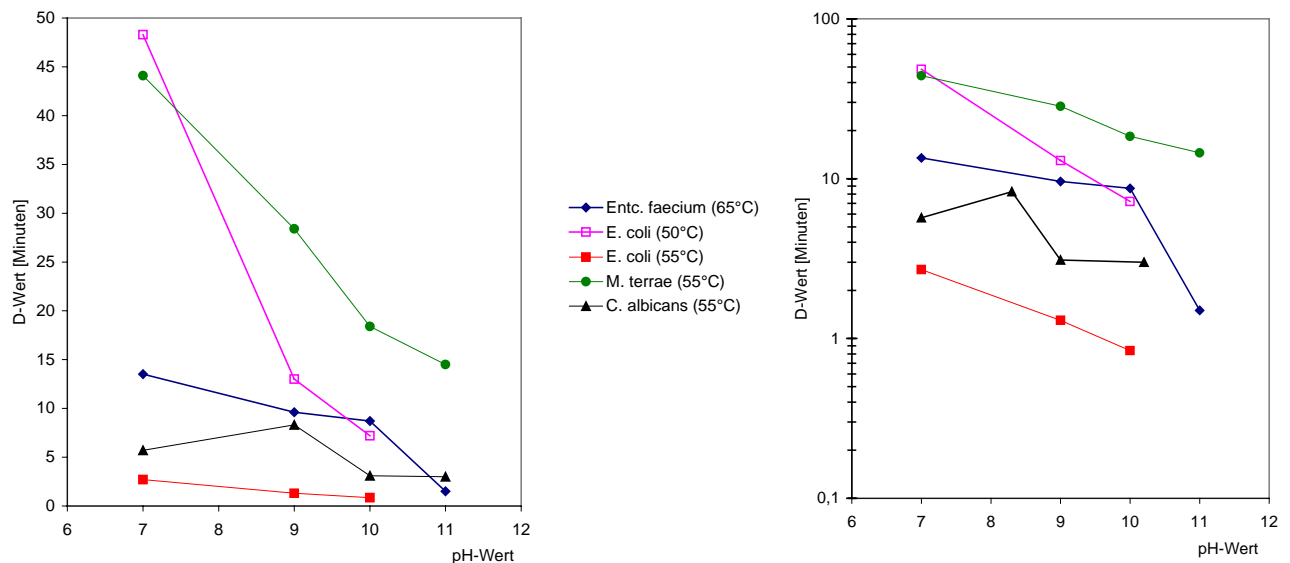


Abb. 6-1: Vergleich der D-Werte verschiedener Mikroorganismen in Abhängigkeit vom pH-Wert

Die linke Grafik zeigt die D-Werte in linearer Skalierung, wobei hier die bei 20°C eingestellten pH-Werte als Bezugsgrößen genommen wurden. In der rechten Grafik wurden die D-Werte halblogarithmisch in Abhängigkeit von den tatsächlichen pH-Werten bei der jeweils herrschenden Temperatur aufgetragen. Wie die halblogarithmische Darstellung der D-Werte zeigt, nehmen diese in einem bestimmten pH-Bereich nahezu linear ab. Ähnliche Beobachtungen machten MAFART und LEGUERINEL [1998] und entwickelten ein hypothetisches Modell für den Einfluß des pH-Wertes bei der thermischen Abtötung von Sporen, indem sie den sog. z_{pH} -Wert definierten. Der z_{pH} -Wert wurde von MAFART und LEGUERINEL definiert als die Differenz der pH-Werte, die bei einer bestimmten Temperatur zu

einer Abnahme der dezimalen Reduktionszeit auf 1/10 führt (Analog zum z-Wert der Temperatur). Nach ihren Modellrechnungen variiert der z_{pH} -Wert für Bakteriensporen im Temperaturbereich von 110°C bis 121°C zwischen 3 und 4 pH-Einheiten. Anhand der Ergebnisse der eigenen Untersuchungen wurden die theoretischen z_{pH} -Werte für die einzelnen Bakterien errechnet¹ und in Tab. 6-2 dargestellt.

Keim	Temperatur	Theoretischer z_{pH} -Wert
<i>Entc. faecium</i>	65°C	10,2
<i>E. coli</i>	55°C	4,0
<i>E. coli</i>	50°C	2,4
<i>M. terrae</i>	55°C	6,4

Tab. 6-2: Theoretisch errechnete z_{pH} -Werte ausgewählter Mikroorganismen

Im Vergleich zu den Daten von MAFART und LEGUERINEL [1998] liegen die hier errechneten Werte teilweise deutlich höher, mit der Tendenz, daß Mikroorganismen mit höherer Alkalientoleranz höhere z_{pH} -Werte aufweisen (vgl. nächster Abschnitt *Entc. faecium*, *M. terrae*). Der Vergleich der z_{pH} -Werte von *E. coli* bei verschiedenen Temperaturen bestätigt die Beobachtung von MAFART und LEGUERINEL [1998], daß bei höheren Temperaturen die theoretischen z_{pH} -Werte zunehmen. Dies könnte darauf hinweisen, daß bei höheren Temperaturen die thermischen Effekte die pH-Effekte überlagern, so daß ihr Einfluß nicht mehr so stark zum Tragen kommt. Zu einer ähnlichen Schlußfolgerung kamen auch FERNANDEZ et al. [1996]. Aufgrund der geringen Datenmenge bzw. keiner vergleichbarer Daten aus der Literatur handelt es sich hier nur um theoretische Überlegungen, die durch weiteres Datenmaterial noch bestätigt werden müssen.

Aus der linken Grafik in Abb. 6-1 geht hervor, daß *Entc. faecium* die größte Hitzetoleranz unter den untersuchten Bakterien aufwies. Die ermittelten D_{65} -Werte variierten zwischen 13,5 Minuten bei pH 7 und 1,5 Minuten bei pH 11. RENNER und PETERS [1999] bestimmten für denselben *Entc. faecium*-Stamm einen theoretischen D_{65} -Wert (in physiologischer Kochsalzlösung) von 4,5 Minuten. Ähnliche Ergebnisse liegen von KEARNS et al. [1995] und SIMPSON et al. [1994] vor. Die eigenen Daten liegen etwas höher als die in der Literatur angegebenen Werte, was vermutlich auf die unterschiedlichen Versuchsbedingungen und Versuchsmethodik zurückzuführen ist. WHITE [1963] ermittelte für *Enterococcus spp.* die maximale Hitzetoleranz bei pH 6,8, was die Ergebnisse der eigenen Untersuchungen bestätigten.

Die Hitzetoleranz des untersuchten Stammes von *E. coli* war von allen untersuchten Bakterien am niedrigsten und zeigte ebenfalls eine ausgeprägte pH-Abhängigkeit, wobei auch hier bei pH 7 die größte Hitzetoleranz auftrat. Ähnliche Ergebnisse liegen von BLACKBURN et al. [1997] vor, nach deren Untersuchungen *E. coli* O157:H7 zwischen pH 5,2 und pH 5,9 die maximale Hitzetoleranz aufwies. In den eigenen Untersuchungen wurde *E. coli* oberhalb von pH 10 schon bei Raumtemperatur inaktiviert. Zusammen mit der starken Abnahme des D-Wertes zwischen pH 7 und pH 9 scheint dies den Grenzbereich für den maximalen pH-Wachstumsbereich darzustellen, der nach Angaben aus der Literatur zwischen pH 4,4 und pH 9,0 liegt [KRÄMER, 1997]. Die ermittelten D-Werte stimmen weitgehend mit Daten aus der Literatur überein. Nach

¹ Die Berechnung des z_{pH} -Wertes erfolgte analog zum z-Wert über den reziproken Wert der Steigung der Regressionsgeraden.

den Untersuchungen von STEINHAEUER [1997] liegt der D_{50} -Wert (pH 10) von *E. coli* ATCC 23226 bei 2,7 Minuten, im Vergleich dazu betrug der D_{50} -Wert (pH 10) des Stammes ATCC 11229 7,2 Minuten. Die Unterschiede sind größtenteils auf die eingesetzten Kulturmedien zurückzuführen, da STEINHAEUER in ihrer Untersuchung mit Selektivnährböden arbeitete, auf denen subletal geschädigte Zellen wenig regenerieren können.

Der Vergleich der in dieser Untersuchung ermittelten D-Werte von *E. coli* bei 50°C und 55°C deutet an, daß der Einfluß des pH-Wertes auf die Hitzeabtötung mit steigender Erhitzungstemperatur abnimmt, wie schon CERNY [1980b] in seinen Untersuchungen zeigen konnte.

Die ermittelten z-Werte bei der thermischen Inaktivierung von *E. coli* werden offensichtlich ebenfalls vom pH-Wert beeinflusst. Mit zunehmender Alkalität konnte ein Anstieg der z-Werte beobachtet werden. Ähnliche Befunde liegen von CERNY [1980b] vor, der eine Zunahme der z-Werte bei der Abtötung von *B. subtilis*-Sporen mit zunehmender Acidität beobachten konnte. Nach BLACKBURN et al. [1997] liegt der z-Wert für *E. coli* O157:H7 im Bereich zwischen 4,6°C und 7,0°C, was sich mit den eigenen ermittelten Werten deckt.

Die D_{50} -Werte in den Versuchen zur pH-abhängigen thermischen Inaktivierung von ***St. aureus*** lagen zwischen 78,7 Minuten (pH 7) und 11,8 Minuten (pH 10). Andere Autoren fanden bei *St. aureus* D_{50} -Werte (in Phosphatpuffer) von 17,7 Minuten (MULAK et al., 1995). In der Literatur sind nur wenige Daten zu D-Werten von *St. aureus* unterhalb von 55°C verfügbar, da *St. aureus* sich unter bestimmten Voraussetzungen bis zu einer Temperatur von 47,8°C vermehren kann [BAUMGART, 1999]. Die hohen D-Werte deuten an, daß es sich bei einer Temperatur von 50°C um den Übergangsbereich zwischen Letaltemperatur und der maximalen Wachstumstemperatur von *St. aureus* handelt. BAUMGARTNER und KNOCK [1940] ermittelten die maximale Hitzetoleranz von *St. aureus* bei pH 7,2.

Untersuchungen zur Charakterisierung der Hitzeempfindlichkeit von **Mycobakterien** in neutralen Medien wurden u.a. von SUNG und COLLINS [1998] durchgeführt. Dabei zeigte sich, daß die D_{62} -Werte von verschiedenen human- bzw. tierpathogenen Stämmen von *M. paratuberculosis* zwischen 2,3 Minuten und 5,4 Minuten variierten, für *M. avium* betrug der D_{62} -Wert 1,3 Minuten. Die ermittelten z-Werte lagen zwischen 6,5°C und 8,8°C. Aus diesen Werten errechnet sich ein theoretischer D_{55} -Wert von Mycobakterien in der Größenordnung von 13 bis 54 Minuten. Damit ist der in dieser Untersuchung für *M. terrae* bestimmte D_{55} -Wert mit 44,1 Minuten (pH 7) mit den Ergebnissen aus der Literatur vergleichbar. Eine Eigenschaft der Mycobakterien ist ihre bekannte Alkalienbeständigkeit, die auf den hohen Lipidgehalt der Zellwände zurückgeführt wird. Der relativ hohe D_{55} -Wert bei pH 11 unterstützt diesen Sachverhalt. Der sprunghafte Anstieg des D-Wertes zwischen pH 9 (effektiv pH 8,3) und pH 10 (effektiv pH 9,0) deutet auch hier auf den Grenzbereich des optimalen pH-Wachstumsbereiches von *M. terrae*.

Die Untersuchung der Hitzeempfindlichkeit der Hefe ***C. albicans*** brachte überraschende Ergebnisse. Das Maximum der Hitzetoleranz lag hier nicht wie erwartet bei pH 7, sondern bei pH 9 (effektiv pH 8,3), wie die Darstellung der D_{55} -Werte in Abb. 6-1 zeigt. Oberhalb von pH 9 nahm der D-Wert wieder sprunghaft ab und kennzeichnet damit den Grenzbereich des optimalen pH-Wachstumsbereiches der Hefe, wie dies schon bei den Bakterien teilweise festgestellt wurde. CERNY [1980a] ermittelte in seinen Untersuchungen zur thermischen Abtötung von Hefen das Maximum der Widerstandsfähigkeit gegenüber Hitze einwirkung im schwach sauren bzw. die größte Hitzeempfindlichkeit im alkalischen Bereich. Eine nähere Betrachtung seiner Ergebnisse zeigte jedoch ebenfalls einen leichten Anstieg der D-Werte zwischen pH 8 und pH 9, wobei der D-Wert bei pH 9 etwas geringer war im Vergleich zum D-Wert bei pH 7. In der Literatur sind die D-Werte von Hefen besonders an *S. cerevisiae* gut

beschrieben. Nach LOPEZ-MALO et al. [1999] beträgt der D_{55} -Wert (destilliertes Wasser) von *S. cerevisiae* 2,7 Minuten. Im Vergleich dazu ermittelte CERNY [1980a] für Hefen einen D_{55} - Wert, der in Abhängigkeit vom pH-Wert im pH-Bereich von pH 7 bis pH 10 zwischen 9 und 15 Sekunden variierte [Hefestämme *Sacharomyces cerevisiae* und *Rhodotorula glutinis*]. Die D_{55} -Werte für den Stamm *C. albicans* ATCC 10321 lagen im entsprechenden pH-Bereich im Minutenbereich (3 bis 8,3 Minuten). In den Untersuchungen von VAN UDEN [1984] finden sich Hinweise darauf, daß *C. albicans* offenbar eine leicht höhere Hitzetoleranz aufweist im Vergleich zu *S. cerevisiae*, weshalb die eigenen Ergebnisse realistisch erscheinen.

Generell fiel bei den meisten der untersuchten Mikroorganismen auf, daß die D-Werte im Vergleich zu Angaben aus der Literatur relativ hoch waren. Im allgemeinen wird die Hitzetoleranz von verschiedenen Faktoren (Umgebungsfaktoren, stammspezifische Faktoren, Inkubationsbedingungen) mit bestimmt, weshalb in Abhängigkeit von den Untersuchungsbedingungen erhebliche Unterschiede bezüglich der Hitzetoleranz einer Mikroorganismenspecies auftreten können [HANSEN und RIEMANN, 1963]. Nach PFLUG et al. [2001] weisen Keime der exponentiellen Wachstums-Phase eine höhere thermische Empfindlichkeit auf als Keime der stationären Phase. Nachdem in diesen Untersuchungen mit Mikroorganismen aus der stationären Phase gearbeitet wurde, können die hohen D-Werte auf deren höhere Hitzetoleranz zurückgeführt werden. Zudem werden die D-Werte von der Zusammensetzung und Konzentration der Pufferlösungen mit beeinflusst. Höhere Konzentrationen bewirken u.U. eine Senkung des a_w -Wertes, der wiederum die Hitzetoleranz von Mikroorganismen beeinflusst. Auch die Methode, mit der die D-Werte bestimmt werden, beeinflusst das Ergebnis maßgeblich. Eine Übersicht über die verschiedenen Methoden und deren Vor- und Nachteile findet sich bei PFLUG et al. [2001].

Insgesamt erwies sich die thermische Inaktivierung der untersuchten Mikroorganismen stark pH-abhängig: mit einer Ausnahme wiesen alle Mikroorganismen bei pH 7 die größte Hitzetoleranz auf. Als Ursache hierfür wird u.a. die beschleunigte Eiweißdenaturierung bei hohen pH-Werten diskutiert [BAUMGARTNER und KNOCK, 1940].

6.3 Die mikrobizide Wirkung von Bleichmitteln und Bleichmittelsystemen und deren Einflußfaktoren

Im Hauptteil der vorliegenden Arbeit wurde die mikrobizide Wirkung verschiedener für die Textilwäsche relevanter Bleichmittelsysteme anhand ausgewählter Mikroorganismen und die Einflußfaktoren auf die mikrobizide Wirkung im quantitativen Suspensionsversuch bestimmt. Die Inaktivierung von Mikroorganismen durch biozide Wirkstoffe ist ein zeitabhängiger Prozeß und die Abtötungsrate der Mikroorganismen wird häufig als Funktion der Zeit dargestellt. Der Verlauf der Abtötungskinetik hängt von vielen Faktoren ab, u.a. vom eingesetzten Mikroorganismus selbst, der Art und Konzentration des bioziden Wirkstoffes, der Temperatur, vom pH-Wert und nicht zuletzt von der Untersuchungsmethode. Die Berücksichtigung dieser Einflußfaktoren spielt eine Rolle bei der Beurteilung der mikrobiziden Eigenschaften eines Stoffes. Einfache Modelle der Inaktivierungskinetik gehen davon aus, daß die Inaktivierung einer Reaktionskinetik 1. Ordnung folgt, d.h. daß die Abtötung pro Zeiteinheit einen konstanten Wert darstellt. Die zahlreichen Forschungsaktivitäten auf dem Gebiet der Desinfektionsmittel in den vergangenen Jahrzehnten konnten zeigen, daß viele Inaktivierungskurven in halblogarithmischer Darstellung keine Geraden darstellen, sondern in den häufigsten Fällen sigmoid oder konkav verlaufen [WEAVERS und WICKRAMANAYAKE, 2001]. Ausgehend von den Daten zur Wirksamkeit von Desinfektionsmitteln bzw. Desinfektionsverfahren wurden viele Versuche unternommen, mathematische und statistische Modelle zu entwickeln, die es

erlauben, möglichst universell gültige Aussagen für die inaktivierende Wirkung eines Wirkstoffes treffen zu können und mit anderen Wirkstoffen vergleichen zu können bzw. die unterschiedlichen Kinetiken bei der Inaktivierung zu interpretieren [LAMBERT und JOHNSTON, 2000; BLACKBURN et al. , 1997; XIONG et al., 1999; u.a.]. Für die Entwicklung solcher Modelle sind eine Vielzahl statistischer Daten erforderlich, die aus den vorliegenden Untersuchungen nicht in ausreichender Anzahl zur Verfügung standen. Deshalb wurde auf die Berechnung kinetischer Daten zur Inaktivierung durch die einzelnen Substanzen verzichtet und die Ergebnisse in Form von halblogarithmischen Abtötungskinetiken vergleichend dargestellt. Es zeigte sich generell, daß die ermittelten Abtötungskinetiken in den wenigsten Fällen linear verliefen, sondern wie schon vielfach beobachtet in Abhängigkeit der verschiedenen Einflußparameter sigmoide oder konkave Formen aufwiesen. Im Rahmen der Diskussion der Wirkung der einzelnen Bleichmittel werden die möglichen Ursachen für den unterschiedlichen Verlauf der Inaktivierungskinetiken und die Einflußparameter diskutiert.

6.3.1 Mikrobizide Wirkung nicht-aktivierter Bleichmittel und deren Einflußfaktoren

6.3.1.1 Wirkungsspektrum und Vergleich der mikrobiziden Wirkung nicht-aktivierter Bleichmittel

Die untersuchten nicht-aktivierten Bleichmittel wiesen in folgender Reihenfolge die beste mikrobizide Wirksamkeit auf : Peressigsäure > Natriumhypochlorit > Phthalimido-peroxocaprinsäure > Percarbonat \approx Perborat und konnten damit die aus der Literatur bekannten Angaben zur mikrobiziden Wirkung dieser Substanzen bestätigen. In Tab. 6-3 sind die Ergebnisse aus den Versuchen mit *Entc. faecium* in Abhängigkeit von den Versuchsparametern vergleichend dargestellt. Angegeben ist jeweils die log-Reduktion nach einer bestimmten Einwirkdauer, d.h. die Anzahl der Zehnerpotenzen der Mikroorganismenpopulation, die nach der angegebenen Zeit inaktiviert wurde. Ähnliche Ergebnisse wurden auch mit anderen Mikroorganismen bestätigt.

Bleichmittel	Dosierung	Aktiv-Wirkstoff-Konzentration	Temperatur [°C]	-lg (N/N ₀)/Einwirkdauer [min]				
				pH 7	pH 9 [T] [*]	pH 10 [T] [*]	pH 10 [C] [*]	pH 11
Natriumhypochlorit	0,1%	3,4 mmol/l <Cl>	30	7,0/5	1,0/40	0/40	7,0/5	7,0/5
Peressigsäure	0,1%	10,0 mmol/l <O>	30	7,0/5	7,0/5	7,0/5	-	7,0/5
PAP	0,2%	5,0 mmol <O>	30	7,0/5	7,0/20	5,7/10	-	7,0/40
Perborat	0,1%	9,3 mmol/l <O>	60	2/40	4,6/40	4,7/40	-	7,0/40
	0,2%	18,6 mmol/l <O>	60	5,5/40	7,0/40	7,0/40	-	7,0/20
	1,0%	93 mmol/l <O>	40	2,5/40	4,2/40	4,5/40	-	4,6/40
Percarbonat	1,0%	83 mmol/l <O>	40	1,9/40	4,0/40	4,3/40	-	4,7/40

^{*}T= organischer Tris-Puffer, C= anorganischer Carbonat-Puffer

Tab. 6-3: Wirkung nicht-aktivierter Bleichmittel auf *Entc. faecium*

6.3.1.2 Wirkung von Natriumhypochlorit als Referenz und der Einfluß des pH-Wertes

Die Wirkung von Natriumhypochlorit wurde stellvertretend auf *Entc. faecium*, *C. albicans* und *A. niger* untersucht und als Referenz im Vergleich zu den anderen Bleichmitteln mit einbezogen, da Natriumhypochlorit wegen seiner guten bleichenden und desinfizierenden (incl. sporiziden) Wirkung bei niedrigen Temperaturen schon lange als Bleich- und Desinfektionsmittel Verwendung findet. Die gute mikrobizide Wirkung von Natriumhypochlorit im Niedrigtemperaturbereich konnte bestätigt werden, da mit Natriumhypochlorit trotz des vergleichsweise niedrigen Wirkstoffgehaltes sehr gute Abtötungseffekte erzielt werden konnten (vgl. Kap. 2.4.1). Ebenfalls bestätigt werden konnte das Wirkungsspektrum chlorabspaltender Verbindungen, das nach WALLHÄUSER [1995] gegenüber grampositiven Keimen besser ist im Vergleich zu Hefen und Schimmelpilzen. Bei der Wirkung auf *Entc. faecium* und *C. albicans* zeigte sich kein Einfluß des pH-Wertes, was auf die Empfindlichkeit der Mikroorganismen zurückzuführen sein dürfte. Im Gegensatz dazu konnte in der Wirkung auf *A. niger* ein signifikanter pH-Einfluß nachgewiesen werden: je höher der pH-Wert, desto höher die erforderliche Einwirkdauer für eine vollständige Inaktivierung der *A. niger*-Konidien (Abb. 5-31, S. 88). Der Einfluß des pH-Wertes auf die mikrobizide Wirkung von Aktivchlorverbindungen ist in der Literatur sehr gut beschrieben und wird auf den Anteil an hypochloriger Säure in Abhängigkeit vom pH-Wert zurückgeführt. Besonders auffallend war die Beobachtung, daß in den alkalischen Pufferlösungen mit organischen Puffersubstanzen (Tris(hydroxymethyl)-aminomethan) nachweislich keine Abtötung der Mikroorganismen zu erkennen war, während in den anorganischen Puffersystemen desselben pH-Wertes eine signifikante Mikroorganismenabtötung auftrat. Dies deutet auf Interaktionen zwischen der Puffersubstanz und dem Natriumhypochlorit hin. Aus der Literatur ist hinreichend bekannt, daß organische Substanzen und insbesondere N-haltige Verbindungen die Wirkung von Aktivchlorverbindungen nachteilig beeinflussen, da diese aufgrund ihres hohen Oxidationspotentials mit den organischen Verbindungen reagieren können [DYCHDALA, 2001]. Dies ist offensichtlich der Grund dafür, daß im organischen Tris-Puffer ein Wirkstoffzehrung auftrat, die auch über die Bestimmung des Aktivchlorgehaltes nachgewiesen werden konnte.

6.3.1.3 Wirkung von organischen Persäuren und der Einfluß der Konzentration und des pH-Wertes

Die antimikrobielle Wirksamkeit organischer Persäuren ist seit langem bekannt, weshalb organische Persäuren (insbesondere Peressigsäure) in vielen Bereichen als Desinfektionsmittel Verwendung finden. Der Einsatz von Peressigsäure in Haushaltswaschmitteln ist aus anwendungstechnischen Gründen nicht möglich, jedoch wird bei der aktivierten Bleiche u.a. Peressigsäure gebildet, weshalb die Wirkung der Peressigsäure an einem ausgewählten Testkeim untersucht wurde. Im Vergleich zu den anderen Bleichmitteln konnte bei *Entc. faecium* mit Peressigsäure die beste Wirkung erzielt werden (Tab. 6-2), wobei hier offensichtlich wegen der relativ hohen Peressigsäuredosierung kein Einfluß des pH-Wertes und der organischen Puffersubstanz zu erkennen war, wie dies bei Natriumhypochlorit beobachtet werden konnte.

Die Wirkung der organischen Persäure Phthalimido-peroxy-capronsäure (PAP) zeigte dagegen im Niedrigtemperaturbereich eine deutliche pH-Abhängigkeit. Generell konnte mit PAP bei pH 7 eine bessere bzw. schnellere Abtötung erzielt werden als unter alkalischen Bedingungen. Dabei war die Wirkung auf *C. albicans* und *A. niger* bzw. auf den Phagen MS2 signifikant schlechter als bei den grampositiven Bakterien. Die pH-abhängigen Abtötungskinetiken bei *Entc. faecium*

wiesen eine extreme lag-Phase auf, nach der die Wirkung der PAP schlagartig einsetzte (vgl. Abb. 5-4, S. 60). Dieser Verlauf deutet auf eine pH-abhängige Freisetzung des reaktiven Agens hin. In dieser Arbeit wurde nicht mit PAP als Reinsubstanz gearbeitet, sondern in Form eines PAP-haltigen Granulates, dessen Löslichkeit laut Herstellerangaben vom pH-Wert beeinflusst wird. Demnach soll sich das PAP-Granulat unter alkalischen Bedingungen besser lösen als bei neutralem pH-Wert. Unter alkalischen Bedingungen sollen nach 5 Minuten ca. 50% des Granulates gelöst sein. Diese Angaben konnten durch optische Kontrolle nicht bestätigt werden, da in allen Versuchsansätzen unabhängig vom pH-Wert nach Versuchsende ungelöstes PAP-Granulat vorhanden war. Die Tatsache, daß bei höheren pH-Werten eine verlängerte lag-Phase in der Abtötungskinetik auftrat widerspricht der Annahme, daß hier allein Löslichkeitseffekte die lag-Phase bedingen. Vielmehr ist der Einfluß des pH-Wertes darauf zurückzuführen, daß die Wirkung der organischen Persäuren bekanntermaßen mit zunehmender Acidität zunimmt, da offensichtlich die undissoziierte Persäure besser in die Mikroorganismenzelle eindringen kann, ähnlich wie dies bei der Wirkungsweise vieler Konservierungsstoffe auf Basis organischer Säuren bekannt ist. Offenbar reicht die unter neutralen Bedingungen, trotz geringerer Löslichkeit des Granulates, freigesetzte PAP aus, um schon in niedrigen Konzentrationen auf die Mikroorganismenzelle zu wirken.

Im Gegensatz dazu konnte bei der Inaktivierungskinetik des Phagen MS2 durch PAP keine lag-Phase gefunden werden, da hier die Wirkung sofort eintrat. Diese Beobachtung deutet darauf hin, daß die wirkaktiven Species bei den Viren direkt am Kapsid angreifen können und keine „Diffusionshindernisse“ (z.B. Zellwand der Mikroorganismen) überwinden müssen. Beobachtungen von MAILLARD et al. [1998] deuten an, daß sowohl eine Schädigung des Kapsids und eine Schädigung der DNA zur Inaktivierung von Bakteriophagen führen können. Für Peressigsäure konnten sie sogar eine Schädigung der Phagen-DNA nachweisen [MAILLARD et al., 1996]

Die keimabtötende Wirkung von PAP konnte durch Konzentrations- bzw. Temperaturerhöhung verstärkt werden.

6.3.1.4 Wirkung von anorganischen Peroxoverbindungen und deren Einflußfaktoren

Die anorganischen Peroxoverbindungen setzen als reaktives Agens Wasserstoffperoxid frei, das bekanntermaßen bleichend und gegenüber einer Vielzahl von Mikroorganismen keimabtötend wirkt (vgl. Kap. 2.4.2). Dabei spielt es nach Angaben aus der Literatur keine Rolle, aus welcher Verbindung das Wasserstoffperoxid freigesetzt wird. Das Ausmaß der inaktivierenden Wirkung der Peroxoverbindungen auf die untersuchten Mikroorganismen war unterschiedlich und wurde entscheidend von der Temperatur, der Konzentration und vom pH-Wert beeinflusst. Gegenüber den grampositiven Bakterien (*Entc. faecium*, *St. aureus*), sowie Hefen und Schimmelpilzen (*C. albicans*, *A. niger*) zeigte Perborat im Vergleich zum gramnegativen *E. coli* eine signifikant schlechtere Wirkung, was auf eine verminderte Diffusion des Wasserstoffperoxides in die grampositiven Bakterienzellen hindeuten könnte.

Obwohl *Entc. faecium* keine zelluläre Katalase besitzt, zeigte dieses Bakterium eine hohe Widerstandsfähigkeit gegenüber der Einwirkung von Wasserstoffperoxid. Dies führt zu der Annahme, daß *Entc. faecium* über andere Mechanismen zur Abwehr toxischer Sauerstoffspezies verfügen muß. Tatsächlich konnten PATEL et al. [1998] die Existenz von Glutathion-Peroxidase zusätzlich zur bereits bekannten NADH-Peroxidase in *Entc. faecalis*-Zellen nachweisen. Die hohe Toleranz von *St. aureus*, *C. albicans* und *A. niger* wird durch Daten aus der Literatur bestätigt und ist z.T. auf den hohen Katalasegehalt der Keime und bei den Hefen und Schimmelpilzen zusätzlich auf deren eukaryotischen Zellaufbau zurückzuführen. Der Vergleich der Wirkung der beiden Bleichmittel Perborat und Percarbonat zeigte, daß bei

niedrigen Dosierungen, die Wirkung des Percarbonates, trotz des etwas niedrigeren Aktivwirkstoffgehaltes, der Wirkung des Perborates leicht überlegen war, was auf eine bessere Verfügbarkeit des Wasserstoffperoxides aus dem Percarbonat hindeutet (Abb. 5-3, S. 59). Bei höheren Dosierungen trat dieser Effekt nicht mehr auf. Im Vergleich zu den Untersuchungen von STEINHAUER [1997] und STARK [1998] konnten im Rahmen dieser Arbeit ähnliche Ergebnisse zur Wirkung von Perborat und Percarbonat auf *E. coli* und Hefen gefunden werden. Die mikrobizide Wirkung von Perborat konnte durch Konzentrations- bzw. Temperaturerhöhung erheblich gesteigert werden. Dabei wirkte sich eine Temperaturerhöhung um 10 K bis 20 K signifikant besser aus, als eine Konzentrationserhöhung von 0,1% auf 1,0% im Niedrigtemperaturbereich (vgl. Abb. 5-24 bzw. 5-25, S. 81/82 oder Abb. 5-2 und 5-3, S. 58/59). Bei niedrigen Temperaturen zeigte die Abtötungskinetik von Perborat eine lag-Phase, d.h. in den ersten 20 Minuten der 40minütigen Einwirkdauer konnte keine signifikante Wirkung beobachtet werden; diese trat erst nach einer Behandlungsdauer von 20 bis 40 Minuten auf. Solche Reaktionskinetiken können verschiedene Ursachen haben. Im Fall von Perborat deutet die verzögert einsetzende Wirkung darauf hin, daß der Wirkstoff erst in die Zelle gelangen muß und daß zu Beginn der Einwirkung von Perborat Enzymaktivitäten in der Mikroorganismenzelle vorhanden sind, die die Zelle noch einige Zeit vor der Einwirkung des Wasserstoffperoxides schützen. Diese Möglichkeit scheint bei diesen hohen Einsatzkonzentrationen von Perborat resp. Wasserstoffperoxid eine untergeordnete Rolle zu spielen. Es ist unter diesen Bedingungen eher wahrscheinlich, daß die Bildung der reaktiven Komponente, welche für die Wirkung verantwortlich ist, einen zeitabhängigen Prozeß darstellt oder daß für die Abtötung einer Mikroorganismen-Zelle mehrere Angriffsorte in der Zelle geschädigt werden und die molekularen Reparaturmechanismen, die kleine Schäden reparieren können, nicht zum Tragen kommen [RUSSEL, 2001]. Der Einfluß der Lösegeschwindigkeit des Perborates ist unter diesen Bedingungen zu vernachlässigen.

Bei höheren subletalen Temperaturen konnte eine veränderte Reaktionskinetik festgestellt werden, die auf eine Überlagerung von thermischen und chemischen Effekten hindeutet. Insbesondere bei der Abtötung von *E. coli* durch geringe Mengen Perborat zeigte sich, daß bei 50°C in halblogarithmischer Darstellung nahezu lineare Abtötungskinetiken vorlagen (Abb. 5-11, S. 70). Deshalb konnten für die Abtötung von *E. coli* im Temperaturbereich zwischen 40°C und 50°C teilweise D-Werte und z-Werte bestimmt werden. Die ermittelten z-Werte für die Abtötung von *E. coli* durch 0,075% Perborat variierten in Abhängigkeit vom pH-Wert zwischen 17,2°C und 24°C, was für z-Werte bei der chemischen Desinfektion nicht ungewöhnlich ist. Auffallend war der Anstieg der z-Werte bei höheren pH-Werten, der auch schon bei der pH-abhängigen thermischen Abtötung von *E. coli* (vgl. Kap. 6.2) beobachtet werden konnte.

Die Bildung von reaktiven Species aus Wasserstoffperoxid ist stark temperatur- und konzentrationsabhängig, was den positiven Einfluß der Temperatur und der Konzentration auf die mikrobizide Wirkung des Wasserstoffperoxides erklärt. Bei höheren Dosierungen bzw. höheren Temperaturen wirkt Perborat resp. Wasserstoffperoxid sogar gegen Bakteriensporen [CERNY, 1976; MITTERMAYR, 2000].

Nach Angaben aus der Literatur wird die Wirkung von Wasserstoffperoxid im Vergleich zu anderen mikrobizid wirkenden Stoffen nur wenig vom pH-Wert beeinflusst, wobei in schwach sauren Lösungen leicht bessere Effekte erzielt werden können als in alkalischen Medien. Dieser geringe pH-Einfluß wird dadurch erklärt, daß der pK_s -Wert des Wasserstoffperoxides sehr hoch ist ($pK_s \approx 11,7$) und dadurch unterhalb von pH 11,7 Wasserstoffperoxid im Überschuß in der undissoziierten Form vorliegt, in der es die Zellmembran der Mikroorganismenzelle passieren kann [BALDRY, 1983]. Der positive Einfluß unter pH-Bedingungen $< \text{pH } 7$ kann auch durch die erhöhte Stabilität von Wasserstoffperoxid bei niedrigen pH-Werten erklärt werden. Die Ergebnisse dieser Untersuchung zeigten jedoch deutliche Unterschiede in der Wirkung von Perborat in Abhängigkeit vom pH-Wert im Bereich zwischen pH 7 und pH 11. Je höher der pH-Wert, desto stärker war die Abtötungswirkung bzw. desto schneller trat die Abtötungswirkung

ein. Eine Ursache könnte darin liegen, daß die Mikroorganismen unter stark unphysiologischen Bedingungen, z.B. bei hohen pH-Werten, auf chemische Einflüsse sensibler reagieren, wie dies auch bei der thermischen Inaktivierung nachgewiesen wurde. Tatsächlich steigt auch mit zunehmendem pH-Wert die Konzentration des Perhydroxylanions, das als reaktives Species bei der Bleichwirkung von Wasserstoffperoxid diskutiert wird. Bislang besteht die Meinung, daß die keimabtötende Wirkung von Wasserstoffperoxid auf die Bildung von hochreaktiven Hydroxylradikalen zurückzuführen ist, die bei der metallkatalysierten Reaktion von Wasserstoffperoxid in der Mikroorganismenzelle gebildet werden (vgl. (Gl. 4), S. 32). Diese Theorie wurde durch Untersuchungen von CLAPP et al. [1994] unterstützt, die nachweisen konnten, daß der Zusatz von Antioxidantien die keimabtötende Wirkung von Peroxoverbindungen verminderte. Der schädigende Einfluß der Hydroxylradikale auf bakterielle DNA wurde von KEYER et al. [1995] an *E. coli*-Zellen nachgewiesen. Andererseits könnten in Abhängigkeit vom pH-Wert auch unterschiedliche reaktive Species an der keimabtötenden Wirkung beteiligt sein, wie dies ebenfalls für die Bleichwirkung von Wasserstoffperoxid diskutiert wird. Ähnliche Überlegungen finden sich bei SHIN et al. [1994], die aus den Ergebnissen ihrer Untersuchungen schließen, daß die Abtötung von Sporen über andere Mechanismen abläuft als die Abtötung von vegetativen Mikroorganismen.

6.3.2 Mikrobizide Wirkung aktivierter Bleichmittel und deren Einflußfaktoren

Aktivierete Bleichmittelsysteme bilden in situ organische Persäuren, die aufgrund ihres hohen Oxidationspotentials schon bei niedrigen Temperaturen oxidierend sowohl auf bleichbare Verschmutzungen als auch auf Mikroorganismen wirken können. Die vorliegenden Untersuchungen zur mikrobiziden Wirkung aktivierter Bleichsysteme konnten zeigen, daß der Zusatz des Aktivators die mikrobizide Wirkung im Vergleich zum nicht-aktivierten Bleichmittel signifikant verbesserte und daß die mikrobizide Wirkung des aktivierten Bleichsystems von folgenden Faktoren mehr oder weniger beeinflußt wurde:

- Aktivator
- pH-Wert
- Konzentration und Konzentrationsverhältnis der Bleichkomponenten
- Temperatur
- Schmutzbelastung
- Katalysator

Die Bedeutung der einzelnen Faktoren wird in den nachfolgenden Abschnitten näher erläutert.

6.3.2.1 Wirkungsspektrum und Vergleich der mikrobiziden Wirkung aktivierter Bleichsysteme

Generell konnte mit den aktivierten Bleichsystemen im Niedrigtemperaturbereich eine bessere Wirksamkeit gegenüber den Bakterien im Vergleich zu der Hefe, dem Schimmelpilz und den Bakteriophagen erzielt werden. Dies entspricht den Angaben aus der Literatur zum Wirkungsspektrum organischer Persäuren [BLOCK, 2001].

Unter den **Bakterien** wurde der gramnegative Stamm *E. coli* schon durch niedrige Bleichsystem-Dosierungen abgetötet, während die grampositiven Bakterien (*Entc. faecium*, *St. aureus*, *M. terrae*) eine höhere Toleranz aufwiesen. Ähnliche Ergebnisse liegen von der Firma WARWICK [2001c] vor, welche die mikrobizide Wirkung aktivierter Bleichsysteme unter anwendungsorientierten Bedingungen untersuchte. Die beiden grampositiven Species **Entc.**

faecium und *St. aureus* unterschieden sich nur geringfügig in ihrer Empfindlichkeit gegenüber der aktivierten Bleiche, *Entc. faecium* zeigte bei alkalischen pH-Werten eine leicht höhere Widerstandsfähigkeit, die auf seine hohe Alkalientoleranz zurückzuführen ist. Umgekehrt zeigte sich *St. aureus* bei neutralen pH-Werten geringfügig widerstandsfähiger als *Entc. faecium*, was Untersuchungen zur Wirkung organischer Persäuren aus der Literatur ebenfalls bestätigen konnten [BLOCK, 2001; WARWICK, 2001c; BALDRY, 1983]. Da die in situ gebildeten organischen Persäuren von mikrobieller Katalase nicht zersetzt werden können, konnte kein Einfluß bezüglich der Katalaseverfügbarkeit in den Bakterien festgestellt werden. Die höchste Toleranz unter den Bakterien gegenüber den untersuchten Bleichsystemen wies *M. terrae* auf. Dieser Mycobakterien-Stamm konnte nur durch relativ hohe Dosierungen bzw. bei höheren Temperaturen signifikant inaktiviert werden. Die hohe Toleranz der Mycobakterien gegenüber Aktivsauerstoffverbindungen ist aus der Literatur bekannt und wird auf den hohen Lipidanteil bzw. die Wachsschicht in der Zellwand der Mycobakterien zurückgeführt [GRIFFITHS et al., 1999; PETERS und SPICHER, 1994; HINGST et al., 1990].

Die fungizide Wirkung der aktivierten Bleichsysteme war im Vergleich zur bakteriziden Wirkung deutlich geringer. Schon STARK [1998] konnte feststellen, daß zur Inaktivierung von *S. cerevisiae* im Niedrigtemperaturbereich sehr hohe Bleichmitteldosierungen erforderlich waren, was die eigenen Untersuchungen mit der hautpathogenen Hefe *C. albicans* bestätigten. Ähnliche Befunde zur Wirkung von Peressigsäure gegenüber Hefen und Schimmelpilzen finden sich bei BALDRY [1983] und BLOCK [2001]. Für die Inaktivierung von *A. niger* waren im Vergleich zu *C. albicans* noch höhere Dosierungen erforderlich. Die unterschiedliche Widerstandsfähigkeit von Bakterien und Pilzen ist z.T. auf den eukaryotischen Zellaufbau der Pilze zurückzuführen.

Die erfolgreiche Inaktivierung von **Bakterienviren** durch aktivierte Bleichsysteme konnte in diesen Untersuchungen ebenfalls nachgewiesen werden. Der Phage PhiX174 erwies sich als empfindlicher im Vergleich zum Phagen MS2, für dessen Inaktivierung deutlich höhere Dosierungen erforderlich waren. Ähnliche Unterschiede bezüglich der Resistenz des Phagen MS2 im Vergleich zum Phagen PhiX174 wurden schon von LEHMANN und BANSEMIR [1987] postuliert.

In den meisten Versuchen verlief die Abtötungskinetik in halblogarithmischer Darstellung nicht linear, sondern zeigte in Abhängigkeit der verschiedenen Einflußfaktoren entweder ausgeprägte lag-Phasen oder ein „Tailing“ im Verlauf auf, deren Ursachen im Zusammenhang mit den Einflußfaktoren näher diskutiert werden. Möglicherweise handelt es bei der Abtötung der Mikroorganismen durch Bleichsysteme um eine Reaktionsordnung ungleich Eins.

6.3.2.2 Einfluß des Aktivators

Eines der wichtigsten Ergebnisse dieser Untersuchungen war sicherlich die Tatsache, daß mit NOBS-aktivierten Bleichsystemen eine signifikant bessere mikrobizide Wirkung im Niedrigtemperaturbereich erzielt werden konnte als mit den in Europa gängigen TAED-aktivierten Bleichsystemen und daß dieser Effekt mit deutlich geringeren NOBS-Konzentrationen möglich war. Diese Beobachtung überrascht insofern, als bei gleicher Dosierung beider Aktivatoren aus NOBS theoretisch nur 1/3 des Aktivsauerstoffs in Form der organischen Persäure im Vergleich zu TAED zur Verfügung stehen. Die Wirksamkeitsunterschiede können auf mehrere Ursachen zurückgeführt werden. Wie aus der Literatur zur Bleichwirkung aktivierter Bleichsysteme zu entnehmen ist, soll NOBS aufgrund seiner besseren Löslichkeit bei niedrigen Temperaturen Wirksamkeitsvorteile bieten. In den eigenen Untersuchungen konnte die unterschiedliche Löslichkeit ebenfalls beobachtet werden. In den Versuchen mit TAED war am Ende der Versuchsdauer teilweise noch ungelöstes TAED in der Bleichlösung vorhanden, während sich das NOBS innerhalb kurzer Zeit vollständig

auflöste. Da hier auf Lösehilfsmittel verzichtet wurde, um deren Beeinflussung auf die Mikroorganismen auszuschließen, wurden diese Unterschiede in Kauf genommen. Es ist keinesfalls auszuschließen, daß ein Teil der Unterschiede in der Wirkung auf diesen Effekt zurückzuführen ist. Die Unterschiede in der Löslichkeit treten unter Praxisbedingungen offenbar zurück, da hier die Löslichkeit des TAED durch mechanische und chemische Einflüsse (Zusatz von Lösehilfsmitteln) verbessert wird, weshalb unter Praxisbedingungen oberhalb von 40°C die Bleichwirkung von NOBS sich nicht signifikant von TAED unterscheidet [KUZEL und LIESER, 1990; WHALLEY, 1998]. Die beiden Aktivatoren unterscheiden sich auch in der Geschwindigkeit ihrer Perhydrolyse-reaktion, d.h. in der zeitabhängigen Freisetzung der Persäure. Während bei der Perhydrolyse von TAED bei 40°C das Maximum an Peressigsäure nach 5 Minuten gebildet wird, erreicht die Perhydrolyse von NOBS schon nach 1 Minute ein Maximum. Bei Temperaturen unterhalb von 40°C werden die Unterschiede in der Perhydrolyse-reaktion noch größer [GRIME et al., 1992; HAUTHAL et al., 1990]. Dies erklärt die sofort einsetzende Wirkung des NOBS-aktivierten Bleichsystems bei 30°C, während im TAED-System meist eine lag-Phase in der Abtötungskurve auftrat. Eine weitere Ursache für die bessere Wirksamkeit von NOBS ist darin zu sehen, daß die aus NOBS gebildete Pernonansäure eine bessere mikrobizide Wirksamkeit aufweist als die Peressigsäure. Ähnliche Aussagen sind bei BALRDY und FRASER [1988] zu finden. Alle drei genannten Faktoren führen zusammen offensichtlich zu den Wirkungsvorteilen des NOBS-aktivierten Systems. Auffallend war beim NOBS-aktivierten System ebenfalls, daß dieses auch eine sehr gute Wirkung gegenüber *M. terrae*, *C. albicans* und *A. niger* zeigte. Aufgrund des tensidartigen Charakters der Pernonansäure scheint diese besser durch die hydrophobe Zellwand der Mycobakterien diffundieren zu können. Bei der Wirkung auf Bakteriophagen zeigten beide Systeme (TAED und NOBS) eine ähnliche Wirkung.

Nach STEINHAEUER [1997] und STARK [1998] sind Percarbonat-aktivierte TAED-Systeme den Perborat-aktivierten in der Wirkung überlegen, was die eigenen Untersuchungen bestätigen konnten (vgl. Abb. 5-6 und Abb. 5-7, S. 63/65). Ähnliche Befunde liegen von SKAGERLIND et al. [1998] bezüglich der bleichenden Wirkung vor. Dies deutet auf eine bessere Verfügbarkeit von Wasserstoffperoxid aus Percarbonat hin.

6.3.2.3 Einfluß des pH-Wertes

Ein weiterer Befund dieser Arbeit war, daß der pH-Wert die Wirkung aktivierter Bleichsysteme maßgeblich beeinflusste. Nach Angaben von PORSCH et al. [1990] und REINHARDT [1994a] liegt das Optimum für die Bleichwirkung TAED-aktivierter Bleichen im pH-Bereich zwischen pH 8 und pH 9, während die eigenen Untersuchungen zeigten, daß die **mikrobizide** Wirkung des TAED-Bleichsystems bei neutralem pH-Wert signifikant besser war als unter alkalischen Bedingungen. Dieser Befund deckt sich mit anderen Angaben aus der Literatur, nach denen organische Persäuren bei niedrigen pH-Werten besser mikrobizid wirken als unter alkalischen Bedingungen. Dies deutet an, daß die Mechanismen der Bleichwirkung andere sind als die bei der mikrobiziden Wirkung. Beide Mechanismen sind bislang nicht vollständig geklärt. Bei der Bleichwirkung von Persäuren wird die Bildung von Singulett-Sauerstoff als bleichaktives Species diskutiert, während bei der mikrobiziden Wirkung offensichtlich Radikale an der Wirkung beteiligt sind. Die bessere mikrobizide Wirkung der Persäuren bei niedrigen pH-Werten wird auf den höheren Anteil der undissoziierten Persäure zurückgeführt (vgl. Kap. 6.3.1.2). Obwohl nach HAUTHAL et al. [1990] bei höheren pH-Werten mehr Peressigsäure gebildet wird, scheint die Konzentration im Vergleich zum Ladungszustand der Peressigsäure eine untergeordnete Rolle zu spielen.

Mit NOBS als Aktivator war der pH-Einfluß uneinheitlich. Bei der Wirkung von NOBS auf *Entc. faecium* und *St. aureus* war aufgrund der schnellen Wirksamkeit kein pH-Einfluß festzustellen. Die Wirkung von NOBS auf *M. terrae* war bei pH 7 und pH 10 nahezu identisch. Auffallend war bei *M. terrae* der Verlauf der Abtötungskurven (Abb. 5.-21, S. 79). Innerhalb der ersten 5 Minuten war eine hohe Abtötungsrate festzustellen, die im weiteren Verlauf nahezu gegen Null ging. Ein bekanntes Phänomen bei Mycobakterien ist, daß sie sog. „Zellklumpen“ (engl. „clumps“) bilden indem mehrere Zellen aggregieren. Dies erschwert den Zutritt von bioziden Wirkstoffen zu den geschützten Zellen, die sich im Inneren des „Klumpens“ befinden, was die Abflachung der Inaktivierungskurve erklären könnte.

Die fungizide Wirkung von NOBS-Systemen zeigte eine deutliche pH-Abhängigkeit. Die Wirkung gegenüber *C. albicans* (Abb. 5-29, S. 86) war bei alkalischen pH-Werten stärker, während die Wirkung gegenüber *A. niger* (Abb. 5-34, S. 90) bei der niedrigen Aktivatorkonzentration in der neutralen Bleichlösung, bei der höheren Aktivatorkonzentration hingegen bei pH 11 am besten war. Ähnliche Ergebnisse zeigte die Wirkung von NOBS auf Bakteriophagen: der Phage PhiX174 (Abb. 5-36, S. 92) wurde in neutralen Medien stärker inaktiviert, der Phage MS2 (Abb. 5-39, S. 94) hingegen in den alkalischen. Nachdem die Dosierungen in den Untersuchungen mit dem Phagen MS2 deutlich höher waren, wird die pH-abhängige Wirkung offenbar auch von der Konzentration beeinflusst. Bei hohen NOBS-Konzentrationen und niedrigeren pH-Werten werden nach GRIME et al. [1992] in der Lösung vermehrt DAP und weniger Pernonansäure gebildet (vgl. Kap. 6.3.2.4).

Neben dem pH-Einfluß konnte auch ein Einfluß der Puffersubstanz auf die mikrobizide Wirkung nachgewiesen werden. In organischen Puffersystemen wurde die Wirkung der aktivierten Bleichsysteme beeinträchtigt, wobei der Effekt bei niedrigen Dosierungen größer als bei höheren Dosierungen war. Diese Beobachtung trat schon bei der Wirkung nicht-aktivierter Bleichmittel (vgl. 6.3.1.2) auf und begründet sich durch mögliche Interaktionen der organischen Persäuren mit der organischen Puffersubstanz. Andererseits könnte die bessere Wirksamkeit des anorganischen Carbonat-Puffers darauf zurückzuführen sein, daß oberhalb von pH 8 in Gegenwart von Natriumcarbonat OH⁻ Radikale gebildet werden [POULAKIS, 1995].

6.3.2.4 Einfluß der Temperatur, der Konzentration und des Konzentrationsverhältnisses

Die mikrobizide Wirkung von aktivierten Bleichsystemen konnte sowohl durch Temperaturerhöhung als auch durch Konzentrationserhöhung gesteigert werden, da damit die Geschwindigkeit chemischer Reaktionen beschleunigt wird. Von entscheidender Bedeutung für die Wirkung war die Konzentration des Aktivators und damit das Konzentrationsverhältnis beider Komponenten. Die Wirkung der TAED-aktivierten Bleichsysteme konnte durch die Erhöhung der TAED-Konzentration signifikant gesteigert werden und war bei einem Dosierungsverhältnis von Perborat:TAED = 1:1 (entspricht nahezu stöchiometrischen Konzentrationen) am besten. Damit bestätigten sich die Angaben anderer Autoren, die für eine optimale Bleichleistung mit TAED nahezu dasselbe Konzentrationsverhältnis angeben [SMIDRKAL und SIMUNEK, 1985; PORSCHE et al., 1990]. In den Untersuchungen mit dem Aktivator NOBS führte ein Dosierungsverhältnis von Bleichmittel:Aktivator 1:1 zu schlechteren Ergebnissen im Vergleich zum Dosierungsverhältnis von 5:1 (vgl. Abb. 5-39, S. 94). Dieses Phänomen konnte auch bei der Bleichwirkung beobachtet werden und wird auf die Bildung von DAP (vgl. Kap. 2.3.2.2.3) bei einem Aktivatorüberschuß zurückgeführt. Deshalb werden für eine optimale Bleichwirkung mit NOBS Dosierungen von Bleichmittel:Aktivator 1:1 (molar 3:1) und höher angestrebt [GRIME et al., 1992]. Ähnliches ist auch bezüglich der mikrobiziden Wirkung zu erwarten, da DAP offensichtlich keine Wirkung aufweisen.

Die Erhöhung der Temperatur führte bei den TAED-aktivierten Systemen zu einer Verkürzung der lag-Phase. Dies deckt sich mit dem Verlauf der Peressigsäurebildung im TAED-aktivierten System, nach dem unterhalb von 20°C die Peressigsäurebildung stark verzögert ist und erst nach mehr als 90 min ein Maximum erreicht, bei 30°C wird das Maximum der Peressigsäurefreisetzung nach 20 Minuten, bei 40°C nach 5 Minuten und bei Temperaturen über 50°C nach nur 3 Minuten erreicht [HAUTHAL et al., 1990]. Bei Temperaturen über 50°C führten niedrige Dosierungen zu sehr guten Abtötungswirkungen, was auf eine Überlagerung von thermischen und chemischen Effekten zurückgeführt werden kann.

6.3.2.5 Einfluß der Schmutzbelastung und des Katalysatorzusatzes

Die Versuche zur Wirkung der Bleichsysteme unter **Schmutzbelastung** durch Zusatz von 0,3% Rinderalbumin führten zu deutlichen Wirkungsverlusten (Abb. 5-8 und 5-9, S. 66/67). Die Tatsache, daß organische Schmutzbelastungen die Wirkung eines mikrobiziden Stoffes erheblich beeinträchtigen können, ist hinreichend bekannt und wird als sog. Eiweißfehler bezeichnet. In Anwesenheit oxidierbarer Substanzen (z.B. Proteine) können die Aktivsauerstoffverbindungen sowohl mit den Mikroorganismen als auch mit den Proteinen in einer Konkurrenzreaktion reagieren, was zu einer Wirkstoffzehrung führt. Diese war insbesondere bei pH 7 bzw. im NOBS-aktivierten System auffallend hoch. Nachdem die funktionellen Gruppen in Proteinen bei hohen pH-Werten in der deprotonierten Form vorliegen, ist möglicherweise ein Angriff des Persäureanions unter alkalischen Bedingungen schlechter möglich. Dies könnte dazu führen, daß ein geringerer Wirkungsverlust in der mikrobiziden Wirkung bei hohen pH-Werten auftritt. Daß dieser pH-Effekt verstärkt bei NOBS zu beobachten war, könnte diese Theorie unterstützen, da das Pernonansäureanion aufgrund seiner Molekülgröße bzw. seines hydrophoben Charakters noch weniger Zugang zu den oxidierbaren Stellen im Protein unter alkalischen Bedingungen findet. Zudem wird bei höheren pH-Werten mehr Pernonansäure gebildet, die sich ebenfalls positiv auf die geringeren Wirkstoffverluste unter alkalischen Bedingungen auswirken könnte. Auffallend war unter diesen Bedingungen der Verlauf der Abtötungskurven im NOBS-aktivierten Bleichsystem unter Eiweißbelastung. Innerhalb der ersten 10 Minuten fand eine signifikante Abtötung statt, die bei längerer Reaktionszeit nicht weiter zunahm. Offenbar war nach 10minütiger Reaktionszeit ein totaler Wirkstoffverlust aufgetreten. Der Wirkstoffverlust konnte durch Konzentrationserhöhung teilweise kompensiert werden.

Zusätzliche Versuchsreihen mit Zusatz von 0,5% Blut führten zu einem totalen Wirkungsverlust, der auf die im Blut enthaltenen Proteine, Enzyme und zweiwertigen Eisenionen zurückgeht. Die Eisenionen fördern die katalytische Zersetzung der Peroxoverbindungen.

Der Einsatz eines **Bleichmittelkatalysators** führte zu keiner Verstärkung der mikrobiziden Wirkung eines aktivierten Bleichsystems, was Untersuchungsergebnisse der Fa. WARWICK [2001b] ebenfalls zeigen konnten. Offensichtlich wirken die gebildeten Metallperoxoverbindungen nicht mikrobizid, da sie möglicherweise nicht in die Zellen eindringen können.

6.3.2.6 Mikrobizide Wirkung von Bleichsystemen unter Praxisbedingungen

Im Praxistest erwies sich die alleinige Dosierung von 0,2% Perborat und 0,04% TAED als ausreichend, um ausgewählte grampositive und gramnegative Keime während des Waschvorgangs bei 30°C und 40°C zu eliminieren. Dabei waren die Keimträger mit ca. 10^7 Mikroorganismen/cm² inokuliert, was einer sehr hohen Keimbelastung der Wäsche entspricht. Aufgrund der hohen gewählten Mechanik (Normalprogramm, Flottenverhältnis ca. 1:2,5)

wurden die Mikroorganismen z.T. durch mechanische Einflüsse von den Keimträgern entfernt. Die Tatsache, daß in der Waschflotte keine Mikroorganismen mehr nachzuweisen waren, spricht dafür, daß die von der Wäsche mechanisch abgelösten Mikroorganismen in der Waschflotte durch die vorhandenen Bleichmittel inaktiviert wurden.

Für die Eliminierung von Hefen auf den Keimträgern waren die gewählten Versuchsbedingungen nicht ausreichend, da nahezu auf allen Keimträgern nach dem Waschprozeß noch Hefen nachweisbar waren. Im Gegensatz dazu konnten in der Waschflotte keine Hefen mehr nachgewiesen werden. Diese Beobachtung führt zu der Annahme, daß die Hefen stärker an den Textilfasern haften und deshalb der mechanischen Ablösung besser widerstehen können. Offenbar werden die Hefen in der Waschflotte durch die Bleichmittel eher angegriffen als wenn sie durch das Textil geschützt sind. Untersuchungen zum Adsorptionsverhalten unterschiedlicher Bleichmittel bzw. Bleichmittelaktivatoren an Textilfasern von NICKEL et al. [1991] konnten zeigen, daß der Bleichmittelaktivator TAED nicht an Baumwollfasern adsorbiert und damit die Peressigsäure überwiegend in der Waschflotte gebildet wird. Nach der Aussage von NICKEL et al. [1991] findet eine Bleichreaktion sowohl in der Waschflotte als auch auf der Faser statt, dadurch daß die gebildeten bleichaktiven Species vom Entstehungsort in der Waschflotte zur Faser gelangen. Dies scheint auf die mikrobizide Wirkung übertragbar zu sein.

Ähnliche Ergebnisse zum Einfluß eines haushaltsüblichen Waschprozesses auf mykotisch kontaminierte Textilien liegen von OSSOWSKI et al. [1997 u. 1999] vor, die in ihren Untersuchungen ebenfalls nachweisen konnten, daß bei 30°C und 40°C eine vollständige Dekontamination von mit *C. albicans* kontaminierten Textilien durch einen haushaltsüblichen Waschprozeß mit Vollwaschmitteln nicht gewährleistet werden kann.

In den Versuchsreihen von SONNTAG et al. [1984] zur Bestimmung der keimzahlreduzierenden Wirkung unterschiedlicher Waschmittel in einem haushaltsüblichen Waschprozeß konnte gezeigt werden, daß der keimzahlreduzierende Effekt im Niedrigtemperaturbereich (30°C und 40°C) wesentlich vom Waschmittel beeinflußt wurde. Leider geht aus der Arbeit die Zusammensetzung der einzelnen Waschmittel nicht hervor, jedoch enthielt mindestens eines der Waschmittel den Bleichmittelaktivator TAED („Omo mit TAED“). Unter Verwendung dieses Waschmittels konnten in der Waschmaschine bei 30°C und 40°C sowohl gramnegative und grampositive Bakterien als auch Hefen von den Keimträgern eliminiert werden. Ein weiteres Ergebnis dieser Untersuchungen war, daß die Eliminierung der Keime im Buntwaschprogramm (40°C) höher war als im Feinwaschprogramm (30°C), was wohl eher auf die unterschiedliche Mechanik als auf den Temperaturunterschied zurückzuführen sein dürfte.

Intensive Studien zur Wirkung von aktivierten Bleichmittelsystemen unter Praxisbedingungen finden sich bei CROUD und GEORGE [1997], REINHARDT [1993], WARWICK [2001a-c], FÖLLNER et al. [2000]. Alle Autoren konnten eine effektive bakterizide Wirkung der aktivierten Bleichsysteme schon unter geringen Einsatzkonzentrationen (bis zu 1/20 der hier verwendeten Konzentrationen) nachweisen. Dieser positive Effekt bei niedrigeren Dosierungen ist möglicherweise auf die synergistische Wirkung von zusätzlichen Waschmittelbestandteilen zurückzuführen [CROUD und GEORGE, 1997]

6.4 Praktische Bedeutung der mikrobiziden Wirkung von Bleichmitteln bei der Textilwäsche

Die Diskussion um die Hygiene bei der Textilwäsche im privaten Haushalt bei niedrigen Temperaturen gerät immer wieder in den Mittelpunkt des öffentlichen Interesses und wird häufig medienwirksam aufbereitet [SAT1, 1999; BR3, 1999]. Die Frage, ob eine ausreichende

Hygienisierung bei niedrigen Temperaturen mit Hilfe von Bleichsystemen zu erreichen ist, konnte in diesen Untersuchungen zum Teil geklärt werden. Die vorliegende Untersuchung konnte zeigen, daß in Waschmitteln eingesetzte gängige Bleichmittelsysteme unter Laborbedingungen und unter Praxisbedingungen im Niedrigtemperaturbereich eine bakterizide, fungizide und viruzide Wirkung aufweisen und damit zur Hygienisierung der Wäsche beitragen können. Diese Wirkung wird von mehreren Faktoren beeinflusst. Für die Beurteilung, ob die mikrobizide Aktivität ausreichend ist, müssen generell erst die zu erfüllenden Anforderungen festgelegt werden. Gemäß DIN EN 1276 müssen chemische Desinfektionsmittel für den Einsatz in Haushalten eine bakterizide Wirkung von mindestens log 5 Reduktionsstufen innerhalb von 5 Minuten bei 20°C aufweisen. Diese Anforderungen können durch gängige Bleichsysteme unter bestimmten Bedingungen erfüllt werden, jedoch erscheinen sie für die Textilhygiene etwas hoch. Die zu erwartenden Keimzahlen auf gebrauchten Textilien variieren zwischen 10^2 und 10^9 Keimen pro Gramm Textilgut, so daß unter ungünstigen Bedingungen in einer durchschnittlichen Trommelfüllung 10^{12} Keime zu erwarten sind, unter denen Bakterien, Pilze und Viren sein können. Diese müssen innerhalb der aktiven Waschzeit von durchschnittlich 40 Minuten eliminiert werden. Unter Berücksichtigung eines Sicherheitsfaktors von 100 müssen also innerhalb von 20 Minuten 10^7 Keime abgetötet werden. Diese Anforderungen können unter Berücksichtigung der praxisorientierten Anwendungsbedingungen (alkalische Waschlauge, übliche Dosierung) bei 30°C und 40°C nur durch den Einsatz eines NOBS-aktivierten Systems erfüllt werden. Trotzdem konnte gezeigt werden, daß auch mit dem in Europa weit verbreiteten TAED-System unter bestimmten Voraussetzungen eine ausreichende Wirkung erzielt werden kann. Eine Möglichkeit die biozide Wirkung von TAED-aktivierten Bleichsystemen zu steigern besteht darin, die Konzentration der Bleichmittel durch die Anwendung von zusätzlichen Fleckensalzen zu erhöhen, um damit eine Wirkungssteigerung bei Vollwaschmitteln zu erzielen. Ebenso könnte die aktive Waschzeit verlängert werden. Prinzipiell wäre auch ein separates Vorweichen der Wäsche unter Zusatz von Fleckensalzen denkbar. Da der pH-Wert die mikrobizide Wirkung maßgeblich beeinflusst, könnte der Zusatz von Säuren (z.B. Zitronensäure) zu Fleckensalzen bei der Vorweiche positive Auswirkungen bezüglich der Hygienewirkung zeigen. Andererseits könnte dies die Bleichwirkung beeinträchtigen, weshalb eine optimale Hygienewirkung mit einer optimalen Bleichwirkung nur schwer in einer Waschmittelformulierung zu vereinbaren sind. Dies müßte in weiteren Untersuchungen geprüft werden und von den Fleckensalzherstellern berücksichtigt werden. Zusätzlich wäre zu klären, ob der Einsatz von neutralen Flüssigwaschmitteln in Kombination mit Fleckensalzen ebenfalls einen besseren Effekt erzielen könnte. Nach WARWICK [2001d] können TAED-aktivierte Bleichsysteme auch bei empfindlichen Fasern wie Wolle, Viskose und Polyamidfasern eingesetzt werden, ohne die Faser zu schädigen.

Bislang besteht für den Verbraucher jedoch keine 100%ige Sicherheit für eine ausreichende Hygienisierung der Wäsche unter haushaltsüblichen Bedingungen im Niedrigtemperaturbereich. Dies spielt insbesondere dann eine signifikante Rolle, wenn z.B. immungeschwächte oder kranke Personen im Haushalt leben. Wegen der hohen Toleranz von Hefen spielt die Wäschehygiene bei Hautmykose-Erkrankten aufgrund der Reinfektionsgefahr ebenfalls eine wichtige Rolle. In diesen Fällen sollte auf höhere Waschtemperaturen oder auf den Zusatz von Hygienespülnern zurückgegriffen werden.

Trotz zahlreicher Forschungsaktivitäten auf dem Gebiet der Bleichmittel wird nach REINHARDT [1994a] in absehbarer Zeit das Aktivatorsystem Perborat und TAED weiterhin einen großen Stellenwert bei Waschmitteln einnehmen, weshalb sein Beitrag zur Waschprozeßhygiene bislang von Bedeutung bleibt. Die zunehmende Anzahl an Patenten im Zusammenhang mit der mikrobiziden Wirkung von TAED zeigt ebenfalls, daß die mikrobizide Wirkung von TAED-Systemen nicht zu unterschätzen ist (z.B. CROUD und TOMPSETT, 1994a-b und 1997). Es

wäre aber trotzdem zu prüfen, ob eine Substitution von TAED durch NOBS und eine Substitution von Perborat durch Percarbonat unter Berücksichtigung technologischer, ökologischer und ökonomischer Aspekte in Waschmitteln in Betracht kommt. Aussichtsreich erscheint auch der Einsatz der organischen Persäure Phthalimido-peroxo-capronsäure.

7 Literaturverzeichnis

- ARNOLD, L. (1938): A sanitary study of commercial laundry practices. *Am J Pub Health* 28: 839-844
- BALDRY, M.C.G. (1983): The bactericidal, fungicidal and sporicidal properties of hydrogen peroxide and peracetic acid. *J Appl Bacteriol* 57: 417-423
- BALDRY, M.C.G.; FRASER, J.A.L. (1988): Disinfection with peroxygens. In: PAYNE, K.R. (Ed.): *Industrial Biocides*. New York: Wiley, 1988, S. 91-116
- BAUMGART, J.: *Mikrobiologische Untersuchung von Lebensmitteln*. Hamburg: Behr's, 1999
- BAUMGARTNER, J.G.; KNOCK, G.G. (1940): The stability of bacteria in relation to pH. *J Soc Chem Ind* 59: 53-56
- BELLINGER, H. (1978): Hygienisch-bakteriologische Untersuchungen in Wäschereien. *Gesundheitswesen und Desinfektion* 6: Sonderdruck
- BERTSCH-FRANK, B. (1998): Peroxoborates. In: *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*, Sixth Edition, 1998
- BEUMER, R.R.; GIFFEL, M.; SPOORENBERG, E.; ROMBOUTS, F.M. (1996): *Listeria* species in domestic environments. *Epidemiology and Infection* 117: 437-442
- BIANCHI, U.; TROGLIA, C.; CAVALLOTTI, C. (1998): Granular compositions of ϵ -phthalimido peroxyhexanoic acid. EP 0852259, 8. Juli 1998
- BLACKBURN, C.W.; CURTIS, L.M.; HUMPHESON, L.; BILLON, C.; McCLURE, P.J. (1997): Development of thermal inactivation models for *Salmonella enteritidis* and *Escherichia coli* O157:H7 with temperature, pH and NaCl as controlling factors. *Intern J Food Microbiol* 38: 31-44
- BLASER, M.; SMITH, P.; CODY, H.; WANG, W.; LAFORCE, M. (1984): Killing of fabric associated bacteria in hospital laundry by low temperature washing. *J Infect Dis* 149: 48-56
- BLOCK, S.S. (2001): Peroxygen Compounds. In: BLOCK, S.S. (Ed.): *Disinfection, Sterilization and Preservation*. Philadelphia: Lea & Febiger, 2001, S.185-204
- BLOOMFIELD, S.F.; USO, E.E. (1985): The antibacterial properties of sodium hypochlorite and sodium dichloroisocyanurate as hospital disinfectants. *J Hosp Infect* 6: 20-30
- BÖHME, K. (1991): *Bildung von Singulett-sauerstoff bei der Reaktion mit Wasserstoffperoxid und mit Persäuren*. Frankfurt (Main), Univ., Diss., 1991
- BÖSENBERG, H. (1979): Hygiene und Textilwäsche. *Tenside Detergents* 16: 203-205
- BOTZENHART, K.; JAAX, R. (1985): Bestimmung der Abtötungskinetik von *Bacillus*-Sporen durch Peressigsäure. *Zbl Bakt Hyg I B181*: 139-150
- BR3 [Bayerischer Rundfunk] (1999): Weder sauber noch rein - Gefahr in der Waschmaschine. Sendemanuskript zum Zeitspiegelmagazin vom 21.07.1999 von Andreas Kegel
- BUFORD, L.; PICKETT, M.; HARTMAN, P. (1977): Sanitation in self-service automatic washers. *Appl Environ Microbiol* 33: 74-78

- BURZIO, F. (1991): Composizioni amirbidenti contenenti perossido di idrogen con effeto sanitizzante e sbiacante. *Riv Ital Sostanze Grasse* 68: 125-129
- CERNY, G. (1976): Entkeimung von Packstoffen beim aseptischen Abpacken. 1. Mitteilung: Untersuchungen zur keimabtötenden Wirkung konzentrierter Wasserstoffperoxidlösungen. *Verpackungs-Rundschau* 4: 27-32
- CERNY, G. (1980a): Abhängigkeit der thermischen Abtötung von Mikroorganismen vom pH-Wert. I. Hefen und Schimmelpilze. *Z Lebensm Unters Forsch* 170: 173-179
- CERNY, G. (1980b): Abhängigkeit der thermischen Abtötung von Mikroorganismen vom pH-Wert. II. Bakterien und Bakteriensporen. *Z Lebensm Unters Forsch* 170: 180-186
- CFDC [Centers for Disease Control and Prevention, USA] (1977): Outbreak of viral hepatitis in the staff of pediatric ward – California. *MMWR* 26: 77-78
- CHRISTIAN, R.; MANCHESTER, J.; MELLOR, M. (1983): Bacteriological quality of fabrics washed at lower-than-standard temperatures in a hospital laundry facility. *Appl Environ Microbiol* 46: 591-597
- CLAPP, P.A.; DAVIES, M.J.; FRENCH, M.S. (1994): The bactericidal action of peroxides on E.P.R. spin-trapping study. *Free Rad Res* 21: 147-167
- COONS, D.; DANKOWSKI, M.; DIEHL, M.; JAKOBI, G.; KUZEL, P.; SUNG, E.; TRABITZSCH, U. (1987): Detergents. In: FALBE, J. (Hrsg.): Surfactants in Consumer Products. Heidelberg: Springer Verlag, 1987, S. 272ff
- COTTER, J.L.; FADER, R.C.; LILLEY, C.; HERNDON, D.N. (1985): Chemical parameters, antimicrobial activities, and tissue toxicity of 0.1 and 0.5% - sodium hypochlorite solutions. *Antimicrob Agents Chemother* 28: 118 - 122
- CROUD, V.; GEORGE, I.M. (1997): The biocidal efficacy of TAED in fabric washing formulas. *Household Pers Prod Ind* 34: 82-92
- CROUD, V.; TOMPSETT, S.J. (1994a): Oxidising agents. WO 94/18298. 18. August 1994
- CROUD, V.; TOMPSETT, S.J. (1994b): Oxidising agents. WO 94/18299. 18. August 1994
- CROUD, V.; TOMPSETT, S.J. (1997): Process for bleaching or disinfecting a substrate. WO 97/25402. 17. Juli 1997
- CURRAN, H.R.; EVANS, F.R.; LEVITON, A. (1940): The sporicidal action of hydrogen peroxide and the use of crystalline catalase to dissipate residues of peroxide. *J Bacteriol* 40: 423-434
- DANKOWSKI, M.; KUZEL, P.; LIESER, Th. (1986): Peroxycarbonsäuren – Neue Bleichwirkstoffe für die Textilniedrigtemperaturwäsche. *Fette Seifen Anstrichmittel* 88: 159-164
- DANNACHER, J.; SCHLENKER, W. (1990): Was ist Aktiv-Sauerstoff? *Textilveredelung* 25: 205-207
- DANNACHER, J.; SCHLENKER, W. (1996): The mechanism of hydrogen peroxide bleaching. *Textile chemist and colorist* 28: 24-28
- DAVIS, S.; AINSWORTH, P. (1989): The disinfectant action of low-temperature laundering. *Journal of Consumer Studies and Home Economics* 13: 61-66

- DEATH, J.E.; COATES, D. (1979): Effect of pH on sporicidal and microbicidal activity of buffered mixtures of alcohol and sodium hypochlorite. *J Clin Pathol* 32: 148 - 153
- DGHM [Deutsche Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie] (1991): Prüfung und Bewertung chemischer Desinfektionsverfahren. Wiesbaden: mhp-Verlag, 1991
- DGHM [Deutsche Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie] (1998): Chemothermische Wäschedesinfektion. *Hyg Med* 23: 127-129
- DORFER, A.; WALZER, E. (1998): Wasserstoffperoxid unter dem Aspekt Waschen und Reinigen. *SÖFW-Journal* 124: 120-126
- DYCHDALA, G.R. (2001): Chlorine and chlorine compounds. In: BLOCK, S.S. (Ed.): Disinfection, Sterilization and Preservation. Philadelphia: Lea & Febiger, 2001, S.135-155
- EGGENSPERGER, H. (1979): Desinfektionsmittel auf der Basis persäurespaltender Verbindungen. *Zbl Bakt Hyg B* 168: 517-524
- ENGEL, K. (1988): Rohstoffe für neue Bleichsysteme. *Tenside Surf Det* 25: 21-25
- ENRIQUEZ, C.E.; ENRIQUEZ-GORDILLO, R.; KENNEDY, D.I.; GERBA, C.P. (1997): Bacteriological survey of used cellulose sponges and cotton dishcloths from domestic kitchens. *Dairy Food and Environmental Sanitation* 17: 20-24
- EVANS, D.F.; UPTON, M.W. (1985a): Studies on singlet oxygen in aqueous solution: 1. Formation of singlet oxygen from hydrogen peroxide with 2-electron oxidants. *Chem Soc Dalton Trans*: 1141-1145
- EVANS, D.F.; UPTON, M.W. (1985b): Studies on singlet oxygen in aqueous solution: 3. The decomposition of peroxy acids. *Chem Soc Dalton Trans*: 1151-1153
- FERNADEZ, P.S.; OCIO, M.J.; RODRIGO, F.; RODRIGO, M.; MARTINEZ, A. (1996): Mathematical model for the combined effect of temperature and pH in the thermal resistance of *Bacillus stearothermophilus* und *Clostridium sporogenes* spores. *Int J Food Microbiol* 32: 225-233
- FLEMMING, H.C. (1984): Die Peressigsäure als Desinfektionsmittel – ein Überblick. *Zbl Bakt Hyg I B* 179: 97-111
- FÖLLNER, B.; KRÜßMANN, H.; BOHNEN, J. (2000): Verbesserung von Bleiche und Desinfektion durch Einsatz voraktivierter Wasserstoffperoxid/Aktivatorsysteme. AIF-Forschungsbericht Nr. 11287 N des wfk-Forschungsinstituts für Reinigungstechnologie e.V., Krefeld
- FOX, L. (1997): Recovery of mastitis pathogens from udder cloths following several laundering methods. *Dairy Food and Environmental Sanitation* 17: 210-215
- FRIES, W. (1972): Die 60°C-Wäsche. *Seifen Öle Fette Wachse* 22: 3-11
- GIBSON, L.L.; ROSE, J.B.; HAAS, C.N. (1999): Use of quantitative risk assessment for evaluation of the benefits of laundry sanitation. *Am J Infec control* 27: 34-39
- GRIFFITHS, P.A.; BABB, J.R.; FRAISE, A.P. (1999): Mycobactericidal activity of selected disinfectants using a quantitative suspension test. *J Hosp Infect* 41: 111-121

- GRIME, K.; CLAUSS, A. (1990): Laundry bleaches and activators. *Chemistry & Industry*: 647-652
- GRIME, K.; CLAUSS, A.; LESLIE, K.A. (1992) : Optimization of laundry bleaching efficiency. *Tenside Surf Det* 29: 23-27
- GRÜN, L. (1979): Hygienische Aspekte des Waschens und Reinigens. *Tenside Detergents* 16: 171-174
- HAASE, L.W. (1950): Bakterizide Wirkungen von Wasserstoffsperoxyd, Peroxiden und sauerstoffabspaltenden Verbindungen. *Pharmazie* 5: 436-437
- HAGE, R. et al. (1994): Efficient manganese catalysts for low-temperature bleaching. *Nature* 369: 637-639
- HAHN, H.; FALKE, D.; KLEIN, P. (1994): Medizinische Mikrobiologie. Berlin: Springer, 1994
- HANSEN, N.-H.; RIEMANN, H. (1963): Factors affecting the heat resistance of nonsporing organisms. *J Appl Bacteriol* 26: 314-333
- HAUTHAL, H.G.; SCHMIDT, H.; SCHOLZ, H.J.; HOFMANN, J.; PRITZKOW, W. (1990): Studies concerning the mechanism of bleaching activation. *Tenside Surf Det* 27: 187-193
- HAUTHAL, H.G. (2000): 1. Internationale Fresenius Fachtagung Wasch- und Reinigungsmittel. *SÖFW-Journal* 126 (5): 22-28
- HEINZEL, M. (2000): Veränderungen der Hygienefaktoren in deutschen Haushalten. *SÖFW-Journal* 126 (10): 38-45
- HELLER, G.; PAWEL, A. (1986): Peroxoborate. *Tenside Detergents* 23: 73-75
- HIGNETT, G.J. (1986): Low temperature bleaches. *Tenside Detergents* 23: 69-72
- HINGST, V.; STEEN, B.; SONNTAG, H.-G. (1984): Vergleichende Untersuchungen zur Keimreduktion durch Haushaltswaschmittel bei niedrigen Temperaturen. *Hyg Med* 9: 323-326
- HINGST, V.; GENG, K.; SONNTAG, H.-G. (1990): Untersuchungen zur Wirksamkeit gelisteter Instrumentendesinfektionsmittel gegen *M. tuberculosis* ATCC 25618 und *M. terrae* ATCC 15755. *Hyg Med* 15: 173-176
- HLOCH, H.-G.; KRÜßMANN, H.; PUCHTA, R.; STÜBLER, E. (1989): Reinigung und Pflege von Textilien im Haushalt. München: Verlag neuer Merkur, 1989
- HOFMANN, J.; JUST, G.; PRITZKOW, W.; SCHMIDT, H. (1992): Bleaching activators and the mechanism of bleaching activation. *J Prakt Chem* 334: 293-297
- HUGO, W.B. [Hrsg.] (1971): Inhibition and Destruction of microbial cell. London: Academic press, 1971
- IBRAHIM, M.E. (1979): Sauerstoffversorgung von Mikroorganismen durch Wasserstoffperoxid. Dissertation. Landwirtschaftliche Fakultät der Universität Göttingen, 1979
- IKW [Industrieverband Körperpflege und Waschmittel e.V.] (1998): Richtig Waschen. Informationsbroschüre des IKW. Frankfurt, 1998
- JACOBI, G.; LÖHR, A. (1987): Detergents and textile washing. Weinheim: VCH, 1987

- JANICOT, I.; BOUCHU, A.; DESCOTES, G.; WONG, E. (1996): Correlation structure activity in the bleaching properties of peracetylated carbohydrates. *Tenside Surf Det* 33: 290-296
- KEARNS, A.M.; FREEMANN, R.; LIGHTFOOD, N.F. (1995): Nosocomial Enterococci: resistance to heat and sodium hypochlorite. *Journal Hosp Infect* 30: 193-199
- KELKENBERG, H.; LÜDERS, H. (1991): Über die stabilisierende Wirkung von Komplexbildnern auf Natrium-Perborat-Lösungen. *Tenside Surf Det* 28: 434-439
- KENNEDY, D.I.; WATSON, S.; GERBA, C.P. (1999): Reduction of pathogens during laundering. *Abstracts of the general meeting of the american society for microbiology. Chicago, 1999: 597*
- KEYER, K.; STROHEIMER-GORT, A.; IMLAY, J. (1995): Superoxide and the production of oxidative DNA damage. *J Bacteriol* 177: 6782-6790
- KLAUS, S.; KRÜGER, D.; MEYER, J. (1992): Bakterienviren. Jena: Gustav Fischer Verlag, 1992
- KLEBER, R. (1994): Textilbleiche mit Tetraacetylenhendiämin und H₂O₂. *Melliand Textilberichte* 75: 746-753
- KOBERSTEIN, E.; KURZKE, H. (1987): Decay kinetics of peroxy compounds. *Tenside Surf Det* 24: 210-212
- KRÄMER, J. (1997): Lebensmittelmikrobiologie. Stuttgart: Ulmer, 1997
- KRETZSCHMAR, Ch.; AGERTH, R.; BAUCH, R.; FRIEDRICH, D. (1971): Peressigsäure – nur ein neues Desinfektionsmittel. *Mh Vet Med* 27: 324 - 332
- KUZEL, P.; LIESER, Th. (1990): Bleichsysteme. *Tenside Surf Det* 27: 23-28
- LAMBERT, R.J.W.; JOHNSTON, M.D. (2000): Disinfection kinetics: a new hypothesis and model for the tailing of log-survivor/time curves. *J Appl Microbiol* 88: 907-913
- LEGNANI, P.P.; LEONI, E. (1997): Factors affecting the bacteriological contamination of commercial washing machines. *Zbl Hyg Umweltmed* 200: 319-333
- LEVER (1995): Lever Information, Ausgabe 9, Juni 1995, Firmenschrift der Fa. Lever Fabergé Schweiz
- LOPEZ-MALO, A.; GUERRERO, S.; ALZAMORA, S.M. (1999): *Saccharomyces cerevisiae* thermal inactivation kinetics combined with ultrasound. *J Food Prot* 62: 1215-1217
- MAFART, P.; LEGUERINEL, I. (1998): Modeling combined effect of temperature and pH on heat-resistance of spores by a linear bigelow equation. *J Food Science* 63: 6-9
- MAILLARD, J.-Y.; BEGGS, T.S. ; DAY, M.J. ; HUDSON, R.A. ; RUSSEL, A.D. (1996) : Damage to *Pseudomonas aeruginosa* PA01 bacteriophage F116 DNA by biocides. *J Appl Bacteriol* 80: 540-544
- MAILLARD, J.-Y.; HANN, A.C. ; BAUBET, V. ; PERRIN, R. (1998): Efficacy and mechanisms of action of sodium hypochlorite on *Pseudomonas aeruginosa* PA01 phage F116. *J Appl Microbiol* 85: 925-932
- McDONNELL, G; RUSSEL, A.D. (1999): Antiseptics and Disinfectants: Activity, Action and Resistance. *Clin Microbiol Rev* 12: 147-179

- McNEIL, E. (1964): Dissemination of microorganisms by fabrics and leather. *Developments in industrial microbiology* 5: 30-35
- MILNE, N.J. (1998): Oxygen bleaching in domestic laundry. *J Surf Det* 1: 253-261
- MITTERMAYR, K. (2000): Untersuchungen zur Inaktivierung von Bakteriosporen durch Bleichsysteme am Beispiel von *Bacillus subtilis*. Diplomarbeit. FG Haushalts- und Betriebshygiene. Technische Universität München, 2000
- MROZEK, H. (1982): Entwicklungstendenzen bei der Desinfektion in der Lebensmittelindustrie. *Dt Molkereizeitung* 103: 348-352
- MROZEK, H. (1996): Desinfektionsmittel. In: WILDBRETT, G. (Hrsg.): Reinigung und Desinfektion in der Lebensmittelindustrie. Hamburg: Behr's, 1996
- MULAK, V.; TAILLIEZ, P.; BECEL, P. (1995): Heat resistance of bacteria isolated from preparations based on seafood products. *J Food Prot* 58: 49-53
- NICHOLAS, P.S. (1970): Bacteria in laundered Fabrics. *Am J Pub Health* 60: 2175-2180
- NICKEL, D.; BUHL, A.; SCHAMBIL, F. (1991): Bleach: in the wash Liquor or in the fiber. *Tenside Surf Det* 28: 191-194
- N.N. (2000): Antibakterielle Reinigungsmittel im Haushalt nicht erforderlich. Gemeinsame Pressemitteilung von Umweltbundesamt (UBA), Bundesinstitut für gesundheitlichen Verbraucherschutz und Veterinärmedizin (BgVV) und Robert Koch-Institut (RKI) vom 22.08.2000
- Norm DIN EN 1276: Quantitativer Suspensionsversuch zur Bestimmung der bakteriziden Wirkung chemischer Desinfektionsmittel und Antiseptika in den Bereichen Lebensmittel, Industrie, Haushalt und öffentliche Einrichtungen. August 1997
- Norm DIN EN 13610: Quantitativer Suspensionstest zur Bestimmung der viruziden Wirkung gegenüber Bakteriophagen von chemischen Desinfektionsmitteln in den Bereichen Lebensmittel und Industrie. September 1999
- Norm DIN 53931: Bestimmung der Widerstandsfähigkeit von Textilien gegen Schimmelpilze. November 1969
- OAKES, T.R.; STANLEY, P.M.; KELLER, J.D. (1993): Peroxiacid antimicrobial composition. *US Patent* 5,200,189. 6. April 1993
- OSSOWSKI, B.; DUCHMANN, U. (1997): Der Einfluß des haushaltsüblichen Waschprozesses auf mykotisch kontaminierte Textilien. *Der Hautarzt* 6: 397-401
- OSSOWSKI, B.; DUCHMANN, U.; BOSLET, W. (1999): Desinfizierende Behandlung von Textilien zur Rezidivprophylaxe bei vulvovaginalen Candidosen. *Geburtshilfe und Frauenheilkunde* 59: 175-179
- PATEL, M.P.; MARCINKEVICIENE, J.; BLANCHARD, J. (1998): *Enterococcus faecalis* glutathionereductase: purification, characterization and expression under normal hyperbaric O₂ conditions. *FEMS Microbiology Letters* 166: 155-163

- PETERS, J.; SPICHER, G. (1994): Wirksamkeitsprüfung von Desinfektionsmitteln an Oberflächen im Modellversuch. III. Mitteilung: Abhängigkeit der Versuchsergebnisse von der Art des Wirkstoffes und des Testkeimes (*Staphylococcus aureus*, *Mycobacterium terrae*). *Zbl Hyg* 195: 97-110
- PFLUG, I.J.; HOLOCOMB, R.G.; GOMEZ, M.M. (2001): Principles of the thermal destruction of microorganisms. IN: BLOCK, S.S. (Ed.): Disinfection, Sterilization and Preservation. Philadelphia: Lea & Febiger, 2001, S. 79-127
- PORSCH, M.; THOMECEK, M.; KAUFMANN, D.; BERGK, K.-H. (1990): Zum Mechanismus der Reaktion von Perborat mit dem Bleichaktivator DADHT. *SÖFW-Journal* 116: 77-84
- POTOKAR, M.; BANDUHN, N.; BECHSTEDT, W.; GODE, P.; STERZEL, W. (1996): Beitrag zur toxikologischen Bewertung der Peressigsäure als Desinfektionsmittel für die chemothermische Wäschedesinfektion. *Dermatosen* 44: 23-28
- RASCHLE, P. (1983): Einfluß der Waschtemperatur auf den Keimgehalt der Wäsche. *Textilveredelung* 18: 37-40
- RASCHLE, P. (1993): Keimzahlen im Haushalt. *Material und Technik* (3): 161-165
- RASCHLE, P. (1995): Ist eine 40°C-Haushaltswäsche hygienisch? *EMPA Textiltagung 1995*
- REINHARDT, G. (1992): Organische Persäuren und Aktivatoreneinsatz in der Waschmittelindustrie. *SÖFW-Journal* 118: 473-480
- REINHARDT, G. (1993): Fleckensalze 1993. *Tenside Surf Det* 30: 400-407
- REINHARDT, G. (1994a): Aktivsauerstoffbleiche in Wasch- und Reinigungsmitteln. *Chem Labor Biotech* 45: 238-244
- REINHARDT, G. (1994b): Imidoperoxicarbonsäuren als potentielle Bleichmittel für die Waschmittelindustrie. *SÖFW-Journal* 120: 411-416
- REINHARDT, G.; SCHULER, W.; QUACK, J.M. (1989): TAED – Manufacture, Effects and Environmental Properties. *Com Jorn Esp Deterg* 20:165-179
- REINHARDT, G.; LÖFFLER, M. (1997): Neue reaktive Bleichaktivatoren – eine Gratwanderung zwischen Bleieffizienz und Farb-/Faserschädigung. *Tenside Surf Det* 34: 404-409
- REIß, J. (1997): Schimmelpilze. Berlin: Springer, 1997
- RENNER, P.; PETERS, J. (1999): Resistance of *enterococci* to heat and chemical agents. *Zbl Hyg Umweltmed* 202: 41-50
- RKI [Robert-Koch-Institut] (1997): Richtlinie des Robert-Koch-Institutes zur Prüfung der Wirksamkeit von Desinfektionsmitteln für die chemische Instrumentendesinfektion bei Tuberkulose. *Bundesgesundheitsblatt* 37: 474-477
- RUSSEL, A.D. (2001): Principles of antimicrobial activity and resistance. In: BLOCK, S.S. (Ed.): Disinfection, Sterilization and Preservation. Philadelphia: Lea & Febiger, 2001, S.31-56
- SANTORO, N.; THIELE, D.J. (1997): Oxidative Stress Response in the Yeast. In: HOHMANN, S.; MAGER, W. (Hrsg.): Yeast Stress Responses. Springer: Berlin, 1997
- SAT 1 (1999): Die Gefahr, die aus der Wäsche kommt – Krankheitserreger in Waschmaschinen. Sendemanuskript zur Sendung Akte 99 vom Juni 1999

- SCHLEGEL, G.H. (1992): Allgemeine Mikrobiologie. Stuttgart: Thieme, 1992
- SCHÖNBORN, C.; SCHUHMANN, P. (1973): Versuche zur Waschdesinfektion pilzinfizierter Textilien. *Dt Gesundheitswesen* 30: 76-79
- SCOTT, E.; BLOOMFIELD, S.F.; BARLOW C.G. (1982) An investigation of microbial contamination in the home. *J Hygiene (London)* 92: 279-293
- SCOTT, E; BLOOMFIELD, S.F. (1990a): The survival and transfer of microbial contamination via cloths, hands and utensils. *J Appl Bacteriol* 68: 271-278
- SCOTT, E; BLOOMFIELD, S.F. (1990b): Investigation of the effectiveness of detergent washing, drying and chemical disinfection on contamination of cleaning cloths. *J Appl Bacteriol* 68: 279-283
- SHIN, S.; CALVISI, E.G.; BEAMAN, T.C.; PANKRATZ, H.S.; GERHARDT, P.; MARQUIS, R.E. (1994): Microscopic and thermal characterization of hydrogen peroxide killing and lysis of spores and protection by transition metal ions, chelators and antioxidants. *Appl Environ Microbiol* 60: 3192-3197
- SIMPSON, M.V.; SMITH, J.P.; RAMASWAMY, H.S.; SIMPSON, B.K.; GHAZALA, S. (1994) : Thermal resistance of *Streptococcus faecium* as influenced by pH and salt. *Food Res Int* 27:349-353
- SKAGERLIND, P.; LINDAHL, G.; RASSMUSSEN, B. (1998): Performance and stability of the bleaching system sodium percarbonate compared to the traditional bleach system sodium perborate. *SÖFW-Journal* 124: 680-689
- SMIDRKAL, J; SIMUNEK, J. (1985): Activators of Peroxocompounds-Synthesis and application. *Welttensidkongreß München*: 513-512
- SNYDER, O.P. (1997): The microbiology of dishcloths in the home kitchen. April 1997 <http://www.hi-tm.com/Documents/Dishcloth.html>. Stand: 26.02.2001
- SOMMER, U.; MILSTER, H. (1986): Bleichaktivatoren beim Waschen. *Tenside Surf Det* 23: 176-179
- SPRÖSSIG, M.; MÜCKE, H. (1967): Über die antimikrobielle Wirkung der Peressigsäure. III. Untersuchungen zur bakteriziden und sporoziden Wirkung. *Pharmazie* 22: 517
- SPRÖSSIG, M.; MÜCKE, H. (1968): Über die antimikrobielle Wirkung der Peressigsäure. V. Untersuchungen zur viruziden Wirkung. *Pharmazie* 23: 665
- SPRÖSSIG, M.; MÜCKE, H.; PFISTER, W.; REINEMANN, P. (1977): Keimabtötende Wirkung von wässrigen Lösungen aus Percarbonat oder Perborat unter Zusatz eines Peressigsäurebildenden Aktivators. *Pharmazie* 32: 117-118
- STACHE, H.; GROßMANN, H. (1985): Waschmittel. Aufgaben in Hygiene und Umwelt. Berlin: Springer, 1985
- STARK, M. (1998): Untersuchungen zur keimabtötenden Wirkung von Bleichmitteln auf *Saccharomyces cerevisiae*. Diplomarbeit. FG Haushalts- und Betriebshygiene. Technische Universität München, 1998
- STAT. BUNDESAMT [Hrsg.] (2000): Statistisches Jahrbuch 2000. Stuttgart: Metzler-Poeschel, 2000, S. 542

- STEINER, N. (1995): Evaluation of peracetic acid as an environmentally safe alternative for hypochlorite. *Textile chemist & colorist* 27 (8) : 29-32
- STEINHAEUER, J. (1997): Untersuchungen zur Inaktivierung von *Escherichia-coli*-Zellen durch Bleichmittel in Waschmittelrezepturen. Diplomarbeit. FG Haushalts- und Betriebshygiene. Technische Universität München, 1997
- SUNG, N.; COLLINS, M.T. (1998): Thermal tolerance of *Mycobacterium paratuberculosis*. *Appl Environ Microbiol* 64 :999-1005
- SYNTANA (2000): SYNTANA Handelsgesellschaft Mülheim a.d.R.; unveröffentlichte Ergebnisse aus einem Gutachten im Auftrag der Fa. AUSIMONT zur grundlegenden bakteriziden Wirksamkeit von Phthalimido-peroxo-hexansäure.
- TENOVER, F.C. (1996): The challenges of emerging infectious diseases: development and spread of multiply-resistant bacterial pathogens. *JAMA* 275: 300-304.
- THOMPSON, K.; GRIFFITH, W.; SPIRO, M. (1993): Mechanism of bleaching by peroxides. *J Chem Soc Faraday Trans* 89: 4035-4043
- TRUEMAN, J.R. (1971): The halogens. In: HUGO, W.B. (Hrsg.): The halogens. Academic Press: London, 1971
- VAN UDEN, N. (1984): Temperature profiles of Yeasts. *Adv Microb Physiol* 25: 195-251
- VKD [Verband der Krankenhausdirektoren Deutschlands e.V.] (1992): Textilien-Leitfaden für Krankenhäuser. Mülheim: Eigenverlag, 1992
- WALLHÄUßER, K. H. (1995): Praxis der Sterilisation - Desinfektion - Konservierung - Keimidentifizierung – Betriebshygiene. Stuttgart: Thieme, 1995
- WALTER, W.; SCHILLINGER, J. (1975): Bacterial survival in laundered fabrics. *Appl Microbiol* 29: 368-373
- WARDEN, J.; HIGHLY, T. (1974): Survival and Redeposition of Fungi during laundering. *Home Economics Research Journal* 3: 2-13
- WARWICK (2001a): Biocidal efficacy under US wash conditions using MYKON bleach activators. Stand. 22.02.2001 http://www.warwickint.com/pdfs/dbu10_1.pdf
- WARWICK (2001b): Biocidal efficacy in automatic dishwashing applications using MYKON bleach activators. Stand: 22.02.2001 http://www.warwickint.com/pdfs/dbu15_1.pdf
- WARWICK (2001c): Biocidal efficacy under european conditions using MYKON bleach activators. Stand: 22.02.2001 http://www.warwickint.com/pdfs/dbu09_1.pdf
- WARWICK (2001d): Processing viscose and viscose blends. Stand 22.02.2001 http://www.warwickint.com/pdfs/tex02_1.pdf
- WHALLEY, G. (1998): Stain removed ad reduced temperature. *Manuf Chem* 69: 31-33
- WEAVERS, L.K.; WICKRAMANAYAKE, G.B. (2001): Kinetics of the inactivation of microorganisms. In: BLOCK, S.S. (Ed.): Disinfection, Sterilization and Preservation. Philadelphia: Lea & Febiger, 2001, S. 65-78

WIKSELL, J.C.; PICKETT, M.; HARTMAN, P. (1973): Survival of Microorganisms in laundered Polyester-Cotton Sheeting. *Appl Microbiol* 25: 431-435

WITT, C.; WARDEN, J. (1971): Can home laundries stop the spread of bacteria in clothing. *Textile chemist and colorist* 3:181-184

XIONG, R.; XIE, G. (1999); EDMONSON, A.E. ; SHEARD, M.A.: A mathematical model for bacterial inactivation. *Int J Food Microbiol* 46:45-55

Monika Maria Betz

Persönliche Angaben

Geburtsdatum: 02. Februar 1971
Geburtsort: Tübingen
Familienstand: ledig
Staatsangehörigkeit: Deutsch

Ausbildung

1977-1981 Grundschule Burladingen
1981-1987 Progymnasium Burladingen
1987-1990 Gymnasium Hechingen, Abschluß: Allgemeine Hochschulreife
1990-1991 Au-Pair-Aufenthalt in Aix en Provence/Frankreich, Besuch von Sprachkursen an der Université Aix-Marseille
1991-1996 Studium der Ökotrophologie an der TU München-Weihenstephan
Abschluß: Dipl. oec. troph. univ.

Berufserfahrung

seit 04/97 Wissenschaftliche Mitarbeiterin am FG Haushalts- und Betriebshygiene der TU München-Weihenstephan unter der Leitung von Prof. Dr. Gerhard Cerny

- Lehrverpflichtungen im Studiengang Ökotrophologie und Lehramt an beruflichen Schulen
- Organisatorische Aufgaben

04/97 – 07/98 Betreuung des Drittmittelprojektes der INGEDE „Mikrobielle Kontamination in der Papierfabrikation“

08/98 – 03/01 Anfertigung der Dissertation „Antimikrobielle Wirksamkeit von Bleichmitteln und Bleichsystemen“

Freising, den 04.04.2001