



Bachelorarbeit
im Studiengang Bioprodukttechnologie

**Untersuchung antimikrobiell wirksamer
Beschichtungen – Ermittlung des Einflusses
unterschiedlicher Grundwerkstoffe und
Bindersysteme**

Entstanden in Zusammenarbeit mit Firma Weber
Maschinenbau GmbH



Lena Hiddemann

Erstprüfer: Prof. Dr. Karl Steffens
Zweitprüfer: Dipl. Ing. Carsten Reinsch

Neubrandenburg, Februar 2011

Kurzfassung

In dieser Arbeit wurden silber- und titandioxidhaltige Beschichtungen auf Edelstahl auf die antimikrobielle Wirksamkeit gegen *Escherichia coli* und *Staphylococcus aureus* untersucht. Ziel war es, den Einfluss verschiedener Grundwerkstoffe und Bindersysteme auf die biozide Wirkung zu überprüfen. Die Experimente für diese Bachelorarbeit wurden in Anlehnung an einen japanischen Standard durchgeführt [JIS Z 2801:2000, 2000]. Die Tests wurden auf Edelstahl-, Aluminium- und Glasprüfkörpern (5,0 cm * 5,0 cm groß) durchgeführt, wobei Edelstahl als Basismaterial zur industriellen Anwendung kommen soll.

Einarbeitungen von silberhaltigem Pulver in Sol-Gel-Systeme haben schwankende Ergebnisse hervorgebracht (Keimreduktionen von 0 bis 5 log-Stufen). Die Untersuchung der antimikrobiell wirksamen Bestandteile der Silberbeschichtung (TROVO®guard B-K1-5, pulverförmig) hat gezeigt, dass diese hocheffizient sind (Reduzierung um 5 log-Stufen). Damit wird deutlich, dass die Schwierigkeit in der Einarbeitung des silberhaltigen Pulvers, sowie der Aufbringung der Beschichtung auf den Grundwerkstoff liegt. Bisher wurden lediglich mit der Einarbeitung des silberhaltigen Pulvers in ein Lacksystem zufrieden stellende Ergebnisse erzielt (Reduktion von 4 bis 5 log-Stufen).

Des Weiteren wurden titandioxidhaltige Beschichtungen untersucht, bei denen bisher mit dem Einbringen in ein Sol-Gel-System kein Erfolg erkennbar war. Neue Hinweise gibt ein Test, bei dem mit Hilfe eines Farbstoffs die Bildung von Radikalen nach einer Bestrahlungsdauer von 10 Minuten mit UV-A-Licht nachgewiesen werden konnte. Diese Reaktion war deutlich bei dem titandioxidhaltigen Pulver (KRONOS vlp 7000) erkennbar. Auch bei diesem Wirksystem zeigt sich die Schwierigkeit die Beschichtung ohne Effizienzverlust einzusetzen.

Abschließend bleibt zu sagen, dass die Beschichtungen ein antimikrobielles Potenzial aufweisen, jedoch Weiterentwicklungen erzielt werden müssen.

Schlagwörter: Silber, Titandioxid, Edelstahl / Metall, antimikrobiell, Beschichtung

Abstract

A silver-containing and a titanium dioxide-containing matrix used as coatings for stainless steel were tested for antimicrobial efficacy against *Escherichial coli* and *Staphylococcus aureus*. The aim was to check the influence of different base materials and binder systems to the biocide effect. The experiments of this bachelor-thesis based on a Japanese standard [JIS Z 2801:2000, 2000]. Assays were performed on stainless steel, aluminium and glass test pieces (size: 5.0 cm * 5.0 cm) but stainless steel would be applied in industry as base material.

The experiments showed reductions ranged from 0 log steps to 5 log steps in case of silver coatings, so the results were irregular yet. Experiments testing the antimicrobial component (TROVO®guard B-K1-5) of the silver coating showed that the silver containing powder is highly efficient (showing a reduction of 5 log steps), so the difficulty is to fix it effectively in coatings. An effective possibility is found in a lacquer-coating (showing a reduction of 4 to 5 log steps).

In case of titanium dioxide containing coatings there is no reduction visible, up to now. With the help of chemical dye, a reaction is observable, which shows that after 10 minutes of radiation with UV-A light to the titanium dioxide containing powder (KRONOS vlp 7000) radicals are produced. This indicates the difficulty of fixing the coating without inhibiting the reactive compounds.

In conclusion, these coatings have the potential to inactivate microorganisms but future development will be necessary.

Keywords: silver, titanium dioxide, stainless steel / metal, antimicrobial, coating

Inhaltsverzeichnis

Kurzfassung	2
Abstract	3
Inhaltsverzeichnis	4
Abbildungsverzeichnis	5
Tabellenverzeichnis	7
Abkürzungsverzeichnis	8
1 Einleitung	10
2 Beschichtungen mit Silber	16
2.1 Theoretischer Hintergrund.....	16
2.2 Material & Methoden	22
2.3 Ergebnisse & Diskussion.....	25
3 Beschichtungen mit Titandioxid	33
3.1 Theoretischer Hintergrund.....	33
3.2 Material & Methoden	35
3.3 Ergebnisse & Diskussion.....	38
4 Zusammenfassung und Ausblick	44
Anhang A: Auswertungsmethodik nach JIS Z 2801:2000	47
Literaturverzeichnis	52
Erklärung	55

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Wirkweise von Silber- Nanopartikeln (links, Release- Mechanismus) und Polyammoniumverbindungen (rechts, Kontaktmechanismus). [Heubach und Angerer, 2007].....	11
Abbildung 2: Slicer geschlossen. [Weber Maschinenbau, 2010]	12
Abbildung 3: Slicer geöffnet. [Weber Maschinenbau, 2010].....	13
Abbildung 4: Messerschutzhaube – innen. [Weber Maschinenbau, 2010]	13
Abbildung 5: Schematische Darstellung einer Sol-Gel-Beschichtung.	14
Abbildung 6: Schematische Darstellung einer Lackbeschichtung.	14
Abbildung 7: Wirkung von Nanosilber auf die Bakterienzelle. [Hoek, 2009].....	17
Abbildung 8: Zusammenfassung der Ergebnisse vorangegangener Experimente. Dargestellt ist die Wirksamkeit verschiedener Beschichtungen. Keine der Beschichtungen hat zu einer Abtötung der Mikroorganismen geführt. Die Untersuchungen wurden mit <i>E. coli</i> durchgeführt. [Hiddemann, 2010].....	19
Abbildung 9: Zusammenfassung der Ergebnisse vorangegangener Experimente. Dargestellt ist die Wirksamkeit verschiedener Beschichtungen. Lediglich die angeraute aktive Beschichtung (aktiv #) hat zu einer Abtötung (Reduzierung um 0,5 bis 1,5 log-Stufen) der Mikroorganismen geführt. Die Untersuchungen wurden mit <i>S. aureus</i> durchgeführt. [Hiddemann, 2010]	20
Abbildung 10: Zusammenfassung der Ergebnisse vorangegangener Experimente. Dargestellt ist die Wirksamkeit des silberhaltigen Pulvers („Tg“) im Gegensatz zu einer Kontrolle („K“). Nach 70 min (1,67 h) ist keine signifikante Veränderung zu erkennen. Nach 24 h erfolgte eine vollständige Abtötung (Reduzierung um 6 log-Stufen) durch das silberhaltige Pulver. Die Untersuchungen wurden mit <i>E. coli</i> durchgeführt. [Hiddemann, 2010].....	21
Abbildung 11: Zusammenfassung der Ergebnisse vorangegangener Experimente. Dargestellt ist die Wirksamkeit des silberhaltigen Pulvers („Tg“) im Gegensatz zu einer Kontrolle („K“). Nach 70 min (1,67 h) ist keine signifikante Veränderung zu erkennen. Nach 24 h erfolgte eine vollständige Abtötung (Reduzierung um 6-log Stufen) durch das silberhaltige Pulver. Die Untersuchungen wurden mit <i>S. aureus</i> durchgeführt. [Hiddemann, 2010].....	21
Abbildung 12: Skizzierter Versuchsaufbau; Prüfkörper mit einer Folie abgedeckt, Draufsicht (oben); Prüfkörper in einer Petrischale und mit einer Folie abgedeckt, Seitenansicht (unten).....	24
Abbildung 13: Überlebende Keime nach 24 h schütteln in silberhaltigem Pulver. Es wird deutlich, dass bei einer Konzentration des Pulvers in der PBPS, die größer ist als 0,2 g/L, die Keimzahl stark bis vollständig minimiert wird.....	26
Abbildung 14: Lebendkeimzahl von <i>E. coli</i> durch Beeinflussung verschiedener Grundwerkstoffe. Nachdem in vorangegangenen Experimenten die „aktive“ Beschichtung auf Metall keine Wirkung gezeigt hat, wurde	

der Einfluss von Grundwerkstoffen getestet. Es zeigte sich, dass die Beschichtung auf Glas wirksam war (Reduzierung um 4 log-Stufen), was jedoch durch ein Folgeexperiment nicht bestätigt werden konnte. Auch bei dem Grundwerkstoff Aluminium zeigte die Beschichtung leichte Wirksamkeit (Reduzierung um 1 log-Stufe), was aber nicht mit Sicherheit auf die Beschichtung zurückzuführen ist.	28
Abbildung 15: Lebendkeimzahl von <i>S. aureus</i> durch Beeinflussung verschiedener Grundwerkstoffe. Nachdem in vorangegangenen Experimenten die „aktive“ Beschichtung auf Metall keine Wirkung gezeigt hat, wurde der Einfluss von Grundwerkstoffen getestet. Es zeigte sich, dass die Beschichtung auf Glas wirksam war (Reduzierung um 3 log-Stufen), was jedoch durch ein Folgeexperiment nicht bestätigt werden konnte. Auch bei dem Grundwerkstoff Aluminium zeigte die Beschichtung leichte Wirksamkeit (Reduzierung um 1 log-Stufe), was aber nicht mit Sicherheit auf die Beschichtung zurückzuführen ist.	28
Abbildung 16: Lebendkeimzahl von <i>E. coli</i> durch Beeinflussung verschiedener Bindersysteme und Einarbeitungsarten. Zu sehen ist, dass eine Abtötung der Keime bei beiden Lacksystemen stattgefunden hat. Als Vergleich zu Silber wurde Kupfer („Cu-Lack“) verwendet. Es zeigen sich beim Lack Mortalitätsraten bis zu 100 % (entspricht 5 log-Stufen).	31
Abbildung 17: Lebendkeimzahl von <i>S. aureus</i> durch Beeinflussung verschiedener Bindersysteme und Einarbeitungsarten. Zu sehen ist, dass eine Abtötung der Keime bei beiden Lacksystemen stattgefunden hat. Als Vergleich zu Silber wurde Kupfer („Cu-Lack“) verwendet. Es zeigen sich beim Lack Mortalitätsraten von 100 % (entspricht 4 Log-Stufen).	31
Abbildung 18: Photokatalytischer Effekt mit TiO ₂ - Nanopartikel. [Heubach und Angerer, 2007]	34
Abbildung 19: Skizzierter Versuchsaufbau; Prüfkörper in einer Petrischale mit Folie abgedeckt und unter einer UV-Lampe, Seitenansicht.....	37
Abbildung 20: Lebendkeimzahl nach unterschiedlichen Bestrahlungszeiten mit UV-Licht (366 nm) verschiedener Prüfkörper. Als Testkeim wurde <i>E. coli</i> verwendet. Es ist keine Abtötung der Keime erkennbar. Bei der angerauten („TiO ₂ “ #) Beschichtung wurde auf eine 2minütige Bestrahlung verzichtet.....	39
Abbildung 21: Lebendkeimzahl nach unterschiedlichen Bestrahlungszeiten mit UV-Licht (366 nm) verschiedener Prüfkörper. Als Testkeim wurde <i>S. aureus</i> verwendet. Es ist keine Abtötung der Keime erkennbar. Bei der angerauten („TiO ₂ “ #) Beschichtung wurde auf eine 2minütige Bestrahlung verzichtet.....	39
Abbildung 22: Lebendkeimzahl nach 30 min Bestrahlungsdauer mit UV-Licht (366 nm) verschiedener Prüfkörper. Als Testkeim wurde <i>E. coli</i> verwendet. Es ist keine Abtötung der Keime erkennbar.....	40
Abbildung 23: Lebendkeimzahl nach 30 min Bestrahlungsdauer mit UV-Licht (366 nm) verschiedener Prüfkörper. Als Testkeim wurde <i>E. coli</i>	

verwendet. Es ist keine Abtötung der Keime durch das Pulver erkennbar.....	41
Abbildung 24: Lebendkeimzahl nach unterschiedlichen Bestrahlungszeiten mit UV-Licht (254 nm) verschiedener Prüfkörper. Als Testkeim wurde <i>E. coli</i> verwendet. Es ist eine Abtötung der Keime erkennbar. Da sowohl bei der Kontrolle, als auch bei dem Pulver die Keime vollständig abgetötet sind, ist das kurzwellige UV-Licht die wirksame Komponente des Experiments.	41
Abbildung 25: Deutliche Verfärbung der Indikatorlösung nach einer Bestrahlungsdauer von 10 min mit UV-A-Licht.....	42

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Experimentelle Vorgaben und Ergebnisse. Untersucht wurde das silberhaltige Pulver "Tg". Die Konzentration wird mit „c“ abgekürzt. ..	20
Tabelle 2: Versuchsanweisung zum Herstellen der Konzentrationsreihe des silberhaltigen Pulvers. Die Konzentration an Silber entspricht nicht der Konzentration an freien Silberionen in der Lösung, sondern dem Silberanteil in dem Pulver in der Suspension.	25
Tabelle 3: Ergebnisse des untersuchten silberhaltigen Pulvers mit <i>E. coli</i> nach 24stündigem Schütteln. Es wird deutlich, dass unter einer Konzentration von 1 g/L Pulver in der PBPS- Lösung die Keimzahl ansteigt. Dargestellt ist außerdem die mit dem Pulver eingebrachte Menge an Silber in der Lösung.	26
Tabelle 4: Ergebnisse des untersuchten silberhaltigen Pulvers mit <i>S. aureus</i> nach 24stündigem Schütteln. Es wird deutlich, dass unter einer Konzentration von 1 g/L Pulver in der PBPS- Lösung die Keimzahl ansteigt. Dargestellt ist außerdem die mit dem Pulver eingebrachte Menge an Silber in der Lösung.	27
Tabelle 5: "N" in KbE. Untersuchungsergebnisse der silberhaltigen Lackbeschichtung. Als Testkeim wurde <i>E. coli</i> verwendet.	50
Tabelle 6: "N" in KbE. Untersuchungsergebnisse der unbeschichteten Prüfkörper. Als Testkeim wurde <i>S. aureus</i> verwendet.	50
Tabelle 7: "N" in KbE. Untersuchungsergebnisse der unbeschichteten Prüfkörper. Als Testkeim wurde <i>E. coli</i> verwendet.	50
Tabelle 8: "N" in KbE. Untersuchungsergebnisse der unbeschichteten Prüfkörper. Als Testkeim wurde <i>S. aureus</i> verwendet.	51

Abkürzungsverzeichnis

AAS	Atomabsorptionsspektroskopie
Ag	argentum (Silber)
Ag ⁺	Silberion
Agar	Agarplatte(n)
BfR	Bundesinstitut für Risikobewertung
ca.	zirka
Cu	Kupfer
dest. Wasser	destilliertes Wasser
°C	Grad Celsius
cm	Zentimeter
DNA	desoxyribonucleic acid (Desoxyribonukleinsäure)
DNS	Desoxyribonukleinsäure
E.c.	Escherichia coli
E. coli	Escherichia coli
g	Gramm
h	Stunde / Stunden
H ₂ O ₂	Wasserstoffperoxid
JIS	Japanese Industrial Standard (japanischer Standard)
KBE	Koloniebildende Einheiten
KBE / ml	Koloniebildende Einheiten pro Milliliter
KH ₂ PO ₄	Kaliumdihydrogenphosphat
M	molar
mg / l	Milligramm pro Liter
m. H.	mit Hilfe
min	Minute(n)
ml	Milliliter
mm	Millimeter

MW	Mittelwert
NaCl- Lösung	Natriumchloridlösung
NaOH	Natriumhydroxid
nm	Nanometer
OH-Radikal	Hydroxyl-Radikal
PBS	Phosphate buffer solution
PBPS	Phosphate Buffered Physiological Saline
ppm	parts per million
ROS	reactive oxygen species (reactive Sauerstoffspezies)
rpm	rounds per minute (Umdrehungen pro Minute)
RT	Raumtemperatur
S.a.	Staphylococcus aureus
S. aureus	Staphylococcus aureus
SCDLP	Bezeichnung für die im JIS angegebene Waschlösung
SiC	Siliciumcarbid
s.o.	siehe oben
U/min	Umdrehungen pro Minute
UV-Licht	Ultraviolettes Licht
z.B.	zum Beispiel
ZnO	Zinkoxid

1 Einleitung

Jeder ist sich bewusst, dass ein steriler Operationssaal lebensnotwendig ist und mangelnde Hygiene zum Tod führen kann. Doch nicht nur während einer OP muss auf die Sauberkeit und eine möglichst keimfreie Umgebung geachtet werden, sondern auch in der Lebensmittelindustrie. Es kann Verwirrungen und Unsicherheiten beim Verbraucher hervorrufen, wenn eine frisch geöffnete Packung mit Wurst nach nur einem Tag durch Schimmelbildung verdorben ist. Doch woran liegt es, wenn Produkte verkeimen und dadurch eventuell schädlich werden? Sicherlich ist die Betriebshygiene dabei ein ausschlaggebender Faktor. Um die Betriebshygiene zu verbessern gibt es mehrere Möglichkeiten. Das Personal steht dabei zunächst im Vordergrund. Es kann durch Schulungen auf den neusten Stand der Hygienepraktiken und –anforderungen gebracht und somit die Aufklärung und die Aufmerksamkeit der handelnden Personen verbessert werden. Eine weitere Möglichkeit besteht darin die Produktionsstätte näher zu betrachten und gegebenenfalls Verbesserungen in der Reinigung zu erwirken. Keimfreie Umgebungen in der Industrie zu schaffen, ist kaum möglich und auch nicht zwingend notwendig, eine Reduzierung der Keime dagegen jedoch immer erstrebenswert. Es gibt allerdings noch weitere Ansätze bakteriellen bzw. mikrobiellen Befall von Oberflächen zu reduzieren oder komplett zu verhindern. In diesem Fall kommen antimikrobielle Beschichtungen zum Einsatz.

Mit Hilfe dieser Beschichtungen sollen Oberflächen, durch Abtötung der Mikroorganismen, von Krankheitskeimen sauber gehalten werden. Antimikrobielle Wirkungen sind bereits aus anderen Gebieten bekannt, wie zum Beispiel entzündungshemmenden Cremes, die ZnO enthalten (Wundcremes). Nanotechnologie hingegen bietet die Möglichkeit die Wirksamkeit und auch die Beschichtungsmöglichkeiten zu erweitern. Man unterscheidet zwei verschiedene Arten der Wirkung von antimikrobiellen Beschichtungen auf die Mikroorganismen (Abbildung 1). Zum einen ist es der Kontakt- Mechanismus, bei dem die Mikroorganismen (Bakterien, Hefen, Pilze) direkt mit der antimikrobiellen Substanz an der Kontaktfläche in Berührung kommen. Die Mikroorganismen werden durch direkten Kontakt mit der Oberfläche abgetötet. Da die Substanz fest an der Oberfläche gebunden ist, findet keine Freisetzung des Reagenz statt. Zum anderen gibt es den Release-Mechanismus, bei dem durch Diffusion und Migration der antimikrobiellen Substanz aus der Matrix der Beschichtung an die Oberfläche eine Abgabe an die unmittelbare Umgebung erfolgt. Den Release- Mechanismus findet man zum Beispiel bei Beschichtungen, die Silber oder Nanosilber als Wirkstoff enthalten. Dieses Nanosilber bildet in einer Beschichtung Silberionen, die an die Oberfläche diffundieren und somit destabilisierend auf die Zellmembran wirken. Dadurch werden der Zellstoffwechsel und

der Zellteilungsprozess gestört. Bereits angewendet wird Nanosilber zum Beispiel in Wundverbänden oder Kathetern. [Heubach und Angerer, 2007]

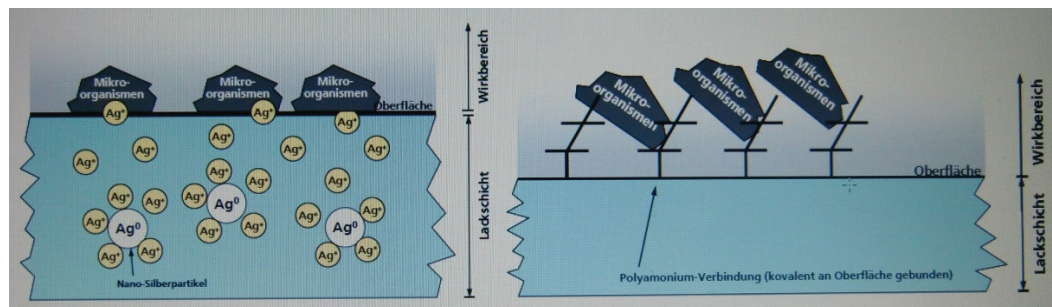


Abbildung 1: Wirkweise von Silber- Nanopartikeln (links, Release- Mechanismus) und Polyammoniumverbindungen (rechts, Kontaktmechanismus). [Heubach und Angerer, 2007]

Aber auch in privaten Bereichen kommt es immer mehr zur Anwendung antimikrobieller Beschichtungen. Ein Grund dafür könnte sein, dass der aus Amerika kommende „Hygienewahn“ auch in Deutschland immer mehr Auswirkungen zeigt. Dies sollte man aber sehr kritisch betrachten, denn Bakterien können nicht nur harmlos sein, sondern sind für den Menschen sogar teilweise wichtig. Die menschliche Haut wird beispielsweise von verschiedenen Bakterien besiedelt, die uns vor Krankheitskeimen schützen. Außerdem besagen Studien, dass Kinder, die auf dem Land groß geworden sind oder auch früh mit vielen anderen Kindern in Kontakt stehen, später weniger Probleme mit Allergien haben. Eine Grundhygiene ist als wichtig anzusehen, übertreibt man es, kann es zum Gegenteil führen. Mikroorganismen sind nicht immer gleich Krankheitserreger. [Leydecker, 2008, S. 162-165] [Donner, 2009]

Ein anderer Stoff, der zur Keimabtötung bzw. –reduzierung genutzt werden kann, ist Titandioxid. Es wird der photokatalytische Effekt ausgenutzt, der durch UV-A-Licht aktiviert wird. Dieser aktive chemische Prozess bewirkt den Abbau organischer Verunreinigungen. Prinzipiell beruht der Prozess auf der Absorption des UV-Lichts, der daraus resultierenden Zersetzung von Wasser zu OH-Radikalen oder auch der Bildung von Wasserstoffperoxid mit Luftsauerstoff, sowie der Oxidation, also der Zersetzung von organischen Verunreinigungen durch OH-Radikale bzw. H_2O_2 . H_2O_2 wirkt nicht nur auf organische Verunreinigungen, sondern auch auf Kleinstlebewesen stark toxisch. Dadurch hat TiO_2 auch eine selbstdesinfizierende und damit keimabtötende Wirkung. [Heubach und Angerer, 2007] Bereits Anwendung findet TiO_2 in medizinischen Bereichen und auch in der Baustofftechnik.

Mit Einsatz von antimikrobiell wirksamen Beschichtungen in der Lebensmittelindustrie könnte nicht nur die Reinigung erleichtert und dadurch Reinigungs- und Desinfektionsmittel eingespart, sondern auch der Einsatz von Konservierungsmitteln

vermindert werden. Gerade solche Konservierungsmittel, die im Verdacht stehen Allergien auszulösen würden weniger benötigt und das Produkt umso attraktiver für den Verbraucher machen. [Heubach und Angerer, 2007] Einen besonderen Vorteil würden solche Beschichtungen an nur schwer erreichbaren und damit schwierig zu reinigenden Stellen darstellen.

In unserem speziellen Fall sucht man eine antimikrobielle Beschichtung auf Metall. Anwendung finden soll diese Beschichtung in der Lebensmittelindustrie, zum Beispiel an Maschinenbauteilen, die schwer zu reinigen sind oder aber auch bei der Verarbeitung von besonders keimanfälligen Produkten (z.B. rohes Fleisch) verwendet werden. Ein konkretes Beispiel für ein solches Bauteil könnte die Innenseite einer Messerschutzhaube einer Hochleistungs- Schneidemaschine (Slicer) sein, wie man sie in Abbildung 4 sieht. Abbildung 2 zeigt eine solche Schneidemaschine geschlossen und Abbildung 3 geöffnet. Durch eine derartige Beschichtung könnte beispielsweise eine Fremdverkeimung vermieden werden, die zustande kommt, wenn die gereinigte Maschine einige Zeit stillsteht. Ein weiterer Vorteil ist, dass sich die Gesamthygiene durch antimikrobielle Oberflächen verbessern lässt. Ein positiver Effekt daraus ist, dass mit der gesteigerten Hygiene das MHD leichter eingehalten oder erweitert werden kann.



Abbildung 2: Slicer geschlossen. [Weber Maschinenbau, 2010]

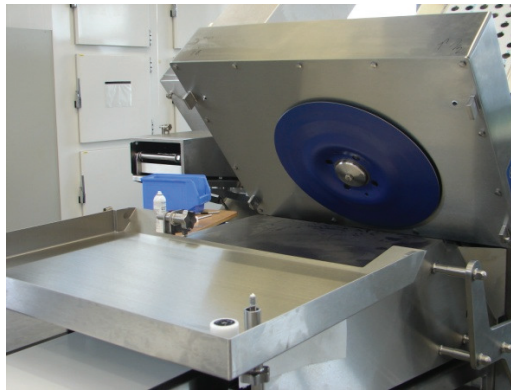


Abbildung 3: Slicer geöffnet. [Weber Maschinenbau, 2010]



Abbildung 4: Messerschutzhaube – innen. [Weber Maschinenbau, 2010]

Die in dieser Arbeit untersuchten Beschichtungen beinhalten zum einen Silber und zum anderen TiO_2 . Dabei wird die Aufmerksamkeit besonders auf den Effekt verschiedener Grundwerkstoffe und Bindersysteme auf die Wirkungsweise der Beschichtung gelegt. Wie im JIS Z 2801:2000, nach dessen Anleitung gearbeitet wird, vorgegeben, werden als Leitkeime E. coli und S. aureus verwendet. Als Bindersystem wird zum einen ein Sol-Gel-System und zum anderen ein Lacksystem benutzt. Die beiden Systeme sind in Abbildung 5 und Abbildung 6 schematisch dargestellt. Sol-Gel-Systeme lassen sich, wegen der geringen Größe der erzeugten Solpartikel, als Produkt der chemischen Nanotechnologie bezeichnen. Der Vorteil an Sol-Gel-Beschichtungen ist, dass sie um einiges dünner aufgebracht werden können als Lackbeschichtungen und relativ verschleißbeständiger sind. Darüber hinaus besitzt die Beschichtung eine hohe Härte und ist kratzfest. Durch Zuschläge ist es möglich die Beschichtung entsprechend zu modifizieren, durch Zugabe von SiC wird beispielsweise die Verschleißfestigkeit erhöht. Nachteil der glasartigen Zusammensetzung ist die Empfindlichkeit gegenüber starken Basen und starken Säuren ($\text{pH} < 2$, $\text{pH} > 14$). Bei Lackbeschichtungen muss im Gegensatz zum Sol-Gel-System der Grundwerkstoff aufgeraut werden, um eine gute Haftfestigkeit zu gewährleisten. Als Matrix wird ein Bindeharz verwendet, in den

ebenfalls Verstärkungsstoffe und Füllstoffe eingearbeitet werden können. Die sich ausbildenden Bindungen zwischen dem eingearbeiteten silberhaltigen Glas bzw. titandioxidhaltigen Pulver sind in dem Sol-Gel-System, bedingt durch die höhere Anzahl von an der Grenzfläche zur Verfügung stehenden OH-Gruppen, stärker als in der Lackbeschichtung.

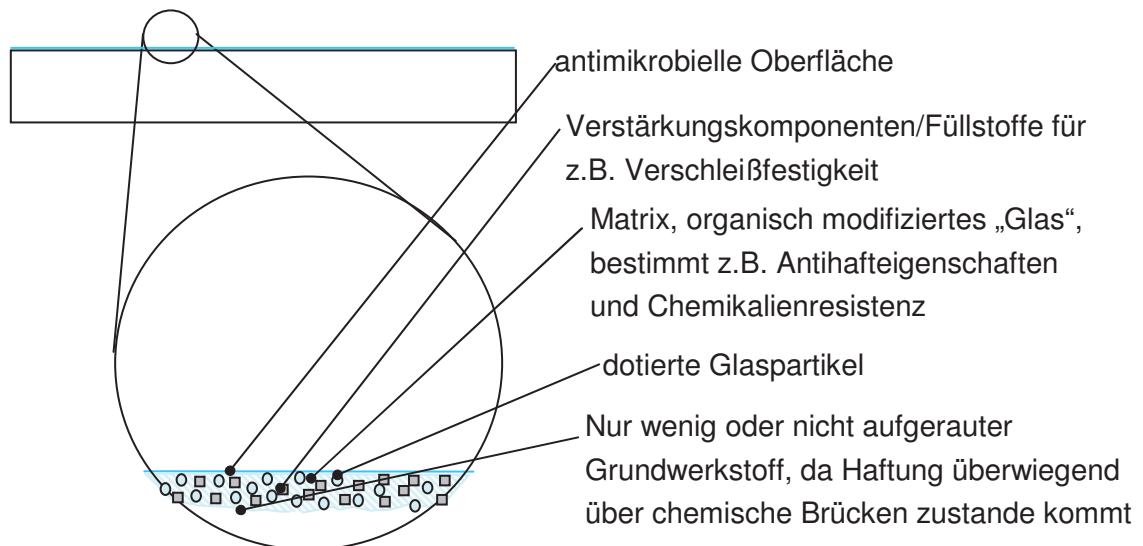


Abbildung 5: Schematische Darstellung einer Sol-Gel-Beschichtung.

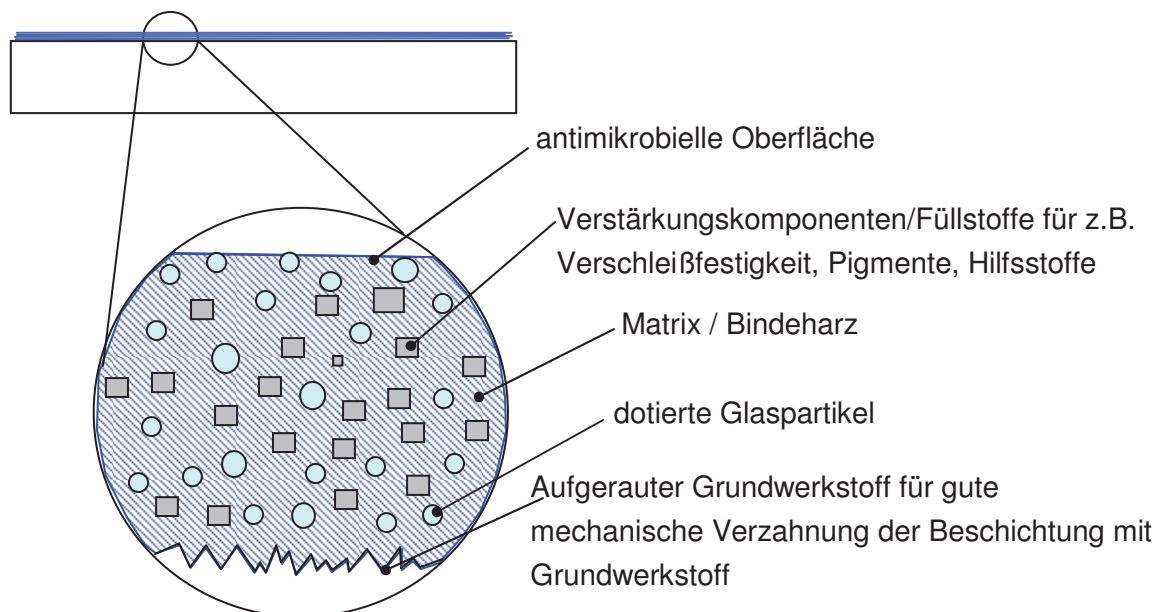


Abbildung 6: Schematische Darstellung einer Lackbeschichtung.

Die in dieser Arbeit vorgestellten Experimente werden aufbauend auf bereits vorhandene Ergebnisse, die im Zuge eines Industriepraktikums entstanden sind,

durchgeführt. Die Untersuchungen fanden mit einer silberhaltigen Sol-Gel-Beschichtung statt und zeigten noch keinen sehr Erfolg versprechenden Effekt. Jedoch zeigten Experimente zum Nachweis der Wirksamkeit der antimikrobiellen Zusätze (Silber dotierte Glaspartikel in Pulverform), dass ein abtötender Effekt vorliegt. Daher galt und gilt es darauf aufbauend eine Möglichkeit zu finden dieses Pulver wirksam in ein Beschichtungssystem einzuarbeiten. Die bereits vorliegenden Ergebnisse der vorangegangenen Arbeit werden in Punkt 2.1 zusammenfassend dargestellt. [Hiddemann, 2010] Weiterführende Experimente mit Silber enthaltenden Beschichtungen wurden durchgeführt und deren Ergebnisse sind unter Punkt 2.3 aufgeführt. Alternativ zur Wirkkomponente Silber sollten Beschichtungen mit Titandioxid auf ihre antimikrobiellen Eigenschaften untersucht werden. Ergebnisse dieser Untersuchungen sind unter Punkt 3.3 zu finden.

2 Beschichtungen mit Silber

2.1 Theoretischer Hintergrund

Silber als antimikrobielles Mittel einzusetzen ist nicht neu. Schon bei den alten Ägyptern und Griechen wurden silberne Trinkgefäße benutzt, um Wasser genießbar zu machen. Im 20. Jahrhundert wurde Silber nachweislich als antimikrobieller Wirkstoff verwendet. Eine der am weitesten verbreiteten Nutzungen waren Silbernitrat enthaltende Augentropfen. Man tropfte sie Neugeborenen direkt nach der Geburt in die Augen, um Krankheiten, die Erblindung verursachen, vorzubeugen. Erst in der Mitte des 20. Jahrhunderts, nach der Entdeckung von Antibiotika, verlor Silber seinen Status als Arzneimittel erster Wahl. Man verwendete Silber jedoch weiterhin noch bei extremen Verbrennungen. Betrachtet man heutzutage Silber, wird es für verschiedene Gebiete immer interessanter. Im Hinblick auf Antibiotika-Resistenz bei Keimen erinnert man sich gerne an die antimikrobielle Wirkung und den Einsatz von Silber in der Medizin. [Gibbins, 2005]

Silber selbst ist ein inertes Edelmetall, doch sein Ion ein äußerst reaktives Teilchen. Es wird Feuchtigkeit benötigt, um eine Generierung der Silberbestandteile in das wirksame Silberkation zu ermöglichen. [Voigt, 2005]. Die biozide Wirkung von Silber hängt immer von den Silberionen und ihrer Konzentration ab. Außerdem begründet sich die biozide Wirkung auf drei Faktoren:

Silberionen zerstören die zellulären Transportmechanismen und die proteolytischen Aktivitäten der Bakterienzellen durch Bindung an Enzyme und Strukturproteine der bakteriellen Zellwand und Zellmembran.

Silberionen verhindern die DNA- Replikation von Bakterien durch die Bindung an die DNA.

Silberionen blockieren die Atmungskette der Bakterien an den Zytochromen und behindern den Stoffwechsel. [Nordmann, 2009]

Abbildung 7 zeigt die verschiedenen Wirkmechanismen von Silber im Überblick. Man sieht zum einen, dass aus z.B. Nanosilber einzelne Silberionen abgegeben werden und zum anderen reaktive Sauerstoffspezies (ROS), auch Sauerstoffradikale genannt, gebildet werden. Außerdem interagieren die Silberionen mit den Membranproteinen, was die Funktion dieser stört, und reichern sich in der Zellmembran an, was die Membranpermeabilität beeinflusst. Darüber hinaus gelangt das Nanosilber in die Zelle, wo es ebenfalls ROS bilden und Silberionen abgeben kann sowie die DNA schädigt.

Die gebildeten ROS nehmen genauso wie die abgegebenen Silberionen Einfluss auf die DNA, die Zellmembran sowie Membranproteine.

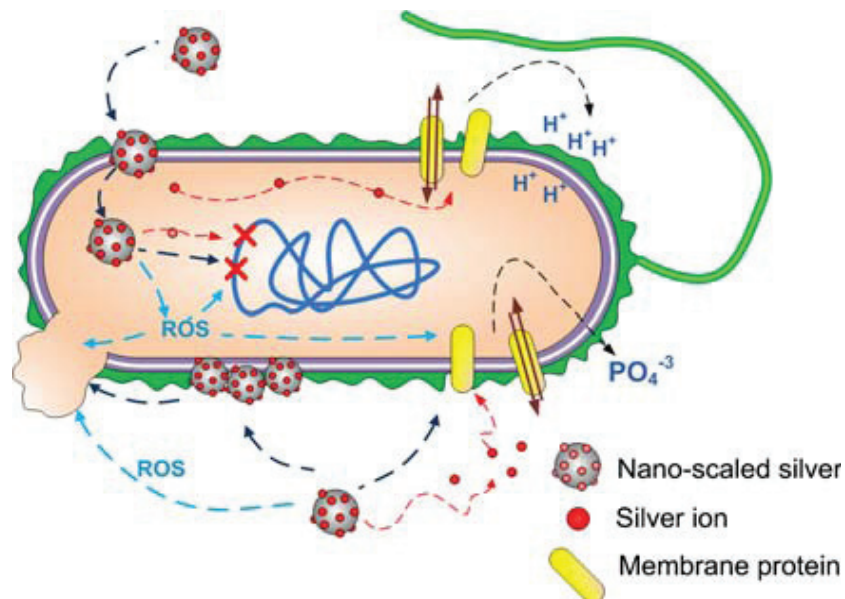


Abbildung 7: Wirkung von Nanosilber auf die Bakterienzelle. [Hoek, 2009]

Laut verschiedener Hersteller von Beschichtungen zeigen die Silberionen und elementares Silber jedoch keine Toxizität gegenüber Säugetierzellen in Zellkulturen, was klinische Studien beweisen sollen [Nordmann, 2009]. Trotz dieser Argumente gibt es auch Stimmen, die etwas kritischer mit dem Thema umgehen.

Socken, Handtücher, Putzlappen, Spielzeug, Müllbehälter; dies ist nur eine kleine Auswahl an Gegenständen, die es mittlerweile mit eingearbeitetem Silber zu kaufen gibt und es werden immer mehr. Doch ist es wirklich notwendig und wird es nicht irgendwann zu viel? Viele Menschen beschäftigen sich mit diesen Fragen. Probleme, die auftreten könnten, werden viele beschrieben, doch bisher gibt es nur wenige Fakten, die diese möglichen Probleme belegen. Fakt ist, dass Silber ein Zellgift ist und sogar das gefährlichste metallische Gift für Pflanzen, wie Phytoplankton. Für Wirbellose ist es genauso giftig, wie auch für Fische. Grund für die hohe Empfindlichkeit der Prokaryoten ist, dass ein Großteil ihrer Zellprozesse in der Membran stattfinden, an die sich Silber leicht anlagern und somit Silberionen in die Zelle gelangen können. Unsicher ist man sich bis jetzt auch, welche Folgen Silber wirklich auf die Umwelt und den Menschen haben kann. Einige Leute trinken kolloidales Silber und erleiden davon keinen Schaden, was für die These spricht, dass Silber für die Säugetierzelle ungefährlich ist. Auf der anderen Seite sollte man sich immer darüber Gedanken machen, wie sinnvoll einige Produkte sind und ob wir wirklich eine möglichst keimfreie Umgebung brauchen. Putzen ist immer noch besser, als sich auf entkeimende

Oberflächen zu verlassen und die gute alte Dusche wird auch nicht durch Geruch hemmende Socken oder deodorierend wirkende Oberteile abgelöst. [Donner, 2009] [BUND, 2008] Das BfR (Bundesinstitut für Risikobewertung) rät sogar von Nanosilber in Lebensmitteln und Gegenständen des täglichen Bedarfs ab, bis hinreichende Untersuchungen zur Auswirkungen auf den menschlichen Organismus stattgefunden haben. [BfR, 2009]

Befürchtungen wurden laut, dass das Silber zu Komplikationen in Kläranlagen führen kann, doch bisher gibt es keine Beweise, dass der Silbergehalt im Abwasser gestiegen ist.

Ein Beispiel für die Verunreinigung von Gewässern durch Silber findet man in San Francisco. Dort haben Forscher beobachtet, dass in den 1970er Jahren durch Verunreinigung mit Silber die Population an Muscheln zusammen gebrochen ist. Die Ursache für diese Verunreinigung fand sich in der Fotoindustrie. Damals benötigte man das Silber zur Entwicklung der Filme und das Abwasser gelangte direkt in die Umwelt. Man ist unschlüssig, ob durch die weitere Verbreitung von Silber in den unterschiedlichsten Bereichen ein solcher Fall heute erneut auftreten kann. [Holzman, 2010] Allerdings gibt es auch Untersuchungen, die diese Befürchtungen revidieren. Dabei wurde festgestellt, dass das in den Kläranlagen ankommende Silber eliminiert werden kann. Es bindet sich an die Belebtschlammflocken und kann so durch Filtration entfernt werden. Eine Verminderung der Nitrifikationsleistung (Maß für die Fähigkeit organische Stoffe abzubauen) des Belebtschlamm wird somit ausgeschlossen. [Burkhardt, 2010]

Die in einem Industriesemester erzielten Ergebnisse dienen als Grundlage für weiterführende Experimente und werden im Folgenden zusammenfassend dargestellt. Aus Abbildung 8 und Abbildung 9 gehen die Ergebnisse hervor, die unterschiedlich beschichtete Prüfkörper erbracht haben. Es wurde jeweils das silberhaltige Pulver (TROVO®guard B-K1-5, kurz Tg) in ein Sol-Gel-System eingearbeitet, auf einen Edelstahlprüfkörper aufgebracht und nach JIS Z 2801:2000 untersucht. Die Prüfkörper sind alle aus Edelstahl. Die als „unbeschichtet“ bezeichneten, sind ohne Beschichtung untersucht worden. Der Unterschied zwischen denen als „beschichtet“ und „aktiv“ beschriebenen Prüfkörpern, besteht darin, dass in die „aktiven“ das silberhaltige Pulver zusätzlich in die Beschichtung eingearbeitet wurde. Bei den als „aktiv #“ gekennzeichneten Prüfkörpern wurde die Oberfläche zusätzlich angeraut. Die genaue Methodik wird unter Punkt 2.2 beschrieben. Es zeigte sich, dass die Beschichtungen zu keinen zufrieden stellenden Ergebnissen im Hinblick auf die antimikrobielle Wirkung geführt haben. Meist kam es sogar zu einer Erhöhung der Keimzahl, was nicht plausibel erklärbar ist. Da den Bakterien während der Inkubation keinerlei Nährstoffe zur Verfügung stehen, sollte die Keimzahl theoretisch nicht ansteigen. Eine leichte Tendenz hin zu einer antimikrobiellen Wirkung war nach Anrauhung der Oberfläche zu erkennen.

Bei den Versuchen mit *E. coli* kam es bei einem der Prüfkörper zu einer Verminderung der Keimzahl um eine Zehnerpotenz, wohin gegen die anderen Prüfkörper einen Anstieg der Keimzahl zu verzeichnen hatten. Die Experimente mit *S. aureus* brachten wiederum andere Ergebnisse hervor. Bei einem Prüfkörper kam es zu keiner Veränderung der Keimzahl, bei dem zweiten zu einer Verminderung um 0,5 log-Stufen und bei dem dritten Prüfkörper zu einer Reduzierung der Keime um 1,5 log-Stufen. Eine hinreichende Aussage kann dadurch nicht getätigt werden, da die Anrauhung nicht reproduzierbar durchführbar war und die Ergebnisse nicht bei beiden Keimen übereinstimmen. Dies lässt dennoch die Vermutung zu, dass die wirksamen Bestandteile eingeschlossen sind und somit keine Ionen austreten können. Gestärkt wird diese Hypothese durch die Ergebnisse aus Abbildung 10 und Abbildung 11. Sie zeigen, dass die antimikrobiellen Bestandteile der Beschichtung (TROVO®guard B-K1-5, pulverförmig) sehr wirksam sind. Nach 24 h kam es zu einer vollständigen Abtötung der Mikroorganismen (Reduzierung um 6 log-Stufen). Die einzelnen Daten des Versuchs sind in Tabelle 1 zu finden. Dieser hochwirksame Effekt sollte durch erneute Experimente bestätigt und gegebenenfalls konkretisiert werden.

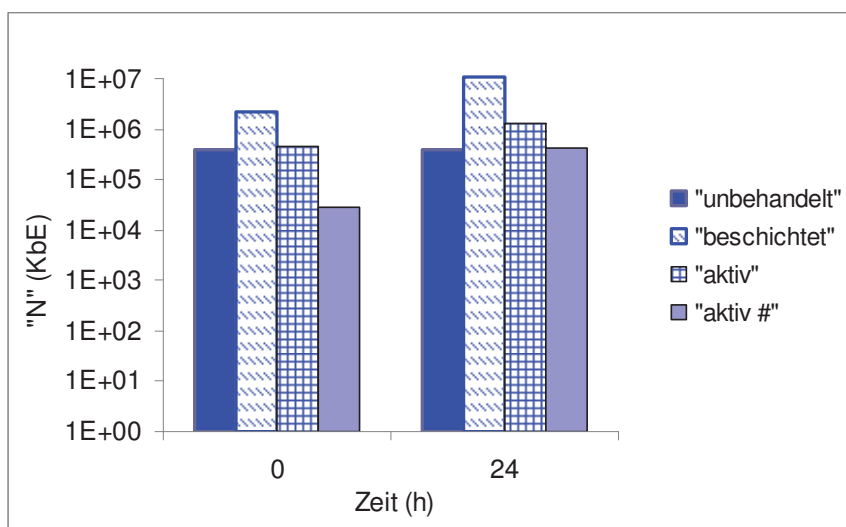


Abbildung 8: Zusammenfassung der Ergebnisse vorangegangener Experimente. Dargestellt ist die Wirksamkeit verschiedener Beschichtungen. Keine der Beschichtungen hat zu einer Abtötung der Mikroorganismen geführt. Die Untersuchungen wurden mit *E. coli* durchgeführt. [Hiddemann, 2010]

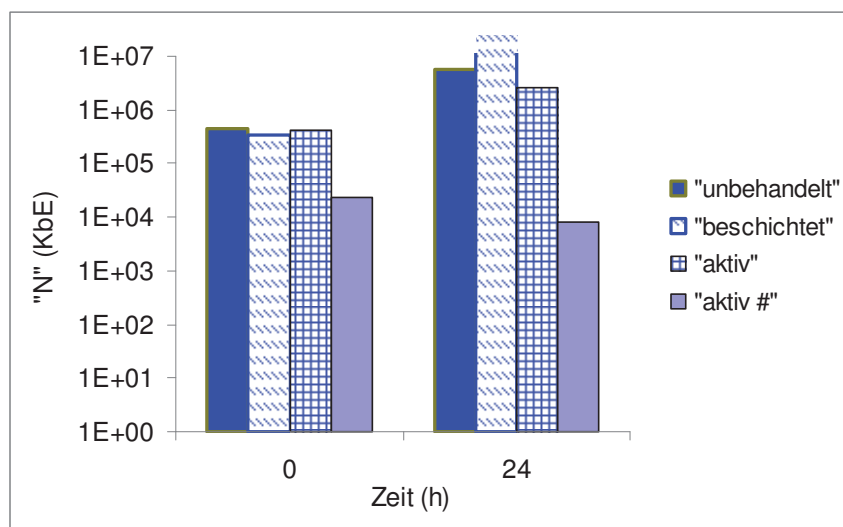


Abbildung 9: Zusammenfassung der Ergebnisse vorangegangener Experimente. Dargestellt ist die Wirksamkeit verschiedener Beschichtungen. Lediglich die angeraute aktive Beschichtung (aktiv #) hat zu einer Abtötung (Reduzierung um 0,5 bis 1,5 log-Stufen) der Mikroorganismen geführt. Die Untersuchungen wurden mit *S. aureus* durchgeführt. [Hiddemann, 2010]

Tabelle 1: Experimentelle Vorgaben und Ergebnisse. Untersucht wurde das silberhaltige Pulver "Tg". Die Konzentration wird mit „c“ abgekürzt.

Zeit in h	Einwaage in mg	Volumen an PBPS in mL	Volumen an Vorkultur in μ L	c des Pulvers in der Suspension in g/L	c an Silber in der Suspension in g/L	Überlebende Keime an <i>E.coli</i> in KbE/mL	Überlebende Keime an <i>S.aureus</i> in KbE/mL
0	200 "Tg"	20	20	10	0,25	3640000	3540000
0	0 "K"	20	20	0	0	3640000	3540000
1,67	200 "Tg"	20	20	10	0,25	2155000	2630000
1,67	0 "K"	20	20	0	0	3986364	3245455
24	200 "Tg"	20	20	0	0	0	0
24	0 "K"	20	20	10	0,25	2250000	3245455

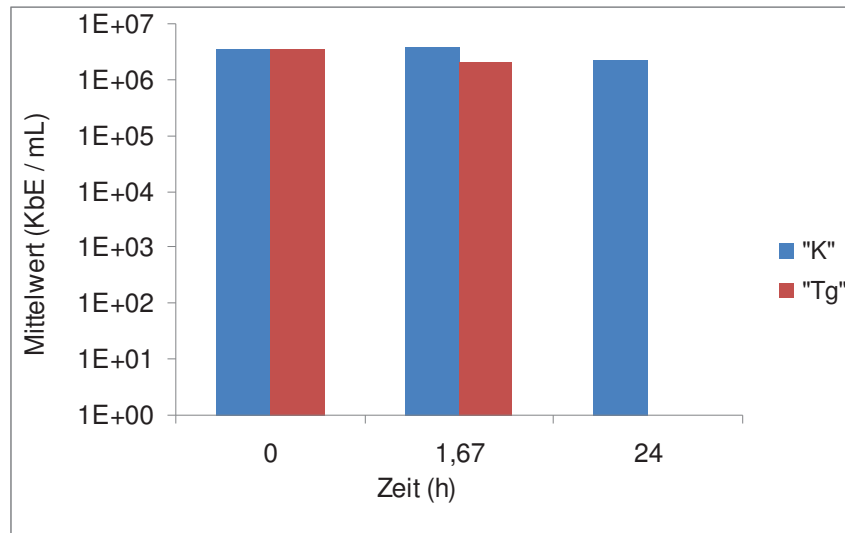


Abbildung 10: Zusammenfassung der Ergebnisse vorangegangener Experimente. Dargestellt ist die Wirksamkeit des silberhaltigen Pulvers („Tg“) im Gegensatz zu einer Kontrolle („K“). Nach 70 min (1,67 h) ist keine signifikante Veränderung zu erkennen. Nach 24 h erfolgte eine vollständige Abtötung (Reduzierung um 6 log-Stufen) durch das silberhaltige Pulver. Die Untersuchungen wurden mit *E. coli* durchgeführt. [Hiddemann, 2010]

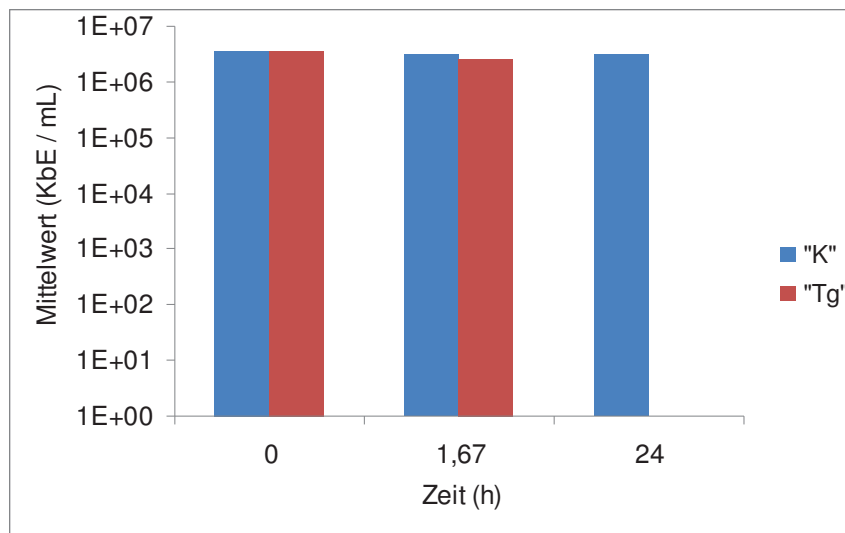


Abbildung 11: Zusammenfassung der Ergebnisse vorangegangener Experimente. Dargestellt ist die Wirksamkeit des silberhaltigen Pulvers („Tg“) im Gegensatz zu einer Kontrolle („K“). Nach 70 min (1,67 h) ist keine signifikante Veränderung zu erkennen. Nach 24 h erfolgte eine vollständige Abtötung (Reduzierung um 6-log Stufen) durch das silberhaltige Pulver. Die Untersuchungen wurden mit *S. aureus* durchgeführt. [Hiddemann, 2010]

Die vorangegangenen Untersuchungen haben gezeigt, dass in dem Einsatz von Silber in Beschichtungen durchaus ein Potential steckt, jedoch bedarf es noch weiterer Untersuchungen, um den aufgetretenen Problemen entgegenzuwirken. [Hiddemann, 2010]

Grundwerkstoffe, die in dieser Arbeit untersucht werden, sind Stahl (rost- und säurebeständig), Aluminium und Glas. Das am meisten verwendete Bindersystem ist gleichzeitig auch das, was im Idealfall später industriell genutzt werden soll. Es handelt sich hierbei um ein Sol-Gel-System. Es sind die Unterschiede mit Zusatz von silberhaltigem Pulver und ohne zu untersuchen, sowie den Effekt durch eine Anrauhung der Oberfläche zu bestätigen. Zudem werden unterschiedliche Konzentrationen in der Beschichtung an antimikrobiellem Pulver eingesetzt. Untersucht wird darüber hinaus, welchen Einfluss die Art und Weise des Einbringens des Pulvers in das Sol-Gel-System hat, also dispergiert oder vermahlen. Des Weiteren soll als weiteres Bindersystem ein Lacksystem untersucht werden, um den Einfluss unterschiedlicher Bindersysteme deutlich zu machen und zu verstehen.

2.2 Material & Methoden

Bakterienstämme

Die Mikroorganismen wurden von der Deutschen Sammlung für Mikroorganismen und Zellkulturen, Braunschweig (DSMZ; <http://www.dsmz.de/>) bezogen. Die DSM- Nr. für *E. coli* ist 498 und für *S. aureus* 1104. Die Stämme werden gefriergetrocknet geliefert und sind bei 4 °C lagerbar.

Chemikalien wurden von folgenden Anbietern bezogen:

Ethanol (96 % vergällt) und Caso Agar wurden von Roth/ Karlsruhe bezogen. Nutrient broth (No. 2) wurde von Oxoid / Basingstoke (Hampshire, England) geliefert und Plate Count Agar von Merck / Darmstadt. Lecithin wurde von Lipoid / Ludwigshafen bezogen und KH_2PO_4 , sowie Natriumchlorid von Applichem / Darmstadt.

Folgende Lösungen wurden vorbereitet:

SCDLP broth zum Abspülen der Keime von den Prüfkörpern: 1 g Lecithin wird in ca. 40 mL dest. Wasser mit Hilfe von Ultraschall gelöst. 30 g Caso Agar werden in ca. 800 mL gelöst, mit dem Lecithin versetzt und zu 1000 mL aufgefüllt. Anschließend wird die Lösung in eine Glasflasche überführt und autoklaviert (20 min, 121 °C). *Phosphate buffer solution* (PBS) zum Herstellen einer phosphate buffered physiological saline: 34 g Potassiumdihydrogenphosphate werden in 500 mL dest. Wasser gelöst und der pH- Wert wird mit NaOH auf 6,8 – 7,2 (25 °C) eingestellt. Anschließend wird die

Lösung auf 1000 mL aufgefüllt, in eine Glasflasche gefüllt und autoklaviert (s.o). *Phosphate buffered physiological saline* (PBPS) als Lösung in den Reagenzgläsern zum Erstellen von Verdünnungsreihen: 6,8 g NaCl werden eingewogen, in 799 mL dest. Wasser gelöst und mit 1 mL PBS versetzt, zu je 9 mL in Reagenzgläser gefüllt und autoklaviert (s.o.).

Folgende Medien wurden vorbereitet:

Nutrient broth (NB; Nährbouillon) zum Ansetzen der Vorkulturen: laut Herstellerangaben; *Plate Count Agar* zur Bestimmung der Keimzahl: laut Herstellerangaben.

Alle angewandten Techniken und alle Vorgehensweisen sowie die Herstellung aller Medien wurden dem JIS Z 2801:2000 entnommen.

Es werden Experimente mit verschiedenen Prüfkörpern durchgeführt. Die Prüfkörper, die mit der Beschichtung ohne antimikrobielles Pulver überzogen sind, werden als „beschichtet“ und die Prüfkörper, die das Silberpulver in der Beschichtung enthalten, als „aktiv“ bezeichnet. Die „aktive“ Beschichtung besteht jeweils aus einem Bindersystem und dem Silberpulver. Des Weiteren wurden „unbeschichtete“ und auch „angeraute“ (#) Prüfkörper in den Experimenten verwendet. Die Anrauhung wurde von Hand durchgeführt, sodass sie nicht reproduzierbar ist.

Zur Gesamtkeimzahlbestimmung der Vorkulturen von *E. coli* und *S. aureus* werden diese zunächst wie folgt angesetzt. Nach der Autoklavierung wird die „Nutrient Broth“ mit einer Impföse mit *E. coli* und *S. aureus* angeimpft. Die angeimpften Lösungen werden dann 18 h bei 36 °C und 120 rpm geschüttelt. Anschließend werden Verdünnungsreihen erstellt und je 1 ml der jeweiligen Verdünnungsstufe auf eine Petrischale gegeben, mit 15 – 20 ml sterilem „Plate Count Agar“ begossen und 48 h im Brutschrank inkubiert. Anschließend können die Keime wie gewohnt ausgezählt werden.

Für die Untersuchung der Prüfkörper nach JIS Z 2801:2000 werden die Vorkulturen von *E. coli* und *S. aureus* wie beschrieben angesetzt. Die Kulturen wiesen Zelldichten von ca. 10^9 KbE / mL auf. Im darauf folgenden Schritt erfolgt die 10^4 fache Verdünnung der Kulturen mit steriler PBPS, um eine Zelldichte von 10^5 KbE / mL zu erreichen. 25 cm² unbehandelte Metallprüfkörper (Schichtdicke: 2 mm; Fa. Weber Maschinenbau) werden

in einer 9 cm Standard Kunststoffpetrischale jeweils mit 1 mL¹ verdünnter Vorkultur überschichtet; die Flüssigkeit wird anschließend mit einer 16 cm² Kunststofffolie (werksteril; Firma Toppits [„2 in 1 - Folie“]) abgedeckt. Abbildung 12 soll einen ungefähren Versuchsaufbau zeigen. Nach keiner und 24 h Inkubation werden zu den Prüfkörpern mit der Kunststoffabdeckung 20 mL sterile SCDLP-Lösung hinzugefügt und 30 min bei 55 rpm und RT in der Petrischale geschüttelt. Anschließend wird die Lebendkeimzahl entsprechend dem Standard bestimmt. Alle Datenpunkte werden in Doppelbestimmung ermittelt und anschließend zu einem Mittelwert zusammengefasst. [JIS Z 2801:2000, 2000]

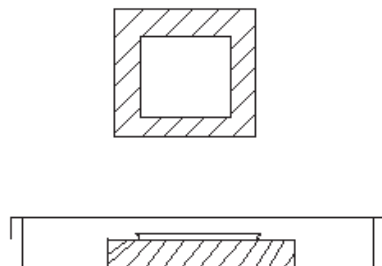


Abbildung 12: Skizzierter Versuchsaufbau; Prüfkörper mit einer Folie abgedeckt, Draufsicht (oben); Prüfkörper in einer Petrischale und mit einer Folie abgedeckt, Seitenansicht (unten)

Zur Untersuchung der antimikrobiell wirksamen Bestandteile der Beschichtungen wurde das silberhaltige Pulver untersucht. Es werden die Vorkulturen von *E. coli* und *S. aureus* wie bereits beschrieben angesetzt. Danach werden die entsprechenden Massen auf Wägebapier eingewogen und in Petrischalen bzw. Erlenmeyerkolben ($V = 250$ mL) überführt. In die Petrischalen kommen 20 mL und in die Erlenmeyerkolben 100 mL PBPS hinzu. Die einzelnen Werte sind in Tabelle 2 aufgeführt. Anschließend werden die Petrischalen mit je 20 μ L der Vorkultur und die Erlenmeyerkolben mit je 100 μ L der Vorkulturen angeimpft. Die Erlenmeyerkolben werden bei RT und 160 rpm in einem Schüttler und die Petrischalen auf einem Schüttler der IKA- Werke (IKA® VIBRAX VXR basic) mit speziellem Aufsatz (Typ VX 2E) bei 500 rpm und ebenfalls RT 24 h lang geschüttelt. Danach werden Verdünnungsreihen erstellt und die Keimzahl wie bereits beschrieben bestimmt.

¹ Abweichung zum verwendeten Standard. 0,4 mL waren nicht ausreichend, ein nicht quantifizierbarer aber deutlicher Wasserverlust war zu beobachten, was zur Verfälschung der Ergebnisse führte.

Tabelle 2: Versuchsanweisung zum Herstellen der Konzentrationsreihe des silberhaltigen Pulvers. Die Konzentration an Silber entspricht nicht der Konzentration an freien Silberionen in der Lösung, sondern dem Silberanteil in dem Pulver in der Suspension.

Einwaage in mg	Volumen an PBPS in mL	Volumen an Vorkultur in μL	Konzentration des Pulvers in der Suspension in g/L	Konzentration an Silber in der Suspension in g/L
200	20	20	10	0,25
160	20	20	8	0,2
80	20	20	4	0,1
20	20	20	1	0,025
20	100	100	0,2	0,005
10	100	100	0,1	0,0025
0	20	20	0	0

2.3 Ergebnisse & Diskussion

Dieses Kapitel beschreibt und bewertet die Ergebnisse aus den Untersuchungen zur antimikrobiellen Wirksamkeit der Silberbeschichtung. Dabei wurden Abtötungsversuche durchgeführt, bei denen der Einfluss von Bindersystemen und Grundwerkstoffen auf die antimikrobielle Wirkung untersucht wurde. Im Rahmen der Experimente wurden verschiedene Grundwerkstoffe, Bindersysteme und verschiedene Testkeime betrachtet.

Aufbauend auf die bereits bekannten Vorergebnisse, ist ein Versuch durchgeführt worden, bei dem das silberhaltige Pulver (TROVO®guard B-K1-5), in unterschiedlichen Konzentrationen in PBPS, auf seine Wirksamkeit gegen *S. aureus* und *E. coli* überprüft wurde. In Tabelle 3 Tabelle 4 sind alle bekannten Daten dieses Experiments tabellarisch aufgelistet. Aus Abbildung 13 geht hervor, dass ab einer Konzentration von 0,2 g/L des silberhaltigen Pulvers in PBPS eine starke bis vollständige Abtötung der Keime auftritt. Bei den Ergebnissen mit *S. aureus* fällt auf, dass die Keimzahl in der Lösung ohne Pulverzusatz erheblich niedriger ist. Dies kann auf ungenaues Pipettieren beim Animpfen oder auch bei der Probenentnahme zurückzuführen sein. Zu erkennen ist weiterhin, dass die Mikroorganismen different sensitiv auf das silberhaltige Pulver reagieren. *E.coli* (E.c.) wird schon bei einer Konzentration von 1 g/L des silberhaltigen Pulvers in PBPS vollständig abgetötet, *S. aureus* (S.a.) hingegen zeigt bei dieser Konzentration ein vermindertes Wachstum, eine vollständige Reduzierung der Keime tritt erst bei 10 g/L auf. Der Silbergehalt in der Suspension wurde theoretisch aus dem Gehalt an Pulver und dem darin enthaltenen Silber errechnet. Es ist also der Silbergehalt im Pulver in der Lösung gemeint und nicht

der Gehalt an Silber, der gelöst vorliegt. Ein gelöster Anteil an Silber in der Lösung müsste durch Analyseverfahren festgestellt werden.

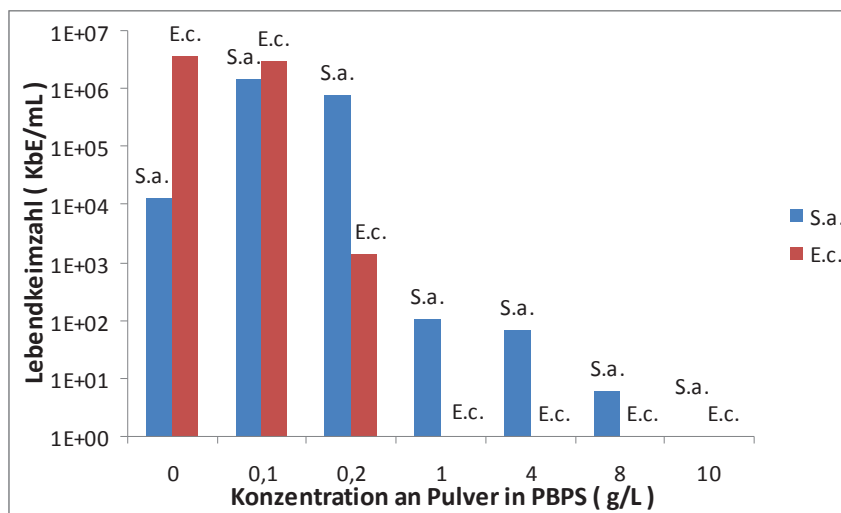


Abbildung 13: Überlebende Keime nach 24 h schütteln in silberhaltigem Pulver. Es wird deutlich, dass bei einer Konzentration des Pulvers in der PBPS, die größer ist als 0,2 g/L, die Keimzahl stark bis vollständig minimiert wird.

Tabelle 3: Ergebnisse des untersuchten silberhaltigen Pulvers mit E. coli nach 24stündigem Schütteln. Es wird deutlich, dass unter einer Konzentration von 1 g/L Pulver in der PBPS- Lösung die Keimzahl ansteigt. Dargestellt ist außerdem die mit dem Pulver eingebrachte Menge an Silber in der Lösung.

Einwaage in mg	Volumen an PBPS in mL	Volumen an Vorkultur in µL	Konzentration des Pulvers in der Suspension in g/L	Konzentration an Silber in der Suspension in g/L	Überlebende Keime nach 24 h in KbE/mL
200	20	20	10	0,25	0
160	20	20	8	0,2	0
80	20	20	4	0,1	0
20	20	20	1	0,025	0
20	100	100	0,2	0,005	1384
10	100	100	0,1	0,0025	2945455
0	20	20	0	0	3740909

Tabelle 4: Ergebnisse des untersuchten silberhaltigen Pulvers mit *S. aureus* nach 24stündigem Schütteln. Es wird deutlich, dass unter einer Konzentration von 1 g/L Pulver in der PBPS- Lösung die Keimzahl ansteigt. Dargestellt ist außerdem die mit dem Pulver eingebrachte Menge an Silber in der Lösung.

Einwaage in mg	Volumen an PBPS in mL	Volumen an Vorkultur in µL	Konzentration des Pulvers in der Suspension in g/L	Konzentration an Silber in der Suspension in g/L	Überlebende Keime nach 24 h in KbE/mL
200	20	20	10	0,25	0
160	20	20	8	0,2	6
80	20	20	4	0,1	70
20	20	20	1	0,025	108
20	100	100	0,2	0,005	786000
10	100	100	0,1	0,0025	1468182
0	20	20	0	0	13125

Zusammenfassend zu diesem Experiment lässt sich sagen, dass es gelungen ist eine Konzentrationsreihe zu erstellen, die Auskunft darüber gibt, ab welcher Konzentration das Pulver in PBPS wirksam ist. Daraus, dass eine Konzentrationserhöhung des Pulvers eine kontinuierlich steigende Abtötung der Mikroorganismen bewirkt, lässt sich schlussfolgern, dass auch die Konzentration an freien Silberionen in der Suspension steigt. Nur die Silberionen in Lösung bewirken eine Abtötung der Bakterien. Sind diese Annahmen korrekt, dann werden die Silberionen aus dem Pulver nach und nach verbraucht. Es stellt sich die Frage, wie lange der antimikrobielle Effekt anhält und was dies für die Praxis bedeutet. Trotz des gelungenen Experiments, bleibt eine Übertragung der Ergebnisse auf die Anwendung in einer Beschichtung schwierig.

Weitere Experimente, die mit unterschiedlichen Beschichtungssystemen und verschiedenen Grundwerkstoffen durchgeführt wurden, sollen im Folgenden zusammenfassend dargestellt und anschließend diskutiert werden. Die mit „aktiv“ bezeichneten Prüfkörper wurden mit der silberhaltigen Beschichtung versehen. Die eingesetzten Grundwerkstoffe sind rost- und säurebeständiger Stahl (Metallprüfkörper, kurz MetallPK), Glas (GlasPK) und Aluminium (AluPK).

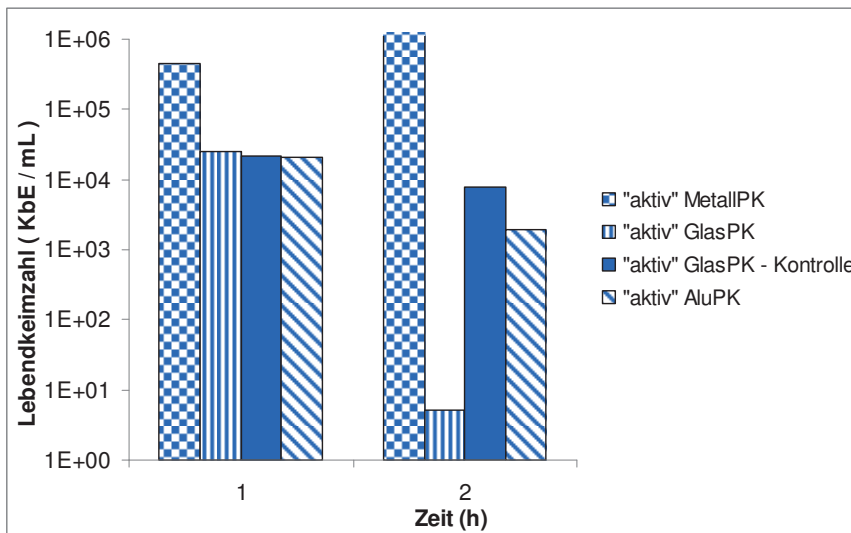


Abbildung 14: Lebendkeimzahl von *E. coli* durch Beeinflussung verschiedener Grundwerkstoffe. Nachdem in vorangegangenen Experimenten die „aktive“ Beschichtung auf Metall keine Wirkung gezeigt hat, wurde der Einfluss von Grundwerkstoffen getestet. Es zeigte sich, dass die Beschichtung auf Glas wirksam war (Reduzierung um 4 log-Stufen), was jedoch durch ein Folgeexperiment nicht bestätigt werden konnte. Auch bei dem Grundwerkstoff Aluminium zeigte die Beschichtung leichte Wirksamkeit (Reduzierung um 1 log-Stufe), was aber nicht mit Sicherheit auf die Beschichtung zurückzuführen ist.

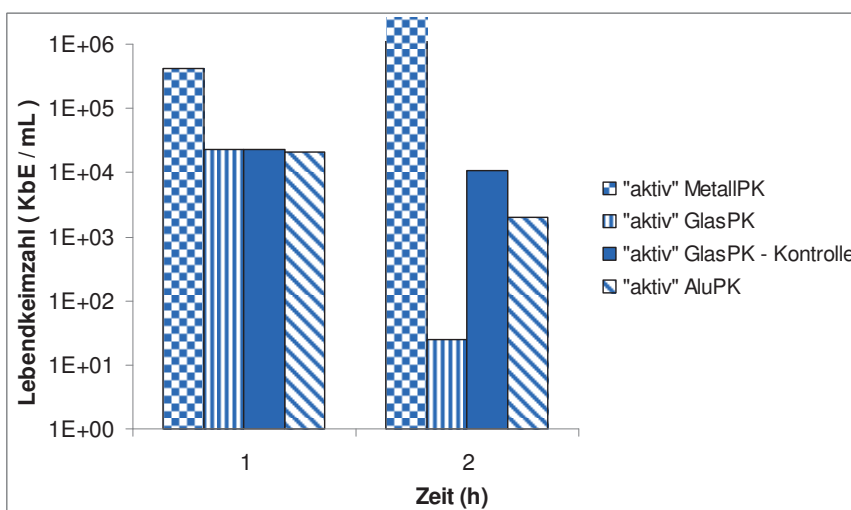


Abbildung 15: Lebendkeimzahl von *S. aureus* durch Beeinflussung verschiedener Grundwerkstoffe. Nachdem in vorangegangenen Experimenten die „aktive“ Beschichtung auf Metall keine Wirkung gezeigt hat, wurde der Einfluss von Grundwerkstoffen getestet. Es zeigte sich, dass die Beschichtung auf Glas wirksam war (Reduzierung um 3 log-Stufen), was jedoch durch ein Folgeexperiment nicht bestätigt werden konnte. Auch bei dem Grundwerkstoff Aluminium zeigte die Beschichtung leichte Wirksamkeit (Reduzierung um 1 log-Stufe), was aber nicht mit Sicherheit auf die Beschichtung zurückzuführen ist.

Nachdem in vorangegangenen Experimenten die „aktive“ Beschichtung auf Metall keine Wirkung gezeigt hat, wurde der Einfluss von Grundwerkstoffen getestet. Abbildung 14 und Abbildung 15 zeigen die Lebendkeimzahlen von *E. coli* und *S. aureus*. Es zeigte sich, dass die Beschichtung auf Glas wirksam ist (Reduzierung um 3 bzw. 4 log-Stufen), was jedoch durch ein Folgeexperiment nicht bestätigt werden konnte („aktiv“ GlasPK – Kontrolle). Auf Grund des nicht wiederholbaren Nachweises der antimikrobiellen Wirksamkeit, kann man davon ausgehen, dass entweder Fehler bei der Durchführung des Experiments gemacht wurden oder es zu einer Art Wirkverlust gekommen ist. Auch bei dem Grundwerkstoff Aluminium zeigte die Beschichtung leichte biozide Tendenzen (Reduzierung um 1 log-Stufe), jedoch ist dieses Ergebnis kritisch zu betrachten. Untersuchungen mit unbeschichteten Aluminiumprüfkörpern haben gezeigt, dass das Aluminium zu einer Reduzierung der Flüssigkeit beiträgt, was die Mikroorganismen auf Grund von Wassermangel tötet. Dieser Effekt ist auch bei beschichteten Aluminiumprüfkörpern nicht vollständig ausgeschlossen.

Durch diese Ergebnisse wurde nicht bestätigt, dass der Grundwerkstoff einen signifikanten Einfluss auf die Wirksamkeit der silberhaltigen Beschichtung hat. Vielmehr zeigt es sich, dass Überlegungen hinsichtlich der Zusammensetzung und der Art und Weise, wie die Beschichtung gleichmäßig vermengt werden kann, angestellt werden sollten.

In Abbildung 16 und Abbildung 17 ist die Abtötung von *E. coli* und *S. aureus* durch Beeinflussung verschiedener Bindersysteme und Einarbeitungsarten dargestellt. Verwendete Bindersysteme sind ein Lacksystem und ein Sol-Gel-System. Das Lacksystem wird unter dem Namen Ilaflon Resist K2 geführt und wurde modifiziert. Aus den Abbildungen geht hervor, dass eine Abtötung der Keime bei dem Lacksystem stattgefunden hat. Es zeigen sich Mortalitätsraten bis zu 100 % (entspricht 4 bzw. 5 log-Stufen). Anhand der Rohdaten ist erkennbar, dass beim silberhaltigen Lacksystem (Abbildung 16) eine 100%ige Abtötung bei 2 von 3 Prüfkörpern auftrat, was die hohe Standardabweichung bei den Werten nach 24 h erklärt. Es stellt sich die Frage, ob sich das Pulver nicht gleichmäßig innerhalb des Beschichtungssystems verteilt hat, sodass ein Prüfkörper ohne antimikrobiellen Wirkstoff beschichtet wurde oder ob es andere Gründe für diese Unregelmäßigkeit gibt.

Vorhergehende Experimente, die eine abtötende Tendenz nach Anrauhung der Oberfläche zeigten, konnten nicht bestätigt werden. Bei Untersuchungen mit *S. aureus* hat lediglich bei einem von drei Prüfkörpern eine Abtötung um eine Zehnerpotenz stattgefunden, was durch die dargestellte Standardabweichung erkennbar wird. Allerdings kann diese Reduzierung nicht eindeutig dem antimikrobiellen Effekt zugeordnet werden, da messtechnische Fehler nicht ausgeschlossen sind. Verglichen damit hat der gleiche Versuch mit einem anderen Testkeim (*E. coli*) die Erhöhung der Keimzahl gezeigt. Diese Ergebnissen gleichen den bereits im Zuge eines

Industriesemesters erhaltenen (siehe Punkt 2.1). Eine plausible Erklärung wurde bisher nicht gefunden. Überlegungen gehen dahin, dass eventuell durch das verwendete entionisierte Wasser trotz Autoklavierung noch Nährstoffe vorhanden sind, die die Bakterien nutzen können. Da der Effekt allerdings nicht bei allen Experimenten auftritt, scheint dieses unwahrscheinlich. Wiederholungen der Experimente konnten aus zeitlichen Gründen nicht durchgeführt werden, sind aber empfehlenswert. Bei dem Versuch die unterschiedliche Einbringung (vermahlen oder dispergiert) des silberhaltigen Pulvers in das Sol-Gel-System zu testen, wurden keine signifikanten Unterschiede deutlich, sodass ein Verständnis der schwankenden Ergebnisse noch ausbleibt. Lediglich bei dem Experiment mit *S. aureus* und dem dispergiert eingebrachten silberhaltigen Pulver („aktiv – dispergiert“) hat eine Keimzahlverminderung bei einem von drei Prüfkörpern um eine log-Stufe stattgefunden, was die leicht vergrößerte Standardabweichung erklärt. Außerdem wurde bei der Untersuchung der Prüfkörper mit dem durch Vermahlung in das Beschichtungssystem eingebrachten silberhaltigen Pulver („aktiv – vermahlen“) bei dem Testkeim *E. coli* eine unerklärliche Keimzahlerhöhung deutlich. Dieser Effekt war auch bei je einem von drei Prüfkörpern bei den „aktiven – dispergierten“ Prüfkörpern zu beobachten. Aus zeitlichen Gründen konnten keine Wiederholungen der Versuche stattfinden, welche in jedem Fall empfehlenswert sind. Des Weiteren wurde zum Vergleich zu Silber Kupfer (Cu) verwendet. Kupfer ist ebenfalls ein antimikrobiell wirksamer Stoff und könnte in Zukunft als Alternative näher betrachtet werden. Die Lackbeschichtung mit kupferhaltigen Wirkkomponenten hat ebenfalls eine 100%ige Abtötung (entspricht 4 bzw. 5 log- Stufen) der Mikroorganismen bewirkt. Somit bleibt die Frage offen, was genau die Wirksamkeit bei Anwendung eines Sol-Gel-Systems behindert und bei einem Lacksystem zulässt. Die Vermutung, dass beim Sol-Gel-System die wirksamen Bestandteile eingeschlossen sind erscheint weiterhin als richtungweisend und sollte Anstoß für weitere Untersuchungen geben.

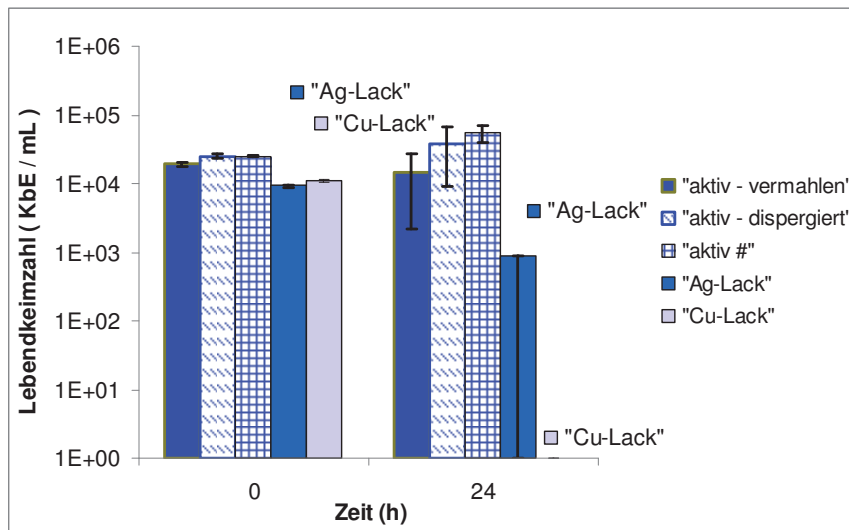


Abbildung 16: Lebendkeimzahl von *E. coli* durch Beeinflussung verschiedener Bindersysteme und Einarbeitungsarten. Zu sehen ist, dass eine Abtötung der Keime bei beiden Lacksystemen stattgefunden hat. Als Vergleich zu Silber wurde Kupfer („Cu-Lack“) verwendet. Es zeigen sich beim Lack Mortalitätsraten bis zu 100 % (entspricht 5 log–Stufen).

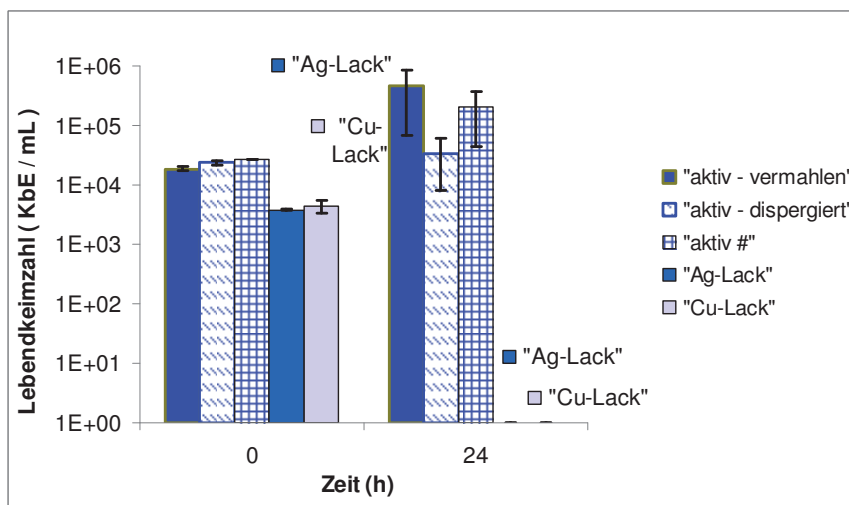


Abbildung 17: Lebendkeimzahl von *S. aureus* durch Beeinflussung verschiedener Bindersysteme und Einarbeitungsarten. Zu sehen ist, dass eine Abtötung der Keime bei beiden Lacksystemen stattgefunden hat. Als Vergleich zu Silber wurde Kupfer („Cu-Lack“) verwendet. Es zeigen sich beim Lack Mortalitätsraten von 100 % (entspricht 4 Log–Stufen).

Darüber hinaus sollten Überlegungen hinsichtlich der Haltbarkeit dieser Beschichtungen getätigt werden. Wie das Experiment mit dem TROVO®guard B-K1-5 zeigt, werden Silberionen zur Abtötung der Mikroorganismen verbraucht. Überträgt man diese Ergebnisse auf Beschichtungen, so müsste der gleiche Effekt nachweisbar sein. Ein Langzeitversuch zur Überprüfung der Lebensdauer einer solchen Beschichtung muss

durchgeführt werden, um gesicherte Daten zur Dauerwirksamkeit (unter Laborbedingungen) zu erhalten. Ein analoger Feldtest erscheint sinnvoll. Modulare Teile mit antimikrobiellen Beschichtungen zu versehen, könnte es ermöglichen einen einfachen Austausch nach Ablauf der bioziden Wirkung zu gewährleisten. Darüber hinaus könnten Bestrebungen hinsichtlich der Aufbereitung „verbrauchter“ Beschichtungen verfolgt werden. Die Praktikabilität sollte bei der Weiterentwicklung Berücksichtigung finden. Vor der Implementierung in der Lebensmittelindustrie müssen die lebensmittelrechtlichen Konsequenzen überprüft werden.

Eine andere Methode der Ergebnisauswertung ist im JIS Z 2801:2000 zu finden, wird in dieser Arbeit jedoch nicht verwendet. Es hat sich gezeigt, dass sich diese Methode nicht etabliert hat und ein Vergleich mit Ergebnissen anderer Arbeiten dadurch schwer nachvollziehbar ist. Die Methodik nach JIS Z 2801:2000 wird im Anhang beschrieben.

3 Beschichtungen mit Titandioxid

3.1 Theoretischer Hintergrund

Als weitere Möglichkeit Oberflächen antimikrobiell auszustatten wird im Folgenden ein TiO_2 -haltiges Beschichtungssystem vorgestellt.

Schon im Jahre 1968 entdeckte der japanische Forscher Akira Fujishima gemeinsam mit seinem Doktorvater Kenichi Honda den aktiven Reinigungseffekt von TiO_2 . Jedoch erst am Ende des 20. Jahrhunderts wurde der passive Reinigungseffekt des TiO_2 von weiteren japanischen Wissenschaftlern bemerkt. Sie entdeckten, dass an TiO_2 Wassertropfen zu einem dünnen Film zerfließen und sich so ein stetiger Fluss bildet, der Staub mit sich reißt. Die Schlussfolgerung daraus ist, dass die Superhydrophilie und die Photokatalyse zusammen ein ultimatives Reinigungsmittel ergeben. Nach diesen beiden Entdeckungen wurde auch die Industrie auf TiO_2 aufmerksam. [Donner, 2006] Das erste Produkt mit Titandioxid war eine Fliese mit photokatalytischem Effekt, die bis heute von der Firma Toto Ltd. vermarktet wird. Darüber hinaus findet Titandioxid mittlerweile vielerlei Anwendung. [Leydecker, 2008] Glasfassaden, Glasdächer und Solarelemente werden mit einer TiO_2 -haltigen Schicht überzogen, um einen selbstreinigenden Effekt zu erzielen. Schmutzpartikel werden von der Beschichtung zersetzt und anschließend vom Regen abgespült. [NADICO Technologie GmbH]

Die Wirkungsweise von Titandioxid lässt sich damit erklären, dass durch das Bestrahlen der TiO_2 - Oberfläche mit UV-A-Licht diese, besonders in der Anatasmodifikation (eine von drei in der Natur vorkommenden Kristallmodifikationen von TiO_2), als Katalysator für die Zersetzung chemischer Substanzen wirkt (Abbildung 18). Dabei werden durch das UV-Licht in Titandioxid freie Elektronen und Löcher, das heißt positiv geladene Fehlstellen, erzeugt. Gemeinsam mit Sauerstoffmolekülen aus der Luft bilden die entstandenen Elektronen negativ geladene Superoxidionen (O_2^-) und die Löcher mit Hydroxidationen im Wasser neutrale Hydroxylradikale, welche in der Atmosphäre zu den effektivsten Oxidationsmitteln zählen. Aus den Superoxidionen können weiterhin Wasserstoffperoxid (H_2O_2) und Peroxiradikale (HO_2^-) erzeugt werden. Diese entstandenen reaktiven Sauerstoffspezies (ROS) sind ein Zellgift für Mikroorganismen und zerstören organische Stoffe auf Oberflächen. [Benedix, 2008, S. 496-498]

Über die Frage, wie genau TiO_2 toxisch auf die Bakterienzelle einwirkt, wird viel diskutiert. Dabei haben sich drei Theorien besonders herauskristallisiert. Zum einen wird die direkte Oxidation des Coenzym A, welche die Atmung der Mikroorganismen

hemmt und somit unverzüglich zum Zelltod führt, als eine Variante betrachtet. Zum anderen wurde mit Hilfe der TEM (transmission electron microscopy) eine Änderung im Aufbau, sowie der Permeabilität der Zellwand beobachtet. Die dritte These behauptet, dass die Zellen durch Schäden an der Zellwand, gefolgt von Schädigung der Cytoplasmamembran abgetötet werden. Einig sind sich alle, dass für eine Abtötung der Mikroorganismen durch Titandioxid nicht nur UV-Licht eingesetzt werden muss, sondern auch ausreichend Feuchtigkeit vorhanden sein muss. [Page, 2008] Festzustellen bleibt, dass die Wirkung auf die Bakterienzelle im Detail noch nicht ausreichend erforscht ist, jedoch klar eine Abtötung von aktiviertem TiO_2 ausgeht.

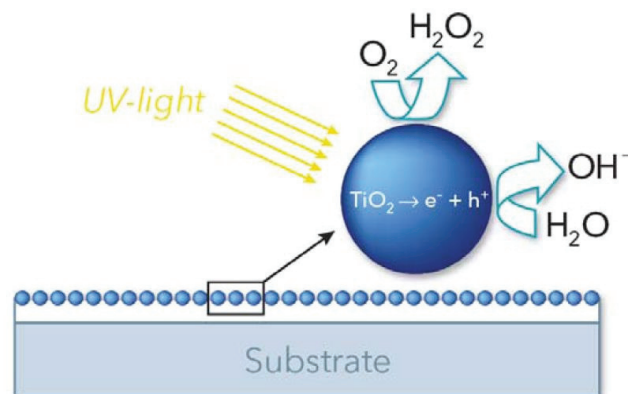


Abbildung 18: Photokatalytischer Effekt mit TiO₂-Nanopartikel. [Heubach und Angerer, 2007]

Meist werden photokatalytisch aktive Beschichtungen mit TiO₂ durch den so genannten Sol-Gel-Prozess hergestellt. Untersuchungen mit derartigen Beschichtungen zeigten unterschiedliche Ergebnisse. Zum einen erzielten diese Oberflächen ohne Nachbehandlung nicht den gewünschten Effekt. Erst nach Anätzung mit Flusssäure gelang es die photokatalytische Wirkung und somit eine Abtötung von $> 10^4$ KBE/mL zu erreichen. [Kühn/ Erdinger/ Pompe, 2004] In anderen Untersuchungen zeigten Ergebnisse, dass durch Aufbringen einer Titandioxidschicht auf Glas, Keimreduzierungen von 3 Zehnerpotenzen nach 4 h Bestrahlung mit UV-A-Licht möglich sind. [Schraml, 2008] Allerdings lassen sich die Ergebnisse nur schwer mit den hier vorliegenden vergleichen, da unterschiedliche Testkeime eingesetzt wurden und sich die Untersuchungsverfahren nicht gleichen.

Bei Anwendung in Innenräumen wirkt es sich nachteilig aus, dass das Wellenlängenspektrum künstlicher Beleuchtung kaum UV-A-Anteile enthält. Die photokatalytische Wirkung wird dadurch relativ gering gehalten. [Donner, 2006] Deshalb gehen Bestrebungen dahin Photokatalyse mit visuellem, statt mit UV-Licht zu betreiben. Dies würde einige Vorteile mit sich bringen. Zum einen gehört hierzu der Sicherheitsaspekt. Visuelles Licht ist im Vergleich zu UV-Strahlung sicherer, also

weniger gesundheitsgefährdend. Die Belastung mit UV-Licht im benötigten Maße kann beim Menschen zur Schädigung der Haut und der Augen führen, was den Einsatz von UV-Licht aktiviertem TiO_2 auf solche Bereiche einschränkt, vor denen der Mensch abgeschirmt werden kann. Hingegen erweitert mit visuellem Licht aktiviertes TiO_2 die Anwendung photokatalytischer Beschichtungen auf öffentliche Bereiche. Ein weiterer Vorteil ist, dass TiO_2 ein chemisch stabiles und inertes Material ist. Des Weiteren kann die biozide Wirkung an- und ausgeschaltet oder auch durch Regulierung der Strahlungsintensität limitiert werden. [Cheng et al., 2009] Betrachtet man die Effizienz der beiden Möglichkeiten, so bleibt festzustellen, dass die mit sichtbarem Licht zu aktivierenden Beschichtungen die effizienteren sind. Das Spektrum der Sonne, das auf der Erde ankommt enthält ca. 46% sichtbares Licht, hingegen aber nur 5% UV-Licht. Somit wird gezeigt, dass die Verschiebung der Wellenlänge in den visuellen Bereich mehr als nützlich ist. Außerdem wird es dadurch möglich auch im Innenraum derartige Beschichtungen effizient zu nutzen. [Wu, 2010] Die Schlüssellösung ist bisher Titandioxid zu dotieren, um nicht nur den UV-A-Anteil nutzen zu können, sondern auch weitere Bereiche des sichtbaren Lichtes. Anfänglich versuchte man es mit der Dotierung mit Platin, mittlerweile ist es gelungen Kohlenstoff und Stickstoff einzulagern, was den gleichen Erfolg bringt, jedoch wesentlich günstiger ist. [Donner, 2006] Studien zeigten, dass eine antimikrobielle Wirkung dotierten Titandioxids nachweisbar ist und sich die katalytischen und antimikrobiellen Eigenschaften je nach gewähltem Stoff unterscheiden. [Cheng et al., 2009]

Der wohl entscheidendste Vorteil im Einsatz von titandioxidhaltigen Beschichtungen im Vergleich zu silberhaltigen liegt darin, dass von dem TiO_2 nichts abgegeben wird und somit auch nichts in das Produkt gelangen kann. Damit wird die Diskussion über gesundheitliche Risiken nahezu umgangen.

3.2 Material & Methoden

Bakterienstämme

Die Mikroorganismen wurden von der Deutschen Sammlung für Mikroorganismen und Zellkulturen, Braunschweig (DSMZ; <http://www.dsmz.de/>) bezogen. Die DSM- Nr. für *E. coli* ist 498 und für *S. aureus* 1104. Die Stämme werden gefriergetrocknet geliefert und sind bei 4 °C lagerbar.

Chemikalien wurden von folgenden Anbietern bezogen:

Ethanol (96 % vergällt) und Caso Agar wurden von Roth/ Karlsruhe bezogen. Nutrient broth (No. 2) wurde von Oxoid / Basingstoke (Hampshire, England) geliefert und Plate Count Agar von Merck / Darmstadt. Lecithin wurde von Lipoid / Ludwigshafen

bezogen und KH_2PO_4 , sowie Natriumchlorid von Applichem / Darmstadt. Die Polymerlösung wurde von FEW Chemicals GmbH / Bitterfeld- Wolfen bezogen.

Folgende Lösungen wurden vorbereitet:

SCDLP broth zum Abspülen der Keime von den Prüfkörpern: 1 g Lecithin wird in ca. 40 mL dest. Wasser mit Hilfe von Ultraschall gelöst. 30 g Caso Agar werden in ca. 800 mL gelöst, mit dem Lecithin versetzt und zu 1000 mL aufgefüllt. Anschließend wird die Lösung in eine Glasflasche überführt und autoklaviert (20 min, 121 °C). *Phosphate buffer solution* (PBS) zum Herstellen einer phosphate buffered physiological saline: 34 g Potassiumdihydrogenphosphate werden in 500 mL dest. Wasser gelöst und der pH- Wert wird mit NaOH auf 6,8 – 7,2 (25 °C) eingestellt. Anschließend wird die Lösung auf 1000 mL aufgefüllt, in eine Glasflasche gefüllt und autoklaviert (s.o.). *Phosphate buffered physiological saline* (PBPS) als Lösung in den Reagenzgläsern zum Erstellen von Verdünnungsreihen: 6,8 g NaCl werden eingewogen, in 799 mL dest. Wasser gelöst und mit 1 mL PBS versetzt, zu je 9 mL in Reagenzgläser gefüllt und autoklaviert (s.o.).

Folgende Medien wurden vorbereitet:

Nutrient broth (NB; Nährbouillon) zum Ansetzen der Vorkulturen: laut Herstellerangaben; *Plate Count Agar* zur Bestimmung der Keimzahl: laut Herstellerangaben.

Alle angewandten Techniken und alle Vorgehensweisen sowie die Herstellung aller Medien wurden dem JIS Z 2801:2000 entnommen und den Experimenten entsprechend angepasst.

Es wurden Experimente mit verschiedenen Prüfkörpern durchgeführt. Die Prüfkörper, die mit der Beschichtung ohne TiO_2 -Pulver (KRONOS vlp 7000) überzogen sind, werden als „beschichtet“ und die Prüfkörper, die das TiO_2 -Pulver in der Beschichtung enthalten, als „ TiO_2 “ bezeichnet. Die „ TiO_2 “ Beschichtung besteht jeweils aus einem Bindersystem und dem TiO_2 -Pulver. Außerdem wurden noch „unbeschichtete“ und auch „angeraute“ (#) Prüfkörper in den Experimenten verwendet.

Die Gesamtkeimzahlbestimmung der Vorkulturen von *E. coli* und *S. aureus* erfolgte wie bereits in Punkt 2.2 beschrieben.

Die Vorbereitungen für die Experimente wurden in gleicher Art und Weise wie bei der Beschichtung mit Silber durchgeführt (siehe Punkt 2.2). Als signifikanten Unterschied zu den vorangegangenen Experimenten ist hier das Erfordernis von UV-Licht zu

nennen. Dafür wurde eine UV-Lampe (366 nm; 1,39 mW/cm²) über die zu bestrahlenden Prüfkörper positioniert (Abstand ca. 10 cm) und die Bestrahlungszeiten variiert, wie schematisch in Abbildung 19 zu sehen ist. Anschließend wurde zu den Prüfkörpern mit der Kunststoffabdeckung ebenfalls 20 mL sterile SCDLP-Lösung hinzugefügt und 30 min bei 55 rpm und RT in der Petrischale geschüttelt und die Lebendkeimzahl entsprechend dem Standard bestimmt. Alle Datenpunkte wurden in Doppelbestimmung ermittelt und anschließend zu einem Mittelwert zusammengefasst. [JIS Z 2801:2000, 2000] Die Kontrolle der Versuche wurde unter gleichen Bedingungen jedoch ohne Beleuchtung („dunkel“) getestet. Der Belichtungszustand „dunkel“ wurde durch Abdeckung mit einem Handtuch erzielt.

Zur Untersuchung des titandioxidhaltigen Pulvers (KRONOS vlp 7000) werden die Vorkulturen von *E. coli* und *S. aureus* wie bereits beschrieben angesetzt. Danach werden 0,02 g des Pulvers auf Wägepapier eingewogen und in Petrischalen überführt. Dazu kommen 20 mL PBPS. Anschließend werden die Petrischalen mit je 20 µL der Vorkultur angeimpft und bei RT auf einem Schüttler der IKA- Werke (IKA® VIBRAX VXR basic) mit speziellem Aufsatz (Typ VX 2E) bei 500 rpm 24 h lang unter einer UV-A-Lampe (Abstand: 10 cm; 366 nm; 1,39 mW/cm²) geschüttelt. Danach werden Verdünnungsreihen erstellt und die Keimzahl wie bereits beschrieben bestimmt. Die Kontrollen ohne „Kronos“ werden in gleicher Weise behandelt. Der Belichtungszustand „dunkel“ wird durch Realisierung des Experiments in einem Raum ohne Tageslicht und bei ausgeschalteter Deckenbeleuchtung erreicht.

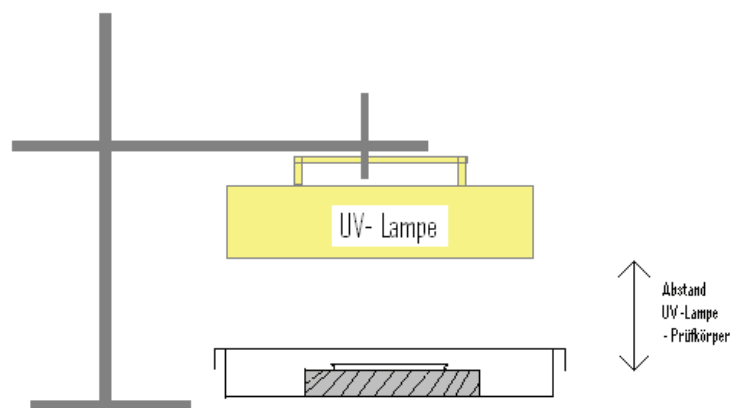


Abbildung 19: Skizzierter Versuchsaufbau; Prüfkörper in einer Petrischale mit Folie abgedeckt und unter einer UV-Lampe, Seitenansicht.

Weitere Untersuchungen werden mit einer Polymerlösung gemacht, die durch Entfärbung zum Nachweis von Radikalen dienen soll. Es wird eine Petrischale

genommen und eine unbestimmte Menge an Titandioxidpulver auf eine Hälfte der Schale gestreut. Im nächsten Schritt ist die Indikatorlösung so hinzu zu geben, dass ein Teil des Pulvers damit bedeckt ist sowie ein Teil der freien Seite der Schale. Die Petrischale mit dem Pulver wird unter eine neue UV-A-Licht-Lampe (Firma Osram; Osram Dulux L Blue UVA) (Abstand: 7 cm; 315...400 nm; 3,67 mW/cm²) gestellt und 10 min bestrahlt.

3.3 Ergebnisse & Diskussion

Dieses Kapitel beschreibt und bewertet die Ergebnisse aus den Untersuchungen zur antimikrobiellen Wirksamkeit der titandioxidhaltigen Beschichtung. Dabei wurden Abtötungsversuche durchgeführt, wobei der Einfluss von Grundwerkstoffen auf die antimikrobielle Wirkung untersucht wurde. Im Rahmen der Experimente wurden verschiedene Grundwerkstoffe, Bestrahlungsarten und verschiedene Testkeime betrachtet.

Die antimikrobielle Wirkung der durch die Sol-Gel-Methode hergestellten Beschichtung wurde durch eine Testmethode nach JIS Z 2801:2000 mit E. coli und S.aureus ermittelt. Dazu wurden die Testkeime auf den Prüfkörper aufgebracht und anschließend für definierte Zeitintervalle mit einem UV-Strahler (Abstand: 10 cm; 366 nm; 1,39 mW/cm²) belichtet. Die Abtötungsrate wurde durch eine Keimzahlbestimmung detektiert und als Diagramm dargestellt. Zum Vergleich der Beschichtungen wurde jeweils ein unbeschichteter („unbeschichtet“) oder auch ein beschichteter (ohne TiO₂) Prüfkörper untersucht. Beschichtungen, die TiO₂ enthalten, werden „TiO₂“ genannt, das Zeichen „#“ bedeutet eine Anrauhung des Prüfkörpers. Als Referenz wird eine Kontrolle ohne Belichtung („dunkel“) unter gleichen Bedingungen getestet.

Bei Betrachtung der Ergebnisse zeigt sich nach 20 sowie nach 30 min Bestrahlung mit UV-Licht (366 nm) keine antimikrobielle Wirkung der Titandioxidbeschichtung im Vergleich zur Kontrolle (Abbildung 20 und Abbildung 21). Auch ein höherer Anteil an TiO₂-haltigem Pulver (50 % statt üblich 10 %) in der Beschichtung konnte keine abtötende Wirkung erzeugen. Die vermutete Abdeckung der wirksamen Bestandteile durch Komponenten des Sol-Gel-Systems wurde durch Anrauhung der Oberfläche überprüft, jedoch erbrachte dies kein Eintreten einer bioziden Wirkung (Abbildung 22). Trotz dieses Ergebnisses wird die These, dass die wirksamen Bestandteile vom Sol-Gel-System umschlossen werden, als die wahrscheinlichste angesehen.

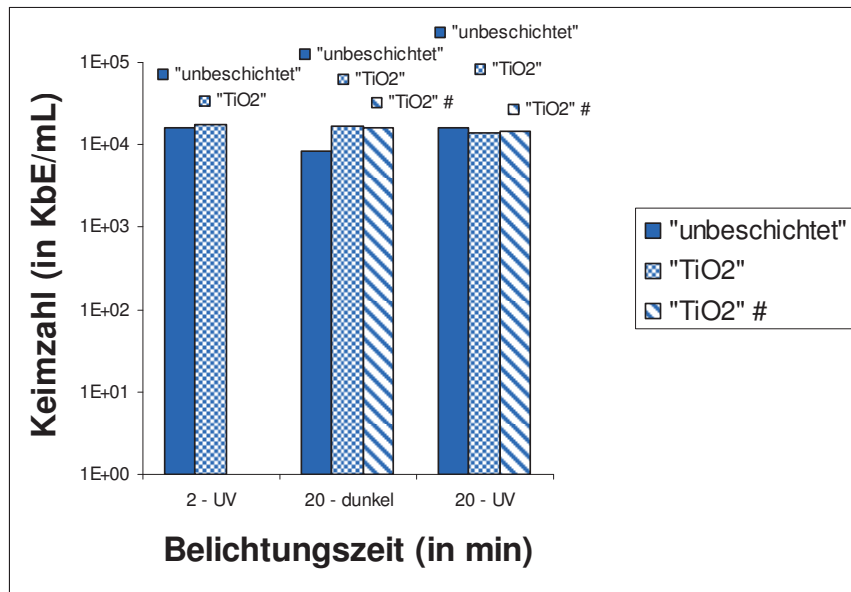


Abbildung 20: Lebendkeimzahl nach unterschiedlichen Bestrahlungszeiten mit UV-Licht (366 nm) verschiedener Prüfkörper. Als Testkeim wurde *E. coli* verwendet. Es ist keine Abtötung der Keime erkennbar. Bei der angerauten („TiO₂“ #) Beschichtung wurde auf eine 2minütige Bestrahlung verzichtet.

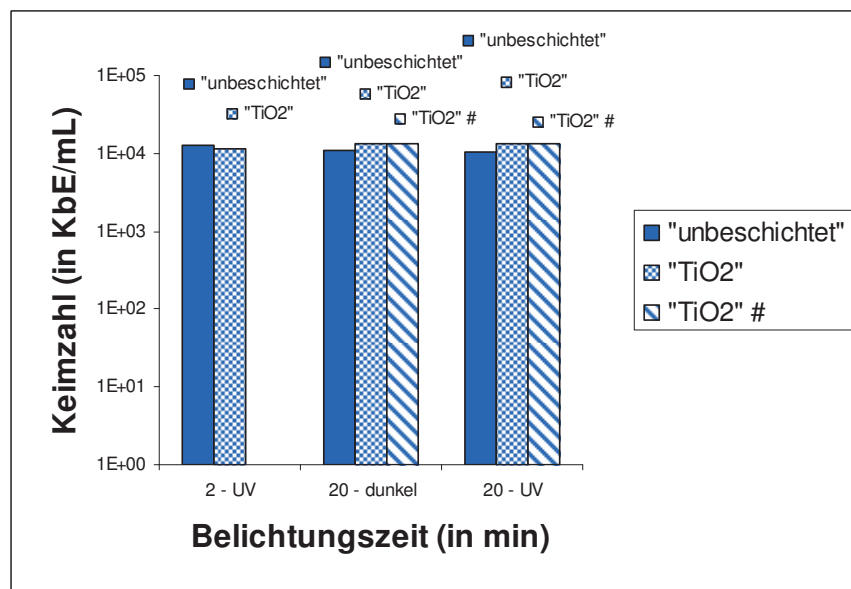


Abbildung 21: Lebendkeimzahl nach unterschiedlichen Bestrahlungszeiten mit UV-Licht (366 nm) verschiedener Prüfkörper. Als Testkeim wurde *S. aureus* verwendet. Es ist keine Abtötung der Keime erkennbar. Bei der angerauten („TiO₂“ #) Beschichtung wurde auf eine 2minütige Bestrahlung verzichtet.

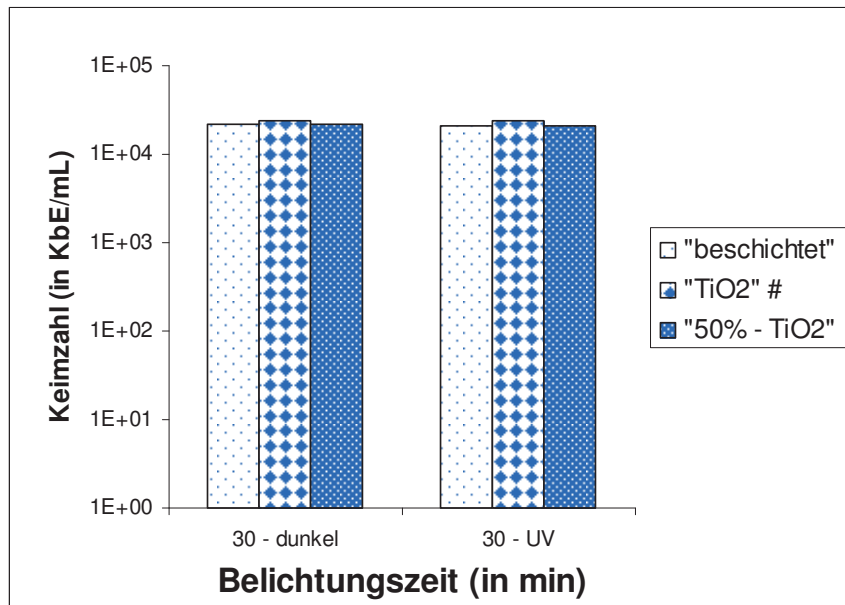


Abbildung 22: Lebendkeimzahl nach 30 min Bestrahlungsdauer mit UV-Licht (366 nm) verschiedener Prüfkörper. Als Testkeim wurde *E. coli* verwendet. Es ist keine Abtötung der Keime erkennbar.

Um die wirksamen Bestandteile der Beschichtung zu testen, wurde das titandioxidhaltige Pulver (KRONOS vlp 7000), wie zuvor das silberhaltige (TROVO®guard B-K1-5) (siehe Punkt 2.2 und 2.3), untersucht. Es wurde eine Bestrahlungsdauer von 30 min gewählt bei 366 nm ($1,39 \text{ mW/cm}^2$) und einem Abstand von 10 cm. Bei der zur Verfügung stehenden Lampe ist es möglich zwischen zwei verschiedenen Wellenlängen zu wählen, 254 nm oder 366 nm. Die Ergebnisse lassen keinen Hinweis auf eine antibakterielle Wirkung ausgehend vom Titandioxid zu (Abbildung 23). Um die Betriebsbereitschaft der UV-Lampe zu testen wurde ein erneuter Versuch mit dem titandioxidhaltigen Pulver durchgeführt, mit dem Unterschied, dass eine Wellenlänge von 254 nm verwendet wurde. Durch UV-C-Strahlung (100 – 280 nm) werden bei den Mikroorganismen die Aminosäuren und Nukleinsäuren geschädigt, was zum Tod der Zelle führt. Wie zu erwarten kam es bei dem Experiment sowohl bei der Kontrolle als auch bei dem titandioxidhaltigen Pulver zu einer vollständigen Abtötung der Keime. Dies lässt darauf schließen, dass die Abtötung vom kurzwelligen UV-Licht verursacht wurde und die UV-Lampe einsatzfähig ist (Abbildung 24). Es bleibt jedoch immer noch ein Rest Zweifel, dass die Lampe mit 366 nm vollends funktioniert.

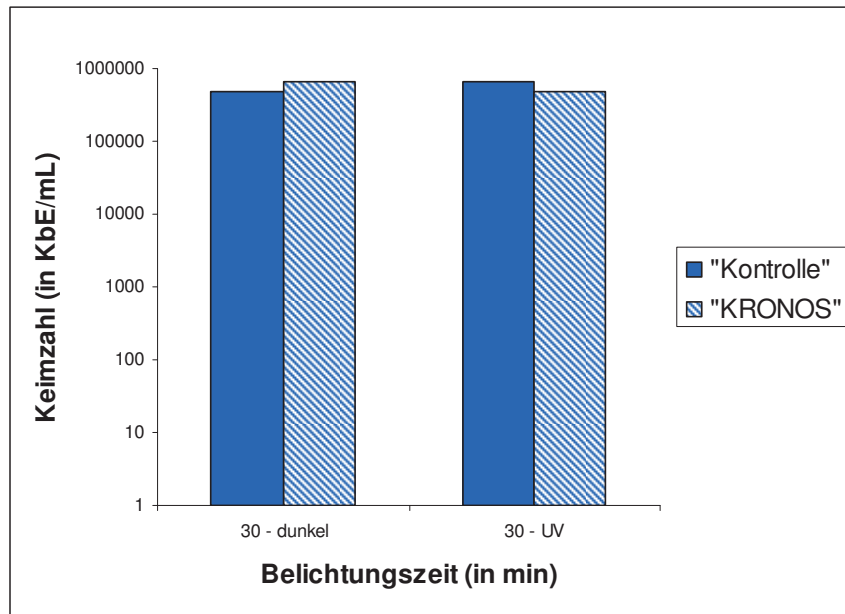


Abbildung 23: Lebendkeimzahl nach 30 min Bestrahlungsdauer mit UV-Licht (366 nm) verschiedener Prüfkörper. Als Testkeim wurde *E. coli* verwendet. Es ist keine Abtötung der Keime durch das Pulver erkennbar.

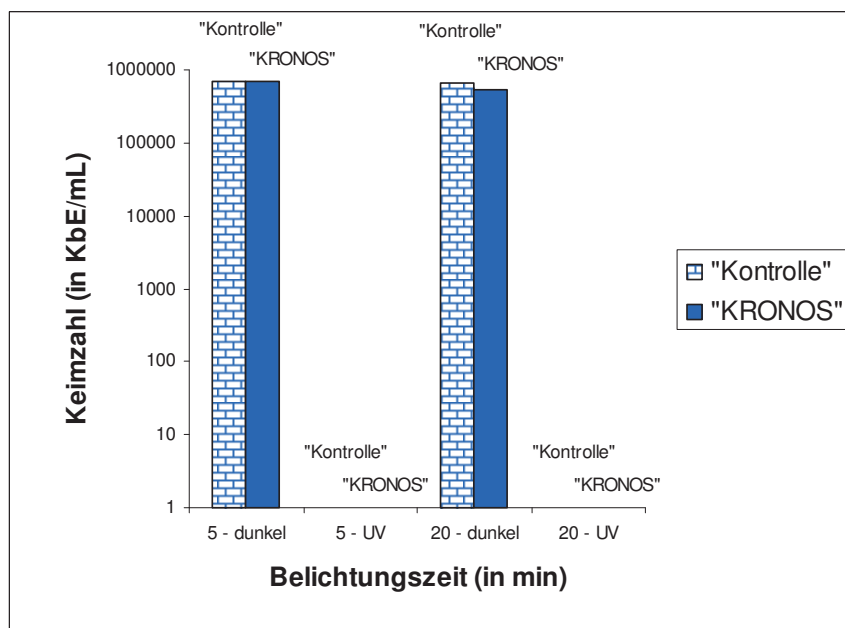


Abbildung 24: Lebendkeimzahl nach unterschiedlichen Bestrahlungszeiten mit UV-Licht (254 nm) verschiedener Prüfkörper. Als Testkeim wurde *E. coli* verwendet. Es ist eine Abtötung der Keime erkennbar. Da sowohl bei der Kontrolle, als auch bei dem Pulver die Keime vollständig abgetötet sind, ist das kurzwellige UV-Licht die wirksame Komponente des Experiments.

Das durchgeführte Experiment mit der Indikatorlösung zeigte einen Hinweis darauf, dass von dem titandioxidhaltigen Pulver photokatalytische Aktivität ausgeht (Abbildung 25). Nach einer Bestrahlungszeit von 10 min mit UV-Licht (Lampe: Osram Dulux L Blue UVA; Abstand: 7 cm; $3,67 \text{ mW/cm}^2$) kam es zu einer Verfärbung der Lösung von blau nach rot. Der Farbumschlag soll laut Literatur durch Radikale bewirkt werden. Als Indikator werden in der Lösung 0,15% des Farbstoffs 2,6-Dichlorphenol-indophenol (DCIP) verwendet. Das Natriumsalz dieses Farbstoffs ist ein dunkelgrüner Feststoff. Wässrige Lösungen des Salzes sind tiefblau. In sauren Lösungen nimmt der Farbstoff eine rote Farbe an. Der Hersteller der Indikatorlösung hat sich an den Vorgaben in der Literatur orientiert. [Mills, McGrady, 2007] [Mills et al., 2007] Weitere Experimente sollten unter gleichen Bedingungen und nach Möglichkeit mit genauen Mengenangaben, sowie unterschiedlichen Bestrahlungszeiten durchgeführt werden. Geklärt ist durch den Nachweis der Radikale nicht, ob die Aktivität ausreicht mikrobiologisches Wachstum zu inaktivieren. Das Experiment gibt keine quantitative Auskunft, lediglich wurde eine qualitative Bestimmung durchgeführt.

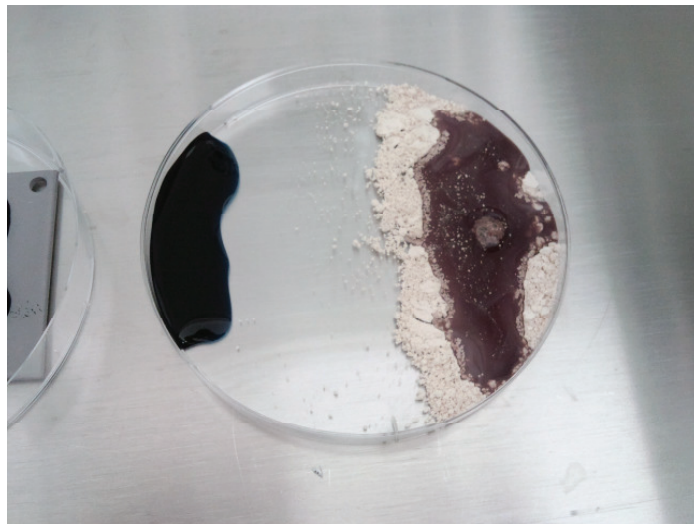


Abbildung 25: Deutliche Verfärbung der Indikatorlösung nach einer Bestrahlungsdauer von 10 min mit UV-A-Licht.

Alle erzielten Ergebnisse lassen deutlich werden, dass es sich als schwierig erweist eine abtötende Wirkung, ausgehend von Titandioxid, in Beschichtungen zu erzielen. Empfehlenswert ist es, Untersuchungen in gleicher Art und Weise wiederholt mit der neuen UV-A-Lampe durchzuführen, um sicherzustellen, dass nicht nur das Alter der verwendeten Lampe zu den bekannten Ergebnissen geführt hat. Darüber hinaus könnte Titandioxid, wie zuvor bereits Silber, in ein Lacksystem eingebracht und untersucht werden, um eventuelle Wirkverluste durch Einarbeitung in ein Sol-Gel-System zu überprüfen. Dabei sollte zunächst die UV-Beständigkeit des Lackes geprüft werden. Weitere Überlegungen sollten die Indikatorlösung, als eine Möglichkeit Beschichtungen

ohne großen mikrobiologischen Aufwand auf ihre prinzipielle Funktionalität hin zu überprüfen, mit einschließen. Detaillierte Untersuchungen, beispielsweise physikalische, welche Auskunft über die Hydrophilie und deren Veränderung geben, sowie andere Eigenschaften beleuchten, sollten zukünftig angestrebt werden. Auch die Strahlungsintensität und deren Einfluss kann Gegenstand weiterer Untersuchungen werden. Sinn und Zweck dieser weiteren Untersuchungen sollte zum einen die bessere Vergleichbarkeit mit in der Literatur erzielten Ergebnissen und zum anderen ein besseres Verstehen der ablaufenden Vorgänge sein.

4 Zusammenfassung und Ausblick

Das Ziel der vorliegenden Arbeit umfasste die Untersuchung der antimikrobiellen Wirksamkeit von silber- und titandioxidhaltigen Beschichtungen gegenüber *E. coli* und *S. aureus*. Es sollte besonderes Augenmerk auf den Einfluss von Bindersystemen und Grundwerkstoffen gelegt werden. Dabei wurden als Grundwerkstoffe Stahl (rost- und säurebeständig), Glas und Aluminium getestet. Als Bindersysteme kamen ein Sol-Gel-System und ein Lacksystem zum Einsatz. Physikalische oder mechanische Untersuchungen der Beschichtungen fanden aus zeitlichen Gründen nicht statt.

Im Rahmen dieser Arbeit konnte gezeigt werden, dass in der silberhaltigen Beschichtung Potential steckt, das durch Weiterentwicklung und weiterführende Untersuchungen ausgenutzt werden sollte. Nach 24 h Inkubation war eine Abtötung der Mikroorganismen durch die antimikrobiellen Bestandteile der Beschichtung (TROVO®guard B-K1-5, pulverförmig) von 5 Zehnerpotenzen nachweisbar. Eingearbeitet in ein Sol-Gel-System, konnte eine Abtötung von 3 bis 5 log-Stufen auf einem Glasprüfkörper erzielt werden, was allerdings in einem Kontrollexperiment nicht bestätigt werden konnte. Silberhaltiges Pulver in einen Lack eingebracht führte zur Reduzierung der Keime um 5 Zehnerpotenzen, was durch erneute Versuche überprüft werden sollte, um die Wirksamkeit zu bestätigen. Demzufolge ist ein Einfluss der Grundwerkstoffe auf die antimikrobielle Wirkung nicht ausgeschlossen, jedoch auch nicht eindeutig nachweisbar. Die Wahl des Bindersystems ist nachweislich entscheidend. Bisher gab es keine zufrieden stellenden Ergebnisse mit der Einarbeitung des silberhaltigen Pulvers in ein Sol-Gel-System, allerdings eindeutige Keimreduktionen bei Anwendung eines Lacksystems. Die Vermutung liegt nahe, dass die Silberionen nicht aus dem Sol-Gel-System austreten können, sozusagen eingeschlossen sind. Durch weiterführende Untersuchungen sollte herausgefunden werden, was diesen Unterschied zwischen der Wirkung des Sol-Gel- und des Lacksystems bedingt und wie der Inaktivierung der Silberhaltigen Bestandteile innerhalb der Sol-Gel-Beschichtung entgegengewirkt werden kann.

Durch die Versuche mit den TiO₂-haltigen Beschichtungen wurde deutlich, dass die Ergebnisse mit den in der Literatur erzielten nicht übereinstimmen (Abtötungen von >10⁴ KbE/mL) (siehe beispielsweise Blake et al. (1999), Kühn et al. (2004), Schraml (2008)). Es konnte kein antimikrobieller Effekt gezeigt werden, was jedoch an unterschiedlichen Faktoren liegen kann. Zum einen haben die Versuche mit Silber gezeigt, dass das Sol-Gel-System die Wirkung, wahrscheinlich durch Einbettung und Abschirmung der Wirkkomponenten, hemmt und zum anderen ist nicht sicher, dass die verwendete UV-Lampe einwandfrei funktioniert. Weder eine Anrauhung der Oberfläche

noch das Verwenden verschiedener Grundwerkstoffe (Stahl (rost- und säurebeständig), Glas) oder auch die Erhöhung des Anteils an Titandioxidpulver innerhalb der Beschichtung konnte eine Keimreduzierung hervorrufen. Zu empfehlen ist, die Versuche mit der neuen UV-Lampe (Osram Dulux L Blue UVA) zu wiederholen und auch das titandioxidhaltige Pulver in das gleiche Lacksystem wie das silberhaltige Pulver einzuarbeiten.

Hilfreich wäre, eine Art Schnelltest zu finden, um die Aktivität der Beschichtungen einfacher zu überprüfen. Dies würde den langen Weg über die Mikrobiologie erheblich verkürzen. Anfänge gibt es im Hinblick auf Titandioxid. Eine Indikatorlösung kann dazu benutzt werden, frei werdende Radikale nachzuweisen. Dies ist lediglich eine qualitative Analyse und gibt keine quantitativen Ergebnisse. Auch ist damit nicht sichergestellt, dass die nachzuweisenden Radikale genügend Potential besitzen, mikrobiologisch nachweisbare Reduzierungen der Keimzahl zu erwirken. Als richtungweisendes Beispiel sollte es allerdings im Auge behalten werden. Für eine silberhaltige Beschichtung wäre eine Analyse denkbar, die die frei werdenden Silberionen misst, wie z.B. die AAS (Atomabsorptionsspektroskopie). Dazu wäre vorstellbar, einen Prüfkörper für eine definierte Zeit in eine definierte Menge an PBPS zu legen und anschließend die Silberionen quantitativ zu detektieren. Da das Verfahren der AAS nicht ohne Erfahrung und die notwendigen Gerätschaften durchführbar ist, würde zunächst eine rein qualitative Methode ausreichen, wurde bisher aber noch nicht für so geringe Konzentrationen an Silber entwickelt.

Nicht nur ein Schnelltest, sondern auch eine einheitliche und allgemein gültige Untersuchungsmethodik fehlen. Zur Untersuchung von photokatalytischen Schichten gibt es mittlerweile einen ISO-Standard, der sich auf die Luftreinigung bezieht. Um weitere Standardmessverfahren zu implementieren, wurde der DIN-Ausschuss NMP 293 gegründet. Eine Bearbeitung weiterer Normungsvorhaben findet statt. Ein Normenvorschlag trägt den Titel „Photokatalytische Aktivität von Oberflächen – Bestimmung der photokatalytischen Aktivität im wässrigen Medium durch den Abbau von Metylenblau“. Ist diese Norm erst vorhanden, könnte im Zuge weiterer Untersuchungen mit ihr gearbeitet werden. Analog zur Normung bei DIN wurde dieser Test vom Arbeitsausschuss NMP 293 bereits zur ISO-Normung vorgeschlagen, wo er vom ISO TC 206 derzeit diskutiert wird. [Bahnmann, 2007]

Um eine industrielle Anwendung möglich zu machen, sind weitere Untersuchungen notwendig. Erfolg versprechender und weiter in der Entwicklung ist definitiv das silberhaltige Beschichtungssystem. Darüber hinaus haben die bisherigen Erkenntnisse gezeigt, dass die titandioxidhaltige Beschichtung nicht der gewünschten Verschleißfestigkeit entspricht, was eine Anwendung zusätzlich erschwert. Dazu kommt, dass die photokatalytischen Beschichtungen mit UV-Licht bestrahlt werden müssen, was die Anwendung einschränkt und einen zusätzlichen Aufwand voraussetzt.

Jedoch hat auch eine Anwendung von TiO_2 in Beschichtungssystemen ihren Vorteil. Diskussionen der Verbraucher hinsichtlich gesundheitlicher Risiken werden durch den Einsatz titandioxidhaltiger Beschichtungen minimiert. Im Gegensatz zu den silberhaltigen Beschichtungen, kommt es bei den titandioxidhaltigen zu keinem Austritt der Wirkkomponenten.

Im Hinblick auf die weitere Erforschung der antimikrobiellen Oberflächen sollte zunächst mindestens ein Wiederholungsversuch mit dem silberhaltigen Lacksystem durchgeführt werden, um sicherzustellen, dass dieses einen antimikrobiellen Effekt zulässt. Da die für diese Arbeit zur Verfügung stehende Zeit begrenzt war, sollten in Zukunft Versuche, wo beim ersten Mal eine Keimabtötung festgestellt werden konnte und in der Wiederholung nicht, erneut durchgeführt werden. Untersuchungen hinsichtlich der unterschiedlichen Eigenschaften von Sol-Gel-System und Lacksystem sind erstrebenswert, um endgültig zu verstehen, worin sich die Wirkverluste beim Sol-Gel-System begründen. Solche Untersuchungen könnten z.B. physikalischer oder mechanischer Natur sein. Anschließende Experimente sollten auch den Sachverhalt der Luftfeuchtigkeit an den Orten, die zur Anwendung bestimmt sind, mit einschließen. Egal ob eine silber- oder eine titandioxidhaltige Beschichtung eingesetzt wird, muss eine hinreichende Feuchtigkeit gegeben sein. Es sollten luftfeuchteabhängige Wirksamkeitsuntersuchungen stattfinden und darüber hinaus die genauen Betriebsparameter an der in eine Maschine eingebauten Beschichtung bestimmt werden.

Gelingt es, eine anwendbare antimikrobielle Beschichtung herzustellen, sollten vor einer Implementierung in der Lebensmittelindustrie einerseits die lebensmittelrechtlichen Konsequenzen geprüft werden. Auf der anderen Seite erscheint es sinnvoll die Untersuchungen auf andere Keime als *E. coli* und *S. aureus* auszudehnen, um ein möglichst breites Spektrum der Wirksamkeit zu erfassen. Zusammenfassend bleibt festzustellen, dass bei antimikrobiellen Beschichtungen das Forschungspotential noch lange nicht ausgeschöpft ist und noch viel Raum für Innovationen besteht.

Anhang A: Auswertungsmethodik nach JIS Z 2801:2000

An einem Beispiel soll die Auswertungsmethodik nach JIS Z 2801:2000 an dieser Stelle beschrieben werden.

Als Maß wird in dem genannten Standard „N“ angegeben. „N“ ist im JIS als Anzahl der zählbaren Zellen auf einem Prüfkörper (KbE) definiert und wird wie folgt errechnet:

$$„N = C * D * V$$

- N: number of viable cells of bacteria (per test piece)
- C: number of colonies (average of the number of colonies in two petri dishes adopted)
- D: dilution ratio (dilution ratio of the diluted solution dispensed into the petri dish adopted)
- V: volume (ml) of the SCLP broth used for washing out” [JIS Z 2801:2000, 2000]

Zur Auswertung der Ergebnisse nach dem JIS Z 2801:2000 müssen folgende Kriterien erfüllt werden:

- 1) Die Formel

$$(L_{\max} - L_{\min}) / (L_{\text{mean}}) \leq 0,2$$

gilt für die logarithmischen Werte der Anzahl an zählbaren Kolonien („N“) auf den „unbeschichteten“ Prüfkörpern direkt nach dem Animpfen (0 h). Dabei werden die einzutragenden Werte wie folgt beschrieben:

- „L_{max}: maximum logarithm of the number of viable cells of bacteria
- L_{min}: minimum logarithm of the number of viable cells of bacteria
- L_{mean}: average of the logarithm of the number of viable cells of bacteria in three test pieces” [JIS Z 2801:2000, 2000]

- 2) Der Mittelwert von „N“ direkt nach dem Animpfen (0 h) auf „unbeschichteten“ Prüfkörpern sollte in dem Bereich $1,0 - 4,0 \cdot 10^5$ KbE liegen.
- 3) „N“ nach 24 h auf einem „unbeschichteten“ Prüfkörper darf nicht kleiner sein als $1,0 \cdot 10^4$ KbE (wenn ein Film auf dem Prüfkörper liegt). Dieses muss auf alle drei Prüfkörper zutreffen.

Werden all diese Kriterien erfüllt, errechnet man das Maß antimikrobieller Aktivität folgendermaßen:

$$R = [\log (B / A) - \log (C / A)] = [\log (B / C)]$$

R: value of antimicrobial activity

A: average of the number of viable cells of bacteria immediately after inoculation on the untreated test piece

B: average of the number of viable cells of bacteria on the untreated test piece after 24 h

C: average of the number of viable cells of bacteria on the antimicrobial test piece after 24 h”

[JIS Z 2801:2000, 2000]

Da die silberhaltige Lackbeschichtung einen antimikrobiellen Effekt gezeigt hat, soll dieser Versuch als Beispiel dienen.

Zunächst wird „N“, wie beschrieben, berechnet. Die Ergebnisse sind aus Tabelle 5 und Tabelle 6 zu entnehmen. Anschließend wird überprüft, ob die geforderten Kriterien erfüllt sind. Dazu werden die in Tabelle 7 und Tabelle 8 dargestellten Ergebnisse benötigt. Setzt man die Werte in die Formel $(L_{\max} - L_{\min}) / (L_{\text{mean}}) \leq 0,2$ ein, so erhält man folgende Ergebnisse:

<u><i>E. coli</i></u> :	$L_{\max} = \log (413000) = 5,62$	<u><i>S. aureus</i></u> :	$L_{\max} = \log (485000) = 5,69$
	$L_{\min} = \log (376000) = 5,57$		$L_{\min} = \log (400000) = 5,60$
	$L_{\text{mean}} = \log (393000) = 5,59$		$L_{\text{mean}} = \log (450333) = 5,65$
	$(5,62 - 5,57) / (5,59) = 8,94 \cdot 10^{-3} < 0,2$		$(5,69 - 5,60) / (5,65) = 0,0159 < 0,2$

Das zweite Kriterium besagt, dass der Mittelwert von „N“ direkt nach dem Animpfen (0 h) auf „unbeschichteten“ Prüfkörpern in dem Bereich $1,0 - 4,0 \cdot 10^5$ KbE liegen sollte. Durch die folgenden Angaben wird dieses teilweise bestätigt:

$$\underline{E. coli}: \quad 100000 < 393000 < 400000 \text{ [KbE]}$$

$$\underline{S. aureus}: \quad 100000 < 450333 > 400000 \text{ [KbE]}$$

Die bei *S. aureus* auftretende Abweichung soll in diesem Beispiel nicht berücksichtigt werden. Das dritte und letzte Kriterium besagt, dass „N“ nach 24 h auf einem „unbeschichteten“ Prüfkörper nicht kleiner sein darf als $1,0 \cdot 10^4$ KbE.

<u><i>E. coli</i></u> : 10000 < n.a.	<u><i>S. aureus</i></u> : 10000 < 485000
10000 < 464000	10000 < 466000
10000 < 295000	10000 < 400000

Die Werte zeigen, dass auch das dritte Kriterium erfüllt wurde, sodass die Ergebnisse nach JIS Z 2801:2000 ausgewertet werden können. Das Maß antimikrobieller Aktivität wird mit folgender Gleichung berechnet:

$$R = [\log (B / A) - \log (C / A)] = [\log (B / C)]$$

$$\underline{E. coli}: \quad R = [\log (379500 / 393000) - \log (0 / 392000)]$$

R = nicht berechenbar

$$\underline{S. aureus}: \quad R = [\log (13100000 / 400000) - \log (0 / 400000)]$$

R = nicht berechenbar

An diesem Beispiel kann man deutlich erkennen, dass die Auswertungsmethode nicht ausgereift ist. Werden alle Keime durch die Beschichtung abgetötet, so kann man die Berechnungen nicht durchführen. Es ist nicht möglich den Logarithmus von Null zu bilden. Auch lässt der Standard offen, welches ein optimales Ergebnis darstellt. Die Ergebnisse für das silberhaltige Sol-Gel-System lauten beispielsweise: $R = -0,5257$ (*E. coli*) und $R = 0,6979$ (*S. aureus*). Der Standard gibt nicht an, wie diese Ergebnisse zu bewerten sind.

Tabelle 5: "N" in KbE. Untersuchungsergebnisse der silberhaltigen Lackbeschichtung. Als Testkeim wurde *E. coli* verwendet.

<i>E. coli</i> "Ag-Lack"				
Inkubationszeit (h)	"N" in (KbE)			Mittelwert (MW)
	"A"	"B"	"C"	
0	186364	209091	172727	189394
24	5225	0	0	1742

Tabelle 6: "N" in KbE. Untersuchungsergebnisse der unbeschichteten Prüfkörper. Als Testkeim wurde *S. aureus* verwendet.

<i>S. aureus</i> "Ag-Lack"				
Inkubationszeit (h)	"N" in (KbE)			Mittelwert (MW)
	"A"	"B"	"C"	
0	73636	78182	75455	75758
24	0	0	0	0

Tabelle 7: "N" in KbE. Untersuchungsergebnisse der unbeschichteten Prüfkörper. Als Testkeim wurde *E. coli* verwendet.

Inkubationszeit (h)	"N" in (KbE/mL)			Mittelwert
	"A"	"B"	"C"	
0	376000	390000	413000	393000
24	n.a.	464000	295000	379500

Tabelle 8: "N" in KbE. Untersuchungsergebnisse der unbeschichteten Prüfkörper. Als Testkeim wurde *S. aureus* verwendet.

Inkubationszeit (h)	"N" in (KbE/mL)			Mittelwert
	"A"	"B"	"C"	
0	376000	390000	413000	393000
24	n.a.	464000	295000	379500

Literaturverzeichnis

- Ahrens, H., Gosheger, G., Streitbürger, A., Gebert, C., Harges, J.** (2006). Antimikrobielle Silberbeschichtung von Tumorprothesen. *Der Onkologe*; 2 / 2006.
- Bahnemann, D, Prof. Dr. (2007). Funktionieren selbstreinigende Oberflächen wirklich? Erste Erfolge der Normung von Produkten der Nanotechnologie!. Fachvortrag zur Festveranstaltung 60 Jahre NMP; Normenausschuss Materialprüfung (NMP) im DIN Deutsches Institut für Normung e.V..
- Benedix, R.** (2008). *Bauchemie*; 4. Auflage. Vieweg + Teubner; Wiesbaden.
- BfR** (2009). Stellungnahme Nr. 024/2010.
http://www.bfr.bund.de/cm/216/bfr_raet_von_nanosilber_in_lebensmitteln_und_produkten_des_taeeglichen_bedarfs_ab.pdf (Datum des Zugriffs: 09. Juli 2010).
- BfR** (2005). Stellungnahme Nr. 007/2006.
http://www.bfr.bund.de/cm/208/antimikrobielle_innenraumbeschichtung_bei_kuehlschraenken_ist_ueberfluessig.pdf (Datum des Zugriffs: 12. April 2010).
- Blake, D. M., Huang, Z., Jacoby, W. A., Maness, P.-C., Smolinski, S., Wolfrum, E. J.** (1999). Bactericidal Activity of Photocatalytic TiO₂ Reaction: toward an Understanding of Its Killing Mechanism. *Applied and Environmental Microbiology*; Volume 65, No. 9.
- Borutzky, U., Junghannß, U.** (2006). Mikrobielle Kontamination von Stoffen unter besonderer Berücksichtigung der Bewertung photokatalytisch aktiver Oberflächen. *Aseptica*; Jahrgang 12; Ausgabe April 2006; Heft 1.
- BUND** (2008). Aus dem Labor auf den Teller – Die Nutzung der Nanotechnologie im Lebensmittelsektor.
www.bund.net/.../bundnet/.../nanotechnologie/20080311_nanotechnologie_lebensmittel_studie.pdf (Datum des Zugriffs: 13.01.2011).
- Burkhardt, M., Zuleeg, S., Kägi, R., Sinnet, B., Eugster, J., Boller, M. and Siegrist, H.** (2010). Verhalten von Nanosilber in Kläranlagen und dessen Einfluss auf die Nitrifikationsleistung in Belebtschlamm. *Umweltwissenschaften und Schadstoffforschung*; Volume 22, Number 5.
- Cheng, C.-L., Chang, H.-H., Chen, J.-H., Chu, W.-C., Chung, P.-H., Ho, H.-C., Lin, N.-J., Sun, D.-S., Tsai, P.-J., Tseng, Y.-H., Wang, J.-B., Yu M.-S.** (2009). The effects of the bacterial interaction with visible-light responsive titania photocatalyst on the bactericidal performance. *Journal of Biomedical Science* 2009; **16**:7.
- Donner, S.** (2009). Friedhof der Mikroben. *Technik & Wissen*; Nr. 41, 15.10.2009

- Donner, S.** (2006). Putzen mit der Kraft des Lichts. *Technology Review*; 7/2006.
- Fiack, Suzan, Dr.** (2010). „Nanosilber gehört nicht in Lebensmittel, Textilien und Kosmetika.“ <http://www.bfr.bund.de/cd/50963> (Datum des Zugriffs: 09. Juli 2010).
- Gibbins, B. L., PhD** (2005). SilvaGard™ Technology Summary. AcryMed.
- Heubach, D. und G. Angerer** (2007). INANU Innovationen durch Nanotechnologie in der Umwelttechnik als Schlüssel zur Nachhaltigkeit. Fraunhofer-Institut. **Forschungsbericht.**
- Hiddemann, L.** (2010). Untersuchung der Wirksamkeit antimikrobieller Beschichtungen auf Metall. Praxisbericht.
- Hoek, Eric M. V. und Catalina Marambio-Jones** (2009). A review of the antimicrobial effects of silver nanomaterials and potential implications for human health and the environment. *Journal of Nanoparticle Research*. **Review Paper.**
- Holzman, David** (2010). Widening Use of Silver Microbicides Raises Several Sets of Concerns. *Microbe*; Volume 5, Number 2.
- JIS Z 2801:2000** (2000). Japanese Standards Association (JSA), Japanese Industrial Standard, Antimicrobial products- Test for antimicrobial activity and efficacy.
- Kühn, K. P., Erdinger, L., Pompe, W.** (2004). Photokatalytische Inaktivierung von Mikroorganismen und Vermeidung von Biofilmen auf TiO₂ Oberflächen, (Abstract zur 12. Konferenz der Gesellschaft für Hygiene und Umweltmedizin (GHU) gemeinsam mit der 8. Konferenz der Internationalen Society of Environmental Medicine (ISEM), 3.-5. Oktober 2004, Halle an der Saale) in: *Umweltmed Forsch Prax* 9 (4) 2004.
- Leydecker, S.** (2008). Nanomaterialien in Architektur, Innenarchitektur und Design. Birkhäuser AG Berlin.
- Mills, A., McGrady, M.** (2007). A study of new photokatalyst indicator inks. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: chemistry* 193 (2008) 228-236.
- Mills, A., McGrady, M., Hepburn, J., Wang, J.** (2007). A Rapid Method of Assessing the Photocatalytic Activity of Thin TiO₂ Films Using an Ink Based on the Redox Dye 2,6-Dichloroindophenol. *International Journal of Photoenergy*, Volume 2008, Article ID 504945, 6 pages.
- NADICO Technologie GmbH.** TitanShield - <http://www.titanshield.de/> (Datum des Zugriffs: 11.01.2011).
- Nordmann und Rassmann** (2009). TROVO® guard – ein neues anorganisches biozides Additiv zum Schutz von Polymersystemen gegen Bakterien und Pilze. *Trade Trends* 3/09.

Page, K., Wilson, M. and Parkin, I. P. (2008). Antimicrobial surfaces and their potential in reducing the role of the inanimate environment in the incidence of hospital-acquired infections. *Journal of Materials Chemistry*. **Feature Article**.

Schraml, C. (2008). Untersuchungen zur antimikrobiellen Wirksamkeit von Titandioxidschichten auf Oberflächen in Abhängigkeit ausgewählter Parameter. Hochschule Fulda. **Diplomarbeit**.

Voigt, C (2005). Antimikrobielle Wirkung von Nanosilber in Dentalkunststoffen, Universitätsklinikum Ulm. **Dissertation**: 88.

Weber Maschinenbau GmbH (2010).

Wu, C. (2010). Sauberes Wasser unter der Halogenlampe. *Technology Review*; 2/2010.

www.medical-industrie.de. „Silber in der Wundversorgung - antiseptische Wirkung.“ <http://www.medical-industrie.de/index.php/aktuelles/1-aktuelle-nachrichten/54-silber-in-der-wundversorgung-antiseptische-wirkung> (Datum des Zugriffs: 12. Juli 2010).

Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Bachelorarbeit selbstständig angefertigt habe. Es wurden nur die in der Arbeit ausdrücklich benannten Quellen und Hilfsmittel benutzt. Wörtlich oder sinngemäß übernommenes Gedankengut habe ich als solches kenntlich gemacht.

Ort, Datum

Unterschrift