

Funktionelle Striche mit antimikrobieller Wirksamkeit über die Gasphase (AnmiWiGas)

B. Schmidt-Brücken, C. Schönfeld, D. Fiedler

Inhalt

1	Zusammenfassung	2
2	Abstract	3
3	Einführung und Aufgabenstellung	4
4	Stand des Wissens und der Technik	6
5	Materialien und Methoden	7
6	Ergebnisse der experimentellen Arbeiten	10
6.1	Charakterisierung des Wirkstoffsystems	10
6.1.1	Verfügbare Cyclodextrinmuster und seine Derivate.....	10
6.1.2	Wassergehalt des Ausgangsmaterials	10
6.1.3	Klimaabhängige Feuchte.....	12
6.1.4	Wirkstoffgehalt des Ausgangsmaterials	13
6.1.5	Dispergierung von CD-T	15
6.1.6	Stabilisierung der Suspensionen	15
6.2	Entwicklung der Streichfarben	16
6.2.1	Inkjet-Streichfarben.....	16
6.2.2	Oberflächenleimung auf Stärkebasis	17
6.2.3	Mattstrich für den Offsetdruck	18
6.2.4	Strich für den für Tiefdruck	19
6.3	Funktionalisierte Streichfarben	20
6.3.1	Porositätsmessungen an Papierbeschichtungen	20
6.3.2	Einschätzung der Papiere hinsichtlich ihres Wirkstoffgehaltes	21
6.4	Charakterisierung der antimikrobiellen Eigenschaften	22
6.4.1	Freisetzung von Thymol aus CD-T	23
6.4.2	Gaschromatographie	24
6.4.3	Versuchsdurchführung zur Freisetzungskarakteristik	25
6.4.4	Bestimmung der antimikrobiellen Wirksamkeit von Thymol und CD-T	27
6.5	Applikation der antimikrobiellen Beschichtung im Pilotmaßstab	32
6.6	Wiederbeladung des Depots im Papierstrich	36
7	Schlussbetrachtung und Optionen für Anschlussforschung	38

1 Zusammenfassung

Thema Umweltverträgliche Funktionalisierung von Verpackungspapier und -karton für den Schutz verderblicher Güter vor Mikrobenbefall.

Antimikrobielle Verpackungen Ziel dieses Forschungsprojekts der PTS war die Entwicklung antimikrobiell wirkender Papierverpackungen auf Basis eines natürlichen Wirkstoffkomplexes aus Cyclodextrin und der aktiven Komponente Thymol. Der Wirkstoff kommt dabei ohne einen direkten Kontakt zum verpackten Gut aus, um den mikrobiellen Befall zu verhindern.

Wirkstoffeinsatz und -freisetzung Im Rahmen des Projektes wurden Papierstreichfarben mit β -Cyclodextrin-Thymol-Komplex (CD-T) für unterschiedliche Anwendungen entwickelt. Als aussichtsreiches Anwendungsbeispiel erweist sich eine einfache Oberflächenleimung. Dafür lassen sich Streichmassen aus Stärke und CD-T herstellen, die Voraussetzungen an die Prozessierbarkeit für ein industrielles Scaling-up erfüllen. Die mit Hilfe eines Sprühauftrages im Pilotmaßstab erzeugten Muster entsprachen in wesentlichen Punkten Anforderungen an Verpackungskartons.

Bei geringen Keimkonzentrationen von Bakterien und Schimmelpilzen konnten durch In-vitro-Versuche wachstumshemmende Effekte bei Mikroben nachgewiesen werden. Dabei erfolgt eine langsame Freisetzung der aktiven Komponente Thymol abhängig von Luftfeuchtigkeit und Temperatur. Bei 50 °C und 100 % Luftfeuchte wurde eine Freisetzungsrate von etwa 0.7 %/Monat ermittelt.

Wirksamkeit unter idealen Bedingungen Das Konzept, den CD-T-Komplex als antimikrobielle Strichkomponente in Verpackungen einzusetzen, wurde grundsätzlich bestätigt und in halbtechnischem Maßstab umgesetzt. Die Wirksamkeit des Schutzeffektes konnte unter idealen Bedingungen nachgewiesen werden. Für praktische Anwendungen ist eine Quantifizierung der Wirksamkeit nicht möglich, da die im Einzelfall vorliegenden Keimkonzentrationen und Wachstumsbedingungen nicht bekannt sind. In einem aufbauenden Entwicklungsschritt wäre für konkrete Anwendungen antimikrobielles Verpackungsmaterial zu entwickeln und unter praxisnahen Bedingungen zu testen.

Danksagung

Die Ergebnisse wurden im Rahmen des Forschungsvorhabens IW 07/08 gewonnen, das im Programm zur "Förderung von Forschung und Entwicklung bei Wachstumsträgern in benachteiligten Regionen" mit finanziellen Mitteln des Bundesministeriums für Wirtschaft und Technologie (BMWi) über den Projektträger EuroNorm Gesellschaft für Qualitätssicherung und Technologie mbH gefördert wurde. Dafür sei an dieser Stelle herzlich gedankt.

Gefördert durch:



aufgrund eines Beschlusses
des Deutschen Bundestages

Unser Dank gilt außerdem den beteiligten Firmen der Papier- und Zulieferindustrie für die Unterstützung der Arbeiten.

2 Abstract**Subject**

Functionalisation of packaging paper with environmental friendly preservatives against biological decay of packaged goods.

Antimicrobial Packaging

The aim of the PTS research project was to develop antimicrobial paper based packaging materials utilising naturally available components Cyclodextrin and Thymol. The concept includes, that there is no necessity for direct contact with the packaged goods in order to inhibit microbial infection.

Product Design and Agent Release

In this research project paper coatings have been developed containing a complex of Cyclodextrin with Thymol (CD-T) for various packaging applications. The most promising example was a simple surface sizing recipe designed for liner or paper board. The developed formulations of starch and CD-T meet requirements of processability for an industrial scaling-up. Prototype samples prepared with a spray coating device on a pilot paper machine comply with specifications for packaging board with respect to essential parameters.

In-vitro experiments demonstrated the inhibition of microbes' growth when the initial concentration of bacteria or fungi is low enough. The release of Thymol, the active component, from CD-T depends on humidity and temperature. Under humid and warm conditions (50 °C, 100 % rH) a Thymol release rate from the samples of 0.7 %/month could be determined.

Effectiveness under Ideal Conditions

The concept of integrating the CD-T complex with its antimicrobial effect as a component into the surface coating of a packaging material has generally been confirmed. Functionalised semi-industrial prototype papers have been produced. The effectiveness of the conservation could be quantified under idealised conditions. However, practically relevant germ concentrations and growth conditions are not known. Based on the acquired results it seems to be feasible to develop a packaging material for particular, well defined applications in a following research step and test them under application specific conditions.

Acknowledgment

The research project IW 07/08 was funded by the German Federal Ministry of Economics and Technology BMWi in the programme for the "Promotion of Research, Development and Innovation in disadvantaged areas" and carried out under the umbrella of EuroNorm. We would like to express our warm gratitude for this support.

We would also like to thank the involved companies for providing proper samples as well as for supporting project performance.

Gefördert durch:



aufgrund eines Beschlusses
des Deutschen Bundestages

3 Einführung und Aufgabenstellung

Antimikrobielle Verpackungen

Die Nachfrage nach schonend und in hohem Maße naturbelassen produzierten Gebrauchsgegenständen und Lebensmitteln nimmt merklich zu. Durch starkes Reduzieren oder völligen Verzicht auf Konservierungsmittel, durch chemische Vorbehandlung (z.B. Beizen) oder Versiegelungsmittel steigt die Gefahr für den Befall durch Bakterien und Pilze insbesondere für Lebensmittel und für alle Produkte aus organischen Materialien (z.B. Fasern, Holz). So werden veränderte Anforderungen an ihre Verpackungen gestellt, die verstärkt auch eine Schutzfunktion übernehmen müssen, um mikrobiellen Befall verpackter Güter zu verhindern.

Durch wachsendes Umwelt- und Gesundheitsbewusstsein, aber auch durch Veränderungen von Richtlinien, ist eine beständige Weiter- und Neuentwicklung von antimikrobiellen Verpackungsmitteln notwendig. Das betrifft auch Systeme mit neuartigen Wirkmechanismen, verringerten Wirkstoffmengen sowie verbesserten Entsorgungs- bzw. Recyclingeigenschaften.

Verschiedene Lösungskonzepte

Eine vergleichende Übersicht verschiedener Strategien für antimikrobiell wirksame Verpackungen im Lebensmittelbereich ist in einem Review aus dem Jahr 2002 zusammengestellt [1]. In diesem Review werden Vor- und Nachteile von Beipackeinheiten (Feuchteabsorber, Sauerstoffabsorber, etc.) bzw. unterschiedlicher Kontaktwirkstoffe in oder an der Oberfläche von Verpackungsmaterialien beschrieben.

Defizite vorhandener Systeme

Heutige Systeme mit antimikrobieller Schutzfunktion entfalten ihre Wirkung überwiegend durch direkten Kontakt zwischen Produkt und wirksamer Oberfläche. Dies trifft sowohl für silberhaltige textile Materialien [2,3 4] als auch für beschichtete Folien mit kovalent fixierten Wirkstoffen [5] oder die antimikrobielle Beschichtung technischer Oberflächen zu [6]. Dabei werden organische Chemikalien (z.B. quarternäre Ammoniumverbindungen), metallorganische Verbindungen (z.B. Tributylzinn) oder anorganische Salze (z.B. Cadmiumverbindungen) eingesetzt. Diese Mittel werden im Falle von Karton, Papier, Wellpappe entweder in der Masse den Faserstoffen zugesetzt oder über die Leimpresse als Zusatz zur Oberflächenleimung aufgetragen. Um die gewünschte antimikrobielle Wirkung zu entfalten, setzen die genannten Mittel cytotoxische Verbindungen frei [7], die auch im Kontakt mit menschlichem Gewebe wirksam sind. Weitere Nachteile sind häufig die Induzierung von Resistenzen, die Änderung der Optik bei längerer UV-Strahlung, die Aufkonzentrierung von Schadstoffen im Ökosystem, ihr allergenes Potential und eine zeitlich begrenzte Wirkung.

Ein anderer Nachteil sind gesundheitliche oder Umwelt-Risiken, die mit der Handhabung, dem Einsatz und der Entsorgung einiger synthetischer antimikrobieller Wirkstoffe verbunden sind.

Wirksamkeit über die Gasphase

Ziel des Forschungsprojektes war die Entwicklung im Strich funktionalisierter Verpackungen (z. B. Verpackungspapiere, Kartons) für den Einsatz im Non Food Bereich, deren antimikrobielle Wirksamkeit sich über die Gasphase entfaltet. Der Weg über den Einsatz des Thymol- β -Cyclodextrin-Komplexes als antimikrobielles Wirkstoffsystem bietet einen innovativen Ansatz, bei dem kein Kontakt zwischen der Verpackungsoberfläche und dem verpackten Gut notwendig ist, um den Schutz des Gutes zu erreichen. Durch die Wirksamkeit über die Gasphase kann vielmehr das komplette verpackte Volumen vom antimikrobiellen Wirkstoff Thymol erreicht werden.

Durch die Wirksamkeit im Volumen ist es möglich, bislang nicht in Betracht kommende Marktsegmente zu besetzen oder Marktsegmenten, die konventionelle Systeme mit antimikrobieller Schutzfunktion benutzen, eine vielversprechende Alternative anzubieten.

Ebenso vorteilhaft ist der Aspekt, dass mit dem Thymol- β -Cyclodextrin-Komplex ein über die Luftfeuchtigkeit geregeltes System genutzt wird, das parallel zur Erhöhung des Risikos für mikrobiellen Befall auch eine erhöhte Wirkstoffdosis freisetzt.

4 Stand des Wissens und der Technik

Thymol

[5-Methyl-2-(1-methylethyl)-phenol], Thymol, ist Hauptbestandteil des ätherischen Öls des Thymians, das über eine starke keimabtötende Wirkung verfügt [12]. Seine Wirksamkeit übersteigt die des früher in Krankenhäusern eingesetzten Desinfektionsmittels Phenol um den Faktor 30 und es sind bislang keinerlei Resistenzen untersuchter Keime aufgetreten [8]. Thymol wird aufgrund seiner antimikrobiellen, antiseptischen, desinfizierenden und wundheilenden Eigenschaften in medizinischen Präparaten gegen Erkältungskrankheiten, in der Zahnmedizin sowie Zahn- und Mundhygiene verwendet. Es besitzt weiterhin entzündungshemmendes, anti-parasitäres (Leishmaniose), anti-oxidatives, Leber schützendes und anti-tumorelles Potenzial [9,10,11,12,13,14]. Wegen seiner antiseptischen Wirkung wurden Auszüge von Thymian schon in der Antike als Wundheilmittel und zur Mumifizierung eingesetzt [15].

Thymol zeigt bei Erwachsenen ab einer Dosis von 4 g unerwünschte Wirkungen (Schwindel, Kopfwegh und Erbrechen). Bei langfristiger Intoxikation können Störungen der Schilddrüsenfunktionen auftreten.

Thymol verdampft relativ schnell. Wie viele ätherische Öle ist Thymol chemisch empfindlich, kann durch Luft- und Lichteinwirkung oxidiert werden bzw. durch Erwärmung eine chemische Veränderung erfahren [13]. Dieser Problematik kann durch die Stabilisierung des Thymols mit Cyclodextrin begegnet werden.

Cyclodextrine – Eigenschaften, Anwendungen

Cyclodextrine sind ringförmige Oligosaccharide aus Glucoseeinheiten. Sie werden durch enzymatischen Abbau von Maisstärke hergestellt, sind biologisch abbaubar, toxikologisch unbedenklich und weitgehend stabil gegenüber menschlichen Verdauungsenzymen [16,17]. Sie sind in großen Mengen, preiswert und in hoher Reinheit kommerziell verfügbar [20,18,19].

Ihre besondere Struktur versetzt Cyclodextrine in die Lage, Einschlussverbindungen mit unpolaren, organischen Verbindungen zu bilden [22]. Diese finden Anwendung in innovativen Produkten verschiedener Industriebereiche wie Pharma, Textilien, Haushalt, Kosmetik, Nahrungsmittel, und Bauindustrie [22].

Streichfarben – Grundlagen, Aufgaben

Streichfarben sind wässrige Dispersionen aus Pigmenten, Bindemittel und verschiedensten Additiven. Durch Abstimmung der Rezeptur auf die jeweilige Anwendung ergeben sich optimale Oberflächeneigenschaften und Bedruckbarkeiten [20].

Durch das Streichen von Papieren lassen sich die Papierfasern abdecken. Spezifische Eigenschaften der Oberflächen können so eingestellt werden. Dabei kann es sich sowohl um optische Eigenschaften der Papiere (Weiße, Glanz, Farbe, Glätte, Absorptionsverhalten, Farbannahme) handeln, wie auch um funktionelle Eigenschaften [25]. Außerdem kann der Auftrag eines Papierstrichs dazu genutzt werden, um das Papier mit einer Funktionalität auszustatten. So ist es bspw. möglich, das Produkt durch Beimischen von Additiven mit verschiedenen Barriere-Eigenschaften (gegen Fette/Öle, Wasser/Wasserdampf, Gas-/Geruchspereation und –diffusion) auszustatten [21,22,23,24]. Ziel dieses Forschungsprojektes war es, den Papieren auf einem solchen Weg antimikrobielle Wirkung zu verleihen.

**Streichen –
Auftrags-
aggregate**

Eine kompakte Übersicht über Streichverfahren enthält [25]. Bei Streichverfahren mit *Überschussauftrag* erfolgt die Einstellung des gewünschten Strichgewichtes mittels Dosiereinrichtungen. Wichtige Verfahren dieses Typs stellen Blade-Systeme, Rollrakel und Luftmesser dar. Durch das Abrakeln mit Blades werden hohe Glätte (Egalisierungsstrich) und Glanz erzielt. Im Gegensatz dazu erfolgt beim Filmpressenauftrag keine nachträgliche Dosierung auf dem gestrichenen Papier. Bei dieser Technik wird die Strichdicke durch die Farbmenge auf den Auftragswalzen eingestellt.

Die Verfahren mit *Direktauftrag* kommen vollkommen ohne Farbüberschuss aus. Die wichtigsten Vertreter sind Spray- und Curtain Coating. Allerdings ist bei der Streichfarbenformulierung die Rolle der Oberflächenspannung und der rheologischen Eigenschaften für einen stabilen Beschichtungsvorgang in ganz besonderer Weise zu beachten [26]. Das Curtain Coating, das seit den 1990er Jahren auch in der Papierbeschichtung eingesetzt wird, ist ein berührungsloses Streichverfahren, bei dem mittel eines aus einer Düse fallenden Flüssigkeitsfilms ein dünner Konturstrich aufgebracht wird.

5 Materialien und Methoden**Cyclodextrin –
Thymol-Komplex**

Zum Einsatz kam ein Entwicklungsprodukt der Fa. Wacker Chemie mit der Bezeichnung Cavamax W7 / Thymol Komplex. Muster wurden freundlicherweise von der Wacker Chemie zur Verfügung gestellt. Verwendet wurden die Laborchargen SH479 (weitestgehend für Vorversuche) sowie MK920.

**Streichroh-
papiere**

Für Streichversuche in unterschiedlichen Anwendungsbereichen wurden folgende Rohpapiere eingesetzt:

- Igepa Happy Office Kopierpapier, holzfrei weiß (80 g/m² Naturpapier),
- Faltschachtelkarton 1: Rohkarton für Hansaboard 1, Flächenmasse 225 g/m² der Fa. Smurfit Kappa, Hoya Papier. Vorderseite: gestrichene, holzfreie Decke, Rückseite grau mit einem Stärkestrich.
- Faltschachtelkarton 2: Rohkarton 300 g/m² Flächenmasse der Fa. Mayr-Melnhof, beidseitig grau ungestrichen,
- LWC-Papier (lightweight coated): Rohpapier für Bavaria glänzend von Myllykoski - MD Albruck. Die Flächenmasse des unbeschichteten Papiers beträgt 51 g/m².
- Testliner 1: WS13 der Fa. Delkeskamp, Flächenmasse 153 g/m²,
- Testliner 2: ohne Massestärke und Trockenverfestiger im Rohstoff der Fa. Smurfit Kappa, Hoya Papier, Flächenmasse 135 g/m², ohne Beschichtung,
- Kraftpapier für die Technikumsversuche: Kabelpapier 706, 130 g/m², Fa. Kämmerer, Osnabrück
- Fotopapier: doppelseitig polyethylenbeschichtetes Basispapier für Foto-Inkjet der Fa. Felix Schoeller jr., Osnabrück. (200 bis 300 g/m²).

Bindemittel	Stärke:	C*Film TCF0 7311 (Cargill), Stabilys A020 (Roquette)
	Polyvinylalkohol:	Mowiol 40-88, 28-99 und 4-98 (Kuraray Europe)
	SA-Latex:	Acronal S 360 D (BASF)
<hr/>		
Pigmente	Kaolin:	Capim RG (Imerys), Hydragloss (KaMin)
	Talkum:	Finntalc C10 (Mondo Minerals)
	GCC:	Covercarb 75 ME (Omya)
	Al-Oxid (Böhmit):	Disperal HP14 (Sasol Germany)
	Al-Oxid (Korund):	Aeroxide ALU C (Evonik Degussa)
	Kieselsäure:	Sipernat 350 (Evonik Degussa)
<hr/>		
Diverse Additive	Polysalz S (Dispergierhilfsmittel, BASF), Finnfix 10000 (CMC, CP Kelco), Nopco-te C104 (Ca-Stearat, Nopco), Lumiten P-T (Netzmittel, BASF), Polyquat 40 U 05 NV (poly-DADMAC, Katpol Chemie), BYK-3400 (Netzmittel, Byk Chemie), Acroflex VX 651 (Verdickungsmittel, BASF)	
<hr/>		

Methoden		
Quecksilberporosimetrie	Quantachrome PoreMaster® GT (33/60)	
TGA	LECO TGA 701	
DSC	Mettler Toledo DSC 1 STARe System	
Infrarotspektroskopie	Bruker Tensor 27 FT-IR Spektrometer mit ATR-Zelle Miracle mit Diamantkristall.	
Rupffestigkeit	IGT Rupffestigkeitstester AIC 2-5 (ISO 3783)	
Tiefdruck	IGT AIC2-5T2000, Global Standard Tester 2/3H (nach IGT Information leaflet W41 HELIOTEST)	
Scheuertest	Prüfbau Quartant	
Gaschromatographie	Agilent Technologies GC 6890N/ MSD 5973	
Rheometrie	Bohlin CVO, Platte-Platte-Messsystem $\varnothing = 40$ mm	
Elektronenmikroskopie	JEOL JSM 5600 LV mit energiedispersiver Röntgenmikroanalyse (EDX)	
Inkjet Drucktests	Epson Stylus Photo R220, T0481-T0486 Tinten selbsterstelltes Drucktarget im CMYK-Farbraum.	
Tonwertzunahme	Spektralphotometer SpectroEye (Gretag Macbeth)	
Berstwiderstand nach Mullen		(ISO 2758)
Falz- und Rillfestigkeit		(DIN 55437)
Prüfung der Luftdurchlässigkeit nach Gurley		(ISO 5636-5)
Prüfung der Wasseraufnahme nach Cobb		(DIN EN 20535)
Doppelfalzzahl nach Schopper		(ISO 5626)
Arbeitsaufnahmevermögen (TEA)		(ISO 1924-2)
Biegesteifigkeit		(DIN 53121, ISO 2493)
Streifenstauchwiderstand SCT		(DIN 54 518)
Durchreifestigkeit nach Elmendorf		(quer, DIN EN 21974)

6 Ergebnisse der experimentellen Arbeiten

6.1 Charakterisierung des Wirkstoffsystems

6.1.1 Verfügbare Cyclodextrinmuster und seine Derivate

Chargen

Zwei unterschiedliche Chargen des Ausgangsmaterials mit den Bezeichnungen SH479 sowie MK920 standen zur Verfügung. Sämtliche Muster wurden von der Fa. Wacker Chemie zur Verfügung gestellt. Da es sich um Entwicklungsprodukte handelte, waren Eigenschaften wie Granularität, Farbton und Wassergehalt beider Chargen unterschiedlich. Diese Unterschiede wurden durch entsprechende Vergleichsmessungen berücksichtigt. Die Charakterisierung der Muster erfolgte nach den zentralen Größen Wassergehalt und Thymolgehalt. Ergebnisse finden sich in den folgenden Abschnitten.

6.1.2 Wassergehalt des Ausgangsmaterials

TGA

Bei der thermogravimetrischen Analyse TGA wird eine Masseänderung beim Aufheizen der Probe detektiert. Sie zeigt somit solche Umwandlungsprozesse, die mit einem Masseverlust einhergehen. Die Aufheizzeit für jeden 10-K-Schritt betrug 1 K/Minute bei einer Gesamtzeit für jeden T-Schritt von 12 Minuten.

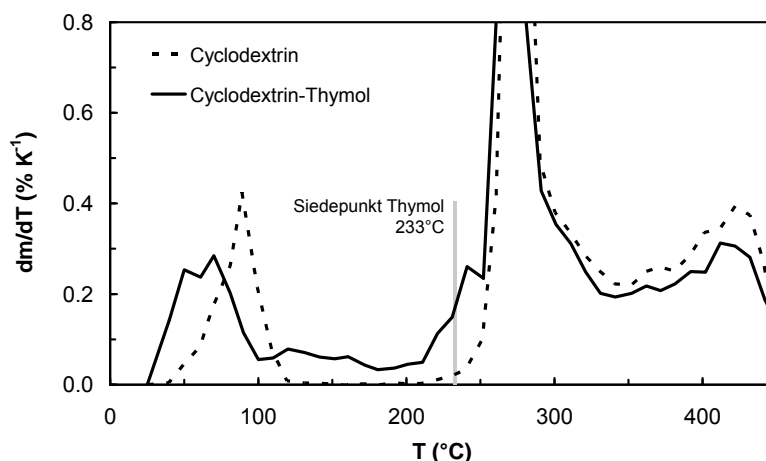


Abbildung 1: Thermogravimetrische Analyse (TGA) des CD-T (Charge SH479) sowie des β -Cyclodextrin. Der Siedepunkt des freien Thymol ist als senkrechte Linie gekennzeichnet (Der Zersetzungspak des Cyclodextrin ist ausgeblendet).

Abbildung 1 zeigt die differentielle Darstellung des relativen Masseverlustes dm/dT des reinen β -Cyclodextrin sowie des CD-T (Charge SH479) bei einer Aufheizrate von 1 K/min. Bei letzterem ist zwischen 100 °C und 210 °C ein kontinuierlicher Masseverlust zu beobachten. Ab dem Siedebereich des Thymol wird dieser erhöhte Masseverlust dann nicht mehr beobachtet. Es ist demnach davon auszugehen, dass unter Temperatureinfluss das Thymol aus dem Komplex freigesetzt wird. Während im reinen Cyclodextrin der Trockenanteil mit Hilfe der TGA zu 87,5 % bestimmt werden kann, ist dies beim Thymolkomplex nicht möglich.

Bestimmung des Wassergehalts

Zur Bestimmung des Wassergehaltes der CD-T Muster wurden deshalb unterschiedliche Methoden angewandt, um daraus das am besten geeignete Verfahren zu ermitteln:

1. automatische Trocknung mit Hilfe einer Feststoffwaage,
2. Trocknung im Umluftofen, 30 Minuten bei 105 °C,
3. Trocknung über P_2O_5 bei Raumtemperatur und reduziertem Druck bis zur Massekonstanz,
4. Trocknung über P_2O_5 zwischen Raumtemperatur und 60 °C bis zur Massekonstanz,
5. Auswertung von TGA Ergebnissen.

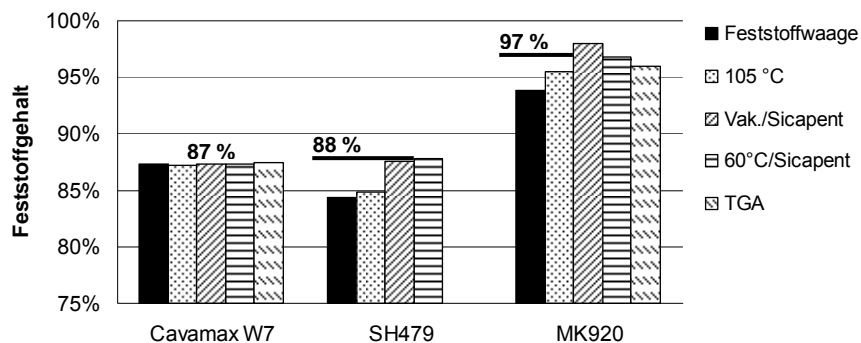


Abbildung 2: Mit unterschiedlichen Methoden ermittelte Feststoffanteile des Cyclodextrin Cavamax W7 sowie zweier Chargen des CD-T.

Aus den Ergebnissen, insbesondere bei Auftreten eines starken Thymolgeruchs, kann geschlossen werden, dass die Trocknung des CD-T bei erhöhter Temperatur mit einem Teilverlust des Thymol einhergeht. Die Trocknung über Phosphor-pentoxid bei 60 °C wird deshalb als Standard zur Feuchtebestimmung eingesetzt, kann aber sehr langwierig sein.

Diskussion der Ergebnisse

In der Literatur wird für reines β -Cyclodextrin ein Kristallwassergehalt von 13.2 % bis 14.5 % angegeben [27] Dies entspricht etwa 10 bis 11 Molekülen Wasser pro β -Cyclodextrin-Einheit und geht konform mit den Analyseergebnissen über die Feststoffwaage. Da in der TGA unterhalb der Zersetzungstemperatur ($T > 250 \text{ }^\circ\text{C}$) kein weiterer Masseverlust erkennbar ist, dürfte es sich bei dem freigesetzten Wasser zum überwiegenden Teil um das Kristallwasser handeln. Für den *Komplex* CD-T werden geringere molare Wasseranteile als beim β -Cyclodextrin gefunden. Die Besetzung der Kavität mit Thymol schließt also zumindest einen Teil des Kristallwassers aus.

6.1.3 Klimaabhängige Feuchte

Klimaabhängige Feuchte

Zur Bestimmung der Stabilität des Komplexes gegenüber der Feuchte der Umgebungsluft wurden drei Proben des CD-T (Charge MK920) sieben Tage bei Raumtemperatur unterschiedlichen Feuchtebedingungen ausgesetzt:

- *Probe 1* wurde über Silica-Gel getrocknet,
- *Probe 2* wurde bei ca. 50 % r.F. (Laborumgebung) und
- *Probe 3* bei 85 % r.F. gelagert.

Diese Proben wurden dann mittels TGA untersucht.

Ergebnisse

Das Ergebnis zeigt Abbildung 3. Da alle Proben neben Wasser auch kontinuierlich Thymol verlieren, wurde indirekt auf den Wassergehalt der Proben geschlossen.

Die getrocknete Probe (*Probe 1*) dürfte weitgehend wasserfrei sein und ihre anfängliche Gewichtszunahme wird als Wasseraufnahme über das Spülgas (N_2) interpretiert. Bei $87 \text{ }^\circ\text{C}$ hat diese Probe das aufgenommene Wasser wieder vollständig abgegeben.

Bei dieser Temperatur sollten demnach auch die beiden anderen Proben wasserfrei sein. So ergibt sich ein Trockengehalt von 96 % (*Probe 2*) bzw. 94 % (*Probe 3*). Ein nennenswerter Verlust von Thymol über sieben Tage in feuchtem Klima kann also nicht festgestellt werden.

Die TGA-Methode bietet mit dieser Vorgehensweise eine Möglichkeit zur Trennung der Masseverluste durch Wasser- und Thymolabgabe. Ihre Genauigkeit wird jedoch nicht höher als $\pm 1 \text{ }%$ absolut eingeschätzt.

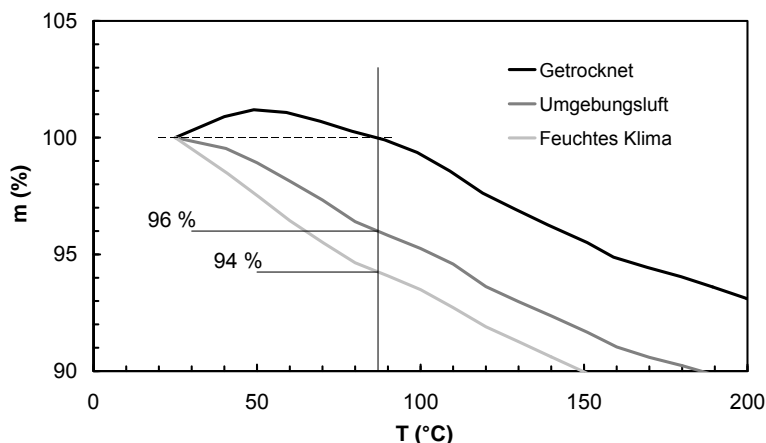


Abbildung 3: TGA Messungen an CD-T Proben mit unterschiedlichem Feuchtegehalt (Charge MK920).

Fazit

Diese Erkenntnisse über das Verhalten des Komplexes gegenüber Kontakt mit Wasser sind entscheidend für die Frage der Verarbeitbarkeit des CD-T in industriellen Herstellprozessen für Streichfarben. Aus den Ergebnissen kann geschlossen werden, dass einer Verarbeitung des CD-T in feuchter Umgebung nichts im Wege steht, da sich das Material in den relevanten Zeiträumen nicht nennenswert verändert.

6.1.4 Wirkstoffgehalt des Ausgangsmaterials

Maximaler Thymolgehalt

Da im CD-T jedes CD-Molekül genau ein Thymolmolekül aufnehmen kann, errechnet sich das theoretische Maximum des Thymolgehaltes aus den molaren Massen des β -Cyclodextrin (1135 g/mol) und Thymol (150.22 g/mol) zu

11.69 %

bezogen auf CD-T. Abweichungen von diesem Wert können durch unvollständige Beladung auftreten oder auch durch Beimischungen von α - bzw. γ -Cyclodextrin. Diese haben neben einer abweichenden molaren Masse auch eine unterschiedliche Komplexbildungskonstante mit Thymol.

Bestimmung des Thymolgehaltes durch Extraktion

Mit Hilfe von Ethanol sowie Aceton wurden die Anteile Cyclodextrin (unlöslich) und Thymol (löslich) aus den Komplexen getrennt und einer gravimetrischen Analyse unterzogen. Der so ermittelte Thymolgehalt lag bei

11.6 %,

also nahe am theoretischen Maximum.

Bestimmung des Thymolgehaltes mittels GC/MS

Ergänzend zu den gravimetrischen Bestimmungen wurden zahlreiche GC/MS Untersuchungen zum Thymolgehalt in verschiedenen Klimazuständen und Alterungszuständen des CD-T durchgeführt. Die detaillierte Vorgehensweise ist in Abschnitt 6.4.2 beschrieben. Die Vergleichbarkeit der GC/MS Methode mit den gravimetrischen Bestimmungen wurde durch die Untersuchung des Ausgangsmaterials verifiziert. Der aus der GC/MS erhaltene Thymolanteil ergab sich aus fünf Proben konsistent zu

10.2 %.

Damit liegt der Absolutwert niedriger als bei gravimetrischen Bestimmungen. Aufgrund der geringeren Streuung der GC/MS Werte kann aber angenommen werden, dass dieser Wert die wahren Verhältnisse wiedergibt.

Thymolgehalt nach Kontakt mit kaltem Wasser

Zur Prüfung der Stabilität des CD-T Komplexes im Kontakt mit Wasser während einer Streichfarbenherstellung wurden unterschiedliche Muster der Charge SH479 präpariert, die zwischen 0 und 48 h in Wasser aufgeschlämmt waren. Danach wurde der Feststoff abfiltriert und im Umlufttrockenschrank 10 Minuten bei 105 °C getrocknet. Die einzelnen Proben wurden wie oben nach der gravimetrischen Extraktion mit Aceton untersucht bzw. der Analyse mittels GC/MS unterzogen. Es zeigt sich, dass auch nach 48 h Wasserkontakt kein messbarer Verlust an Thymol festzustellen ist (Abbildung 4).

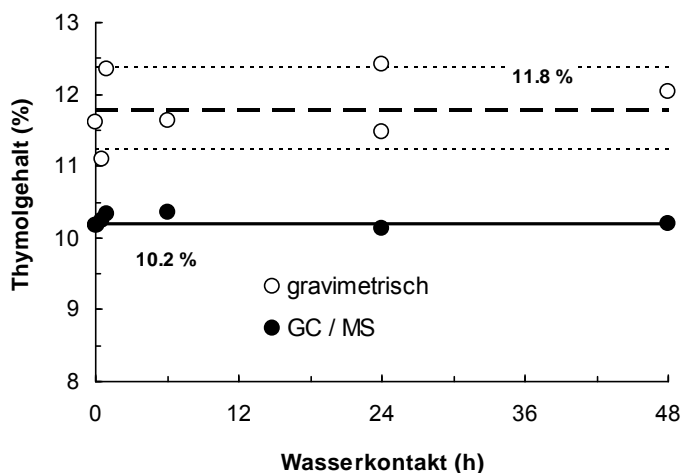


Abbildung 4: Bestimmung des Thymolgehaltes einer Cyclodextrin-Thymolprobe nach unterschiedlichen Kontaktzeiten mit Wasser.

Anders stellt sich der Thymolverlust im Kontakt mit siedendem Wasser dar, bei dem der Komplex vollständig in Lösung geht. Bereits nach gut 40 Minuten ist das Thymol weitgehend ausgetrieben.

Zusammenfassung der Ergebnisse

In der Lieferform enthält der Komplex 11.2 % Thymol, ein Wert der nur geringfügig unter dem theoretischen Maximum liegt. In kaltem Wasser ist der Komplex mindestens 48 Stunden stabil, in siedendem Wasser wird das Thymol rasch ausgetrieben. Danach ist davon auszugehen, dass eine Verarbeitung des Komplexes unter Bedingungen einer Streichfarbenherstellung ohne weitere Vorsichtsmaßnahmen möglich ist.

6.1.5 Dispergierung von CD-T**Einbringen des Wirkstoffs**

Grundsätzlich gibt es zwei Möglichkeiten, den Wirkkomplex in eine Streichfarbe für Papier einzubringen:

1. Dispergierung des Wirkstoffs und Zugabe zur Streichfarbe als „zusätzliches Pigment“,
2. Lösung des Wirkstoffs im Serum.

Über Variante 1 kann deutlich mehr Wirkstoff eingebracht werden und der Kontakt des Cyclodextrinkomplexes mit Wasser ist weniger intensiv. Variante 2 würde hingegen keine aufwändige Dispergierung erfordern und somit geringere Prozesskosten verursachen. Die Löslichkeit des C-DT ist für praktische Anwendungen mit ca. 1 % jedoch zu gering.

6.1.6 Stabilisierung der Suspensionen**Dispergierung von Cyclodextrin-Thymol**

Zur industriellen Herstellung von Streichfarben ist es vorteilhaft, stabilisierte, lagerfähige Suspensionen einzusetzen. Aus diesem Grund wurde zunächst versucht, mit Hilfe von gängigen Dispergierhilfsmitteln eine stabile Suspension des CD-T-Komplexes in Wasser zu erzielen.

Die Wirksamkeit der Dispergierhilfsmittel wurde jeweils 1 %ig bezogen auf das Pigment getestet. Kriterium war das Sedimentationsverhalten der Dispersionen. Es wurden sowohl anionische, wie auch kationische und nichtionische Dispergierhilfsmittel eingesetzt. Ein positiver Effekt auf die Stabilität der Dispersionen konnte in keinem Fall nachgewiesen werden.

Bildgebende Darstellung

Um die schlechte Dispergierbarkeit besser zu verstehen wurden Bodensatz und Überstand lichtmikroskopisch untersucht. Abbildung 5 zeigt an einem typischen Beispiel, dass Teilchengrößen von 5 bis 10 µm einer wirksamen Stabilisierung im Wege stehen.

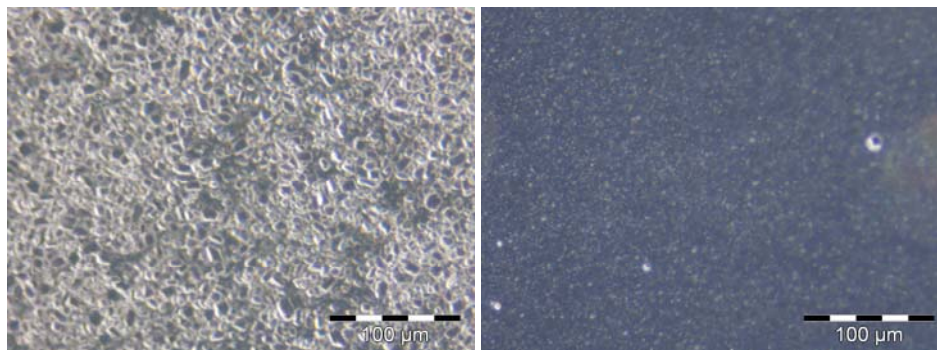


Abbildung 5: Lichtmikroskopische Darstellung der Cyclodextrin-Thymol Partikel, links: Bodensatz, rechts: Überstand. Dispergierhilfsmittel Schwego Wett 6292.

Fazit

Eine wirksame Stabilisierung der CD-T Suspension ist wegen der relativ groben Partikelstruktur nicht möglich. Die Suspensionen wurden deshalb bis zum Einsatz in der Rezeptur lediglich durch intensives Rühren stabilisiert.

6.2 Entwicklung der Streichfarben**Entwicklung von Rezepturen**

Im Fokus der Streichfarbenentwicklung lag eine gute Verarbeitbarkeit unter Laborbedingungen und die Vergleichbarkeit zu großtechnisch eingesetzten Rezepturen. Die Versuche waren zunächst sehr breit auf verschiedene Beschichtungstypen auch über den Verpackungssektor hinaus angelegt. Folgende Rezepturen wurden erarbeitet

- zwei verschiedene Foto-Inkjet Beschichtungen,
- Mattstrich für Inkjet,
- Oberflächenleimung auf Stärkebasis (zwei unterschiedliche Stärketypen),
- Mattstrich für den Offset-Druck,
- Tiefdruckbeschichtung.

6.2.1 Inkjet-Streichfarben**Streichfarbe vom Foto-Inkjet Typ**

Basis der Entwicklung war eine Rezeptur für eine Streichfarbe aus feinstteiligem Aluminiumoxid (Böhmit oder pyrogenes Al_2O_3) aus dem Bereich der Foto-Inkjetpapiere. Diese Streichfarben bilden hochtransparente Beschichtungen mit einer sehr feinen Porenverteilung im Bereich von einigen Nanometern bis zu etwa 50 nm Durchmesser. Die sehr durchlässige, hydrophile Struktur sollte insbesondere in der Lage sein, gasförmige Inhaltstoffe effektiv freizusetzen. Zu erwartende Nachteile liegen in den recht hohen Kosten für die Pigmente und Bindemittel.

Mattstrich für Inkjet-Druck

Als Strichrezeptur für den matten Inkjet Druck wurde auf eine Grundrezeptur auf Kieselsäurebasis zurückgegriffen. Die Streichfarbe besteht aus der gefällten Kieselsäure Sipernat 350 (Evonik Degussa) und dem Bindemittel Mowiol 28-99 (PVA, Kuraray Europe). Maßgeblich für die Rezepturoptimierung waren die Scheuerfestigkeit und die Druckqualität im Druck mit farbstoffbasierten Tinten.

6.2.2 Oberflächenleimung auf Stärkebasis**Auswahl der Rezeptur**

Für die Rezepturen der Oberflächenleimung wurde auf zwei Stärketypen zurückgegriffen, die eine gute Wasserlöslichkeit besitzen und keines weiteren Abbaus bedürfen. Verglichen wurden die oxidierten Maisstärketypen C*Film TCF0 7311 (Cargill) und Stabilyls A020 (Roquette). Der Oberflächenleim stellt eine 20 %ige Stärkelösung ohne weitere Zusatzstoffe dar. Höherviskose Stärkelösungen können entweder durch Erhöhung des Feststoffgehaltes oder durch Wechsel des Stärketyps erreicht werden.

Da der Leimung auch die Aufgabe zukommt, die CD-T-Partikel an der Oberfläche des Kartons zu fixieren, wurden zur Ermittlung des optimalen Pigment-Bindemittel Verhältnisses PBV Abriebtests durchgeführt. Je höher der Binderanteil, desto besser in der Regel die Scheuerfestigkeit. Es war also der geringstmögliche Binderanteil zu wählen, der noch gute mechanische Eigenschaften der Beschichtung gewährleistet.

Beispielrezeptur

Eine geringe Menge Wasser wird kalt vorgelegt und die berechnete Menge Stärke eingerührt, so dass ein zähflüssiger Brei entsteht. Dann wird die restliche Wassermenge unter Rühren zugegeben und der Ansatz auf 95 °C erwärmt. Nach 10 Minuten Rühren bei 95 °C wird unter weiterem Rühren abgekühlt. Die Einsatzmengen berechnen sich wie folgt:

	Konzentration (%)	Einsatz pro kg
Stärkepulver	97	206.2 g
Wasser	-	793.8 g

Der Feststoffgehalt des Oberflächenleims in diesem Beispiel liegt bei 20 % bei einer Viskosität (Brookfield, 25 °C) von etwa 40 mPa s. Höherprozentige Ansätze werden nach gleichem Muster hergestellt.

Diese Basisrezeptur wird dann mit den berechneten Mengen einer 25 %igen CD-T Dispersion vermischt.

Scheuertest der CD-T-Beschichtung

Als Stabilitätskriterium wurde ein modifizierter Scheuertest (Prüfbau Quartant) verwendet, in dem der Weißgrad eines ursprünglich grauen Schleifpapiers beurteilt wurde. Geringere Weißgradzunahme zeigt im Vergleich der Muster eine bessere Scheuerfestigkeit.

Die Streichfarben wurden mit 5 g/m² und CD-T-Anteilen bis 95 % auf ein ungeleimtes Papier gestrichen. Das Ergebnis der Prüfungen ist in Abbildung 6 wiedergegeben. Hier erweist sich die Beschichtung mit C*Film bei Füllgraden bis 50 % CD-T als bester Kompromiss zwischen Scheuerfestigkeit und Wirkstoffanteil.

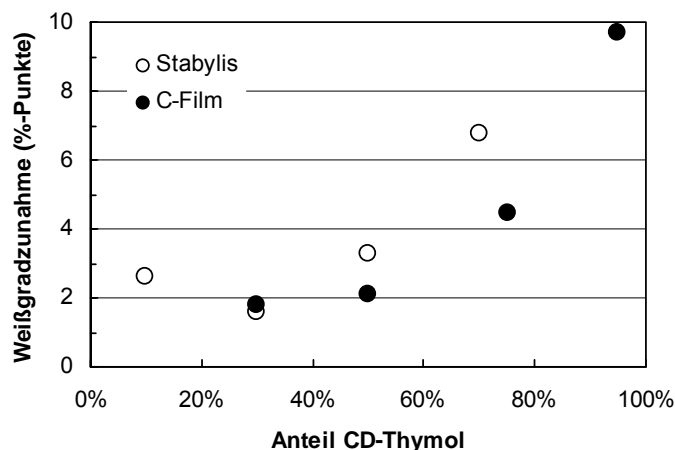


Abbildung 6: Ergebnisse des Abriebtestst von Oberflächenleimungen mit unterschiedlichen Anteilen CD-T im Leimungsmittel. Eine niedrige Weißgradzunahme des Prüfkörpers bedeutet eine gute Scheuerfestigkeit.

6.2.3 Mattstrich für den Offsetdruck

Auswahl der Rezeptur

Für die Beschichtung der Testpapiere wurde eine Rezeptur für einen einfachen Papierstrich mit 80 % Kalziumkarbonat (GCC) und 20 % Kaolin ausgewählt. Solche Striche sind geeignet für Offsetdruckanwendungen im unteren Qualitätssegment. Als GCC-Pigment wurde Covercarb 75 ME (Omya AG), als Kaolin wurde Hydragloss (KaMin LLC) gewählt.

Beispielrezeptur

GCC-Dispersion

	Konzentration (%)	Einsatz pro kg
Covercarb 75 ME	100	719.3 g
Polysalz S	47.4	1.5 g
Wasser	-	279.2 g

Der Feststoffgehalt der Dispersion liegt bei 72.2 %.

Kaolin-Dispersion

	Konzentration (%)	Einsatz pro kg
Hydragloss	98.3	691.1 g
Polysalz S	47.4	1.4 g
Wasser	-	307.5 g

Der Feststoffgehalt der Dispersion liegt bei 68 %.

Streichfarbe

	Konzentration (%)	Einsatz pro kg
Covercarb 75 Disp.	72.2	591.1 g
Hydragloss Disp.	68	156.9 g
Acronal S 360 D	42	152.4 g
Mowiol 4-98	16.8	15.1 g
Wasser	-	84.5 g

Der Feststoffgehalt der Streichfarbe beträgt 60 %.

6.2.4 Strich für den für Tiefdruck**Auswahl der Rezeptur**

Für die Beschichtung der Testpapiere wurde eine Standardrezeptur für einen einfachen Papierstrich auf Kaolinbasis mit 20 % Talkum ausgewählt. Durch die plättchenförmige Struktur der Pigmente wird eine hohe Glätte erzielt, die für den Tiefdruck eine wichtige Voraussetzung ist. Als Kaolin-Pigment wurde das Capim RG (Imerys), als Talkum wurde Finntalc C10 (Mondo Minerals) eingesetzt.

Rezepturen

Damit in der Laboranwendung geringe Strichaufträge von 5 bis 10 g/m² realisiert werden können, kann der Feststoffgehalt der Dispersion nicht beliebig hoch gewählt werden. Deshalb wurde die Streichfarbe entsprechend den Erfordernissen verdünnt und mit Carboxymethylzellulose CMC leicht angedickt.

6.3 Funktionalisierte Streichfarben

6.3.1 Porositätsmessungen an Papierbeschichtungen

Fragestellung Durch die Charakterisierung des Porensystems in beschichteten Papieren mit und ohne CD-T sollte geklärt werden, ob und in welcher Weise der Wirkstoffkomplex Porosität erzeugt oder Porosität vernichtet, was sich auf die Eigenschaften neuer Produkte auswirken könnte. Außerdem sollte die Grundlage für die Beurteilung gelegt werden, inwieweit Porosität ein entscheidendes Kriterium für die antimikrobielle Wirksamkeit ist, in dem sie eine Freisetzung des Thymols ermöglicht bzw. verhindert.

**Methode
Quecksilberporosimetrie** Zur Charakterisierung der erzielten Strich- und Papierporosität wurde die Quecksilberporosimetrie eingesetzt. Das Ergebnis ist die Volumenverteilung von Poren mit einem gegebenen zylinderäquivalenten Durchmesser dV/dR bzw. $dV/d(\ln R)$. Von allen gestrichenen Papieren wurden die Porenverteilungen untersucht. Exemplarisch seien hier Ergebnisse für einen Tiefdruckstrich auf LWC-Papier wiedergegeben.

LWC-Papier mit einem Strich für Tiefdruck Abbildung 7 links zeigt die Porenvolumenverteilungen von drei LWC-Papieren: mit 8 g/m² Tiefdruckstrich, mit 19 g/m² Tiefdruckstrich und einem CD-T-Anteil von 12.5 % sowie ungestrichen (51 g/m²).

Es kann zwischen zwei relevanten Porenregimes differenziert werden. Der Peak um 1 bis 2 µm Radius zeigt sich über alle drei Proben unverändert und kennzeichnet im Wesentlichen die Poren des Rohpapiers. Ein zusätzliches Porenvolumen unterhalb von 0.5 µm Radius taucht als Schulter des Hauptpeaks bei den gestrichenen Varianten auf und wird deshalb der Beschichtung zugeordnet.

Der Bereich oberhalb von 8 µm Porenradius zeigt sich bei Mehrfachbestimmungen sehr variabel. Vermutlich handelt es hier sich um Artefakte der Probenpräparation (Zwischenprobenvolumen) oder Fehler im Strich (Luftblasen, Risse, ...).

Die Volumina der einzelnen Porenregimes sind in Tabelle 1 zusammengestellt.

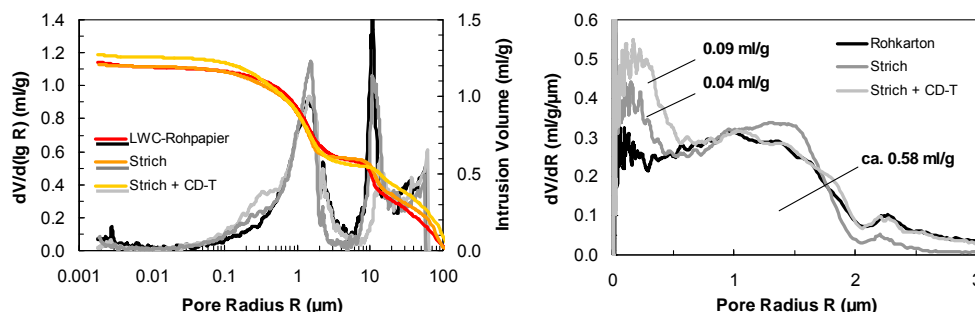


Abbildung 7: links - Intrusionskurven und Porenvolumenverteilung $dV/d(\lg R)$ von LWC-Rohpapier, sowie zweier gestrichener Varianten ohne und mit CD-T; rechts - Porenvolumenverteilung dV/dR im Radienbereich unterhalb 3 µm.

Zur Abschätzung des Porenvolumens der Beschichtung wurden in Abbildung 8 die Abweichungen der Intrusionsvolumina von den extrapolierten Geraden, die unterhalb 1 µm das Porenvolumen des Rohpapiers beschreiben, bestimmt. Das Porenvolumenverhältniss entspricht den unterschiedlichen Strichaufrägen, so dass kein Einfluss des CD-T auf die Porosität des Striches gefunden wird.

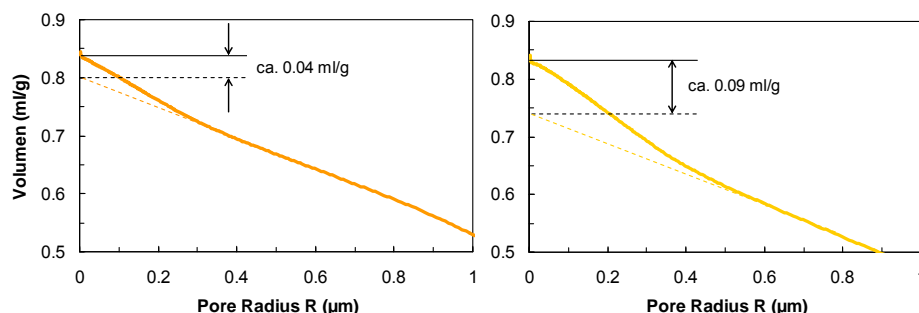


Abbildung 8: Ausschnitt aus den Hg-Intrusionskurven des LWC Papiers mit 8 g/m² Tiefdruckstrich (links) sowie mit 19 g/m² Tiefdruckstrich mit 2.5 g/m² CD-T (rechts).

Tabelle 1: Integrale Porenvolumina der drei Varianten des untersuchten LWC-Papiers und ihre Verteilung auf drei Radienbereiche.

	Summe	Porenradienbereiche		
		< 0.5 µm	< 2 µm	8 - 18 µm
LWC-Rohpapier	0.84	-	0.58	0.26
gestrichen	0.86	0.04	0.62	0.24
gestrichen + CD-T	0.81	0.09	0.67	0.14

Andere Papier- und Strichtypen

Im Rahmen des Vorhabens wurden alle Muster in vergleichbarer Weise untersucht. In keinem Fall zeigte sich ein Einfluss des CD-T auf die Porenstruktur der jeweiligen Beschichtung.

6.3.2 Einschätzung der Papiere hinsichtlich ihres Wirkstoffgehaltes

Flächenbezogene Wirkstoffmasse

Die flächenbezogene Wirkstoffmasse M_A , die über die Beschichtung aufgebracht werden kann, ist durch die erzielbare Flächenmasse der Beschichtung und deren Thymolgehalt c_{Thymol} gegeben. Aus den auf einen Kubikmeter bezogenen Innenoberflächen A^* von Standardkartons im Europalettenmaß (s. Abbildung 9) lässt sich aus diesem Wert dann das verfügbare Thymol pro Volumeneinheit c^*_{Thymol} mit der einfachen Formel

$$c^*_{Thymol} = M_A \cdot A^* \cdot c_{Thymol}$$

abschätzen.

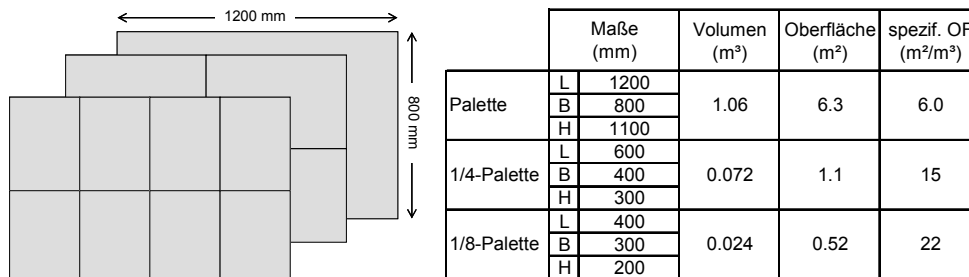


Abbildung 9: Beispielrechnung für das Volumen-Oberflächenverhältnis (spezif. OF) verschiedener Kartonverpackungen für Palettenversand.

Ergebnis aus den Laborversuchen

Je nach Produkttyp wurde in Laborversuchen ein CD-T-Auftrag von etwa $M_A = 2 \text{ g/m}^2$ bis $M_A = 10 \text{ g/m}^2$ erreicht. Die Konzentration von Thymol im CD-T lag, wie weiter oben gezeigt um $c_{Thymol} = 0.11$.

Demnach können je nach Verpackungstyp zwischen 1.3 g und 24 g Thymol pro Kubikmeter umschlossenen Volumens verfügbar gemacht werden.

6.4 Charakterisierung der antimikrobiellen Eigenschaften

Freisetzungskarakteristik und antimikrobielle Wirksamkeit

Zur Bestimmung der Freisetzungskarakteristik des Thymols aus dem CD-T bzw. aus den CD-T-haltigen Beschichtungen wurden Extraktionsmethoden, gaschromatografische sowie infrarotspektroskopische Methoden benutzt.

Die Quantifizierung der biologischen Wirksamkeit erfolgte in Petrischalenversuche mit Kulturen von *Aspergillus niger* (Schimmelpilz), *Escherichia coli* (gramnegativ) sowie *Bacillus subtilis* (grampositiv), in denen die wirksame Oberfläche des Papiers lediglich über den Gasraum mit den Kulturen in Kontakt stand.

6.4.1 Freisetzung von Thymol aus CD-T

Wahl der Methode

Da die antimikrobielle Wirksamkeit des CD-T sich über Thymol entfaltet, das aus der Probe in die Gasphase entweicht, ist es wichtig, eine klimaabhängige Freisetzungseigenschaft des Thymols aus CD-T zu bestimmen. Dazu wurden verschiedene Methoden erprobt.

Die Fouriertransform-Infrarot-Spektroskopie (FT-IR) mit Hilfe einer ATR-Messzelle (Attenuated Total Reflection) ist eine einfach einzusetzende Methode bei der qualitativen Bestimmung organischer Stoffe. Das CD-T wird dabei in Substanz hinsichtlich der Änderung seines Thymolgehaltes untersucht. Da es sich hierbei um keine Absolutmethode handelt, müssen die Spektren auf Proben mit bekanntem Thymolgehalt kalibriert werden. Auf der Basis der zweiten Ableitungen ausgewählter Abschnitte der IR-Spektren war es möglich, auch quantitative Aussagen zu treffen. Ihre Genauigkeit reichte aber für die Aufgabenstellung nicht aus.

Als zweite Methode wurden deshalb recht aufwändige GC/MS-Untersuchungen zur Bestimmung des Thymolgehaltes der Proben eingesetzt. Diese erwiesen sich bei deutlich höherem experimentellen Aufwand als zuverlässiger. Die nachfolgend dargestellten Ergebnisse entstammen im Wesentlichen diesen GC/MS Versuchen.

Zur Kontrolle wurden punktuell auch Extraktionsversuche mit Ethanol bzw. Aceton eingesetzt, die die Ergebnisse der GC/MS Analysen bestätigen konnten.

6.4.2 Gaschromatographie

Probenpräparation / Methode

Thymolstandard: Zur Herstellung der Thymolstandards 0.01 g/l, 0.05 g/l, 0.1 g/l, 1.0 g/l wurde Thymol (Roth, ≥ 99%) mittels Analysenwaage (Kern und Sohn GmbH, Electronic Balance, ABS 220-4) eingewogen und mit VE-Wasser aufgefüllt. Daraus wurden dann die entsprechenden Verdünnungen in 50 ml Flaschen hergestellt, zur GC/MS-Messung in Vials (1.5 ml; CS-Chromatographie) abgefüllt und mittels Septum dicht verschlossen.

Extraktion: Die Extraktion des Thymols aus den Pulvern wurde in Doppelbestimmung durchgeführt. Von den Thymolpulvern wurden jeweils 0,05 g mittels Analysenwaage abgewogen, in Reagenzgläser überführt und auf 10 ml Aceton aufgefüllt. Die Reagenzgläser wurden mit einem Stopfen versehen. Anschließend wurden die Proben 30 min. im Ultraschallbad (Elmasonic, S 30H) zur Extraktion des Thymols behandelt. Nach der Filtration der Proben mittels Filter (0,45 µm; Nylon; Roth) wurden die Proben in 5 ml Schraubflaschen abgefüllt und bei 4°C gelagert oder direkt zur GC/MS-Messung verwendet. Für die GC/MS-Messung wurden 1,5 ml Probe mittels Pipette abgenommen, in Crimp-Vials (1.5 ml; CS-Chromatographie) umgefüllt und mit einem Septum verschlossen.

GC/MS: Die Analyse erfolgte mittels GC/MS (Agilent Technologies GC 6890N/MSD 5973) unter Verwendung eines Autosamplers.

- **Säule:** Agilent HP-5MS (30m Länge*0.25 mm ID*0.25 µm Filmdicke)
- **Trägergas** Helium Modus: Split (20:1)

Temperaturprogramm: Die Initiale Temperatur betrug 120 °C. Von dieser ausgehend, wurde in 10°C/min Schritten bis auf 200°C die Temperatur erhöht. Die Dauer der Messung betrug 8 min.

Die Auswertung der Ergebnisse erfolgte mit dem Programm ChemStation.

Ergebnisse

Die Messungen wurden in Doppelbestimmung durchgeführt. Aus den ermittelten Peakflächen wurde der Durchschnitt gebildet und die Thymolkonzentration (g/l) anhand der Kalibriergeraden berechnet. Die Berechnung des Thymolgehaltes pro Gramm Pulver erfolgte unter Bezug des Durchschnittes der ermittelten Thymolkonzentration (g/l) auf die eingesetzte Pulvermenge (g/l). Daraus ergibt sich folgende Formel:

$$c_{\text{Pulver}} [\text{g/g}] = [(c_{1_1} + c_{1_2}) / 2] / 5.$$

Zur Berechnung des prozentualen Thymolgehaltes in dem Pulver wurde der Ausgangswert (Zeitpunkt t=0) als 100 % angenommen und darauf alle weiteren Werte bezogen.

6.4.3 Versuchsdurchführung zur Freisetzungskarakteristik

Auswahl der Klimabedingungen

Mit CD-T beschichtete Papierproben aus AP5 wurden über acht Wochen bei vier unterschiedlichen Klimata gelagert. Die Normklimaprobe lag dabei in offener Atmosphäre während die anderen drei in entsprechend präparierten Exsikkatoren gelagert wurden. In regelmäßigen Abständen wurde dabei für einen Luftaustausch gesorgt um ggf. Sättigungseffekte zu vermeiden. (s. Abbildung 10)

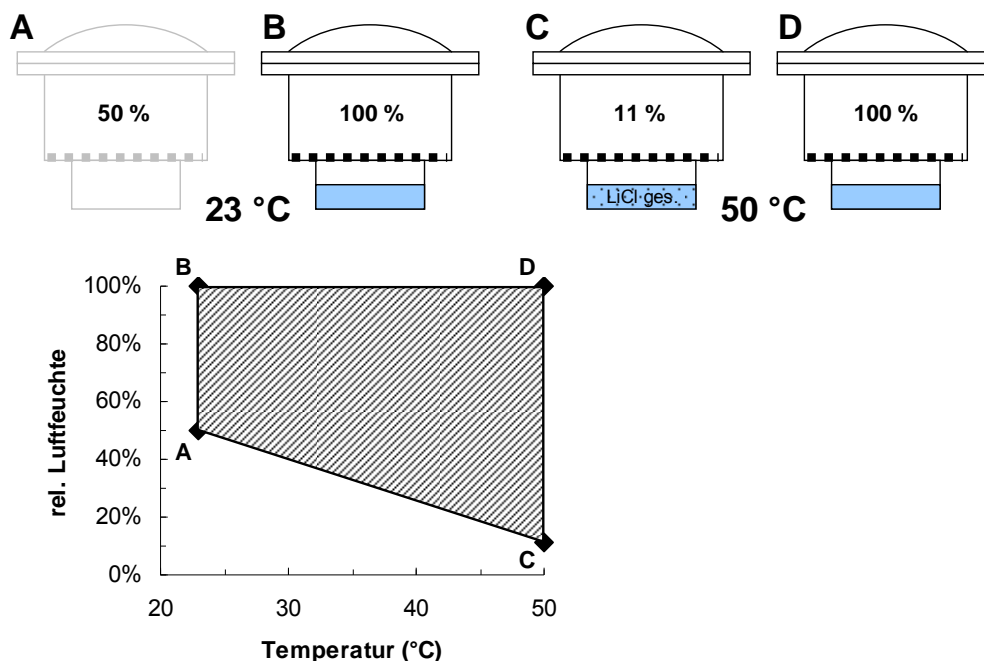


Abbildung 10: Klimabedingungen bei der Untersuchung der Thymol-Freisetzungskarakteristik. A = 23/50, B = 23/100, C = 50/11, D = 50/100 und der in diesen Versuchen aufgespannte Versuchsraum (unten).

Einfluss des Bindemittels

Um gleichzeitig eine Aussage über den Effekt des Bindemittels der Beschichtungen auf die Ausgasungskarakteristik zu erhalten, wurden Muster mit 25 %, 50 % und 75 % Bindemittel sowie freies CD-T Pulver parallel beobachtet. Ein Unterschied zwischen diesen Proben wurde in den zeitabhängigen Daten nicht deutlich, so dass ein „versiegelnder“ Effekt des Binders klar ausgeschlossen werden kann. Zur Verbreiterung der Datenbasis wurden darum die Ergebnisse aller vier Proben gemittelt.

Ergebnisse der Freisetzungversuche

Lediglich bei Probe D (feucht-warme Bedingungen) ist über lange Zeit eine Abnahme der Thymolkonzentration signifikant nachweisbar (s. Abbildung 11). Dies entspricht in sofern dem ursprünglichen Konzept, da unter solchen Bedingungen auch das Wachstum der Keime zunimmt.

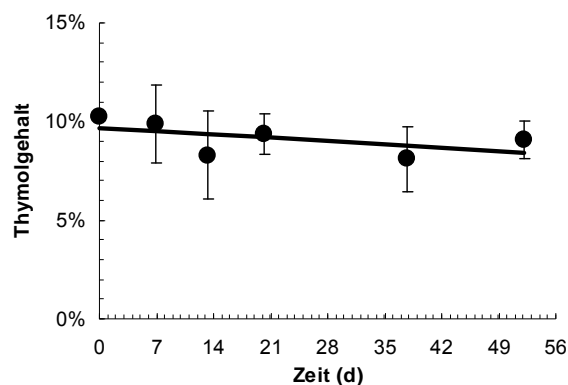


Abbildung 11: Messwerte der Abnahme der Thymolkonzentration in den Beschichtungen mit CD-T gestrichener Papierproben.

Aus der linearen Auswertung $y = ax + b$ dieser Daten ergeben sich für die Thymolabnahme folgende Zeitkonstanten in Prozent (absolut) pro Tag. Der Wert für Probe C (50/11) ist aufgrund der Streuung als nicht signifikant einzustufen.

Probe	Klima	a (%/d)
A	23/50	0.000
B	23/100	0.000
C	50/11	- 0.002
D	50/100	- 0.024

Demnach läge bei 50 °C und 100 % Luftfeuchtigkeit nach ca. 7.5 Monaten die Hälfte des Thymols in der Gasphase vor.

Bewertung der Ergebnisse

Die Freisetzungsrates des Thymols aus dem CD-T Komplex zeigt sich als außerordentlich niedrig. Unter günstigsten Klimabedingungen (feucht-warm) und ohne Einfluss von Sättigungseffekten würde nach 7.5 Monaten 50 % des Thymols in die Gasphase übergegangen sein.

Im Beispiel von Abbildung 9 (Seite 22) bedeutet dies, dass bei einem CD-T-Auftrag auf der inneren Verpackungsoberfläche von 2.5 g/m² etwa 55 g CD-T pro Kubikmeter umschlossenen Volumens vorliegen würden, wenn die spezifische Oberfläche des Kartons mit 22 m²/m³ angenommen wird (1/8-Palette). Bei einem Thymolanfangsgehalt von 11 % entspricht dies 6 g Thymol, wovon etwa die Hälfte nach gut einem halben Jahr in die Gasphase gelangt. Ein Gasaustausch mit der Umgebung muss deshalb ausgeschlossen werden, um die volle Wirksamkeit des Thymols zu entfalten.

6.4.4 Bestimmung der antimikrobiellen Wirksamkeit von Thymol und CD-T

Thymol und CD-T

Zum Nachweis der grundsätzlichen Wirkung des CD-T auf Mikroorganismen wurde zunächst ein Vorversuch durchgeführt. In zwei Petrischalen wurden 0.5 g Thymol bzw. 0.5 g CD-T mit je 1 ml Wasser gegeben. In beide Petrischalen wurden kleinere Petrischalen gestellt, die Nährböden enthielten, welche mit 1 μ l einer Vorkultur der zu untersuchenden Mikrobe *Aspergillus niger*, *Bacillus subtilis* bzw. *Escherichia coli* beaufschlagt waren. Die äußeren Petrischalen wurden verschlossen und für 48 h bei 25 °C inkubiert (s. Versuchsaufbau Abbildung 12). Danach wurde die antimikrobielle Wirksamkeit der Probe bewertet.

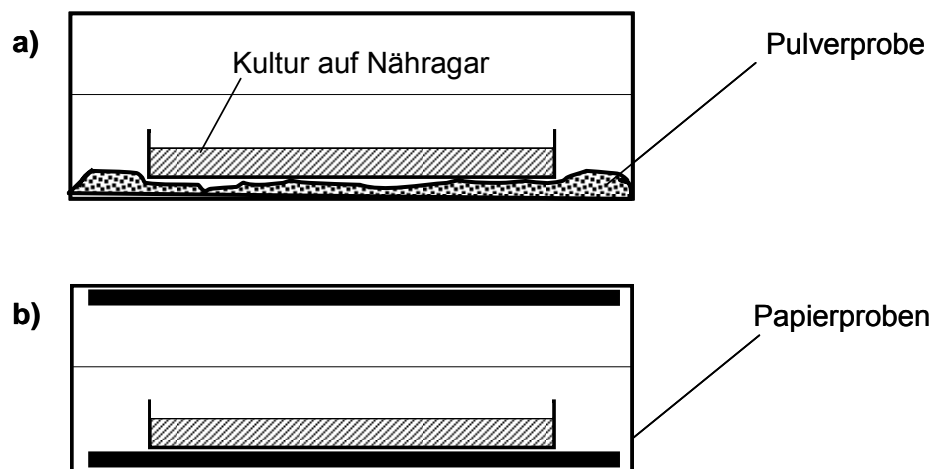


Abbildung 12: Versuchsaufbau für antimikrobielle Wirksamkeitstests. In einer äußeren, verschlossenen Petrischale befindet sich eine kleinere, offene Petrischale mit dem Nähragar. Der Wirkstoffkomplex wurde als Pulver (a) bzw. als Papierprobe (b) in die äußere Petrischale gegeben.

Herstellung der Vorkulturen

Eine Vorkultur des Testkeims wird durch Animpfen einer Nährbouillon hergestellt. Die Keime in dieser Kultur durchlaufen dann typischerweise drei Wachstumsphasen. Zunächst erfolgt exponentielles Wachstum (exponentielle Phase) bis die Nährstoffsituation und die Ausscheidung von Stoffwechselprodukten dazu führt, dass Wachstum und Absterben sich in etwa die Waage halten (stationäre Phase). Wenn die Sterberate schließlich die Wachstumsrate übertrifft, sinkt die Keimkonzentration ab (Sterbephase). Erfahrungsgemäß dauert die exponentielle Phase einige Tage und nach etwa zwei Wochen wird die Suspension unbrauchbar [28]. So bleibt ein Zeitfenster von gut einer Woche, in dem die Suspension in ihrer stationären Phase reproduzierbare Ergebnisse gewährleistet. Die Vorkulturen wurden nach einer Animpfzeit von 5 Tagen eingesetzt und nach weiteren 7 Tagen verworfen.

Herstellung von auszählbaren Mustern

Aus der Vorkultur (Schüttelkolben mit Nährbouillon und Testkeim *E. coli*) wird eine Verdünnungsreihe erstellt und auf Nähragar ausplattiert. Danach erfolgt die Inkubation in Anwesenheit der zu testenden Probe im geschlossenen Volumen bei 30°C für 24h und anschließende Bestimmung der koloniebildenden Einheiten durch direkte Keimauszählung.

**Bewertungs-
methode**

Das Ergebnis eines Brutversuches bildet jeweils die Anzahl „koloniebildender Einheiten“ (KBE), die sich in zählbaren Flecken auf dem Nähragar äußert. Dabei wurde folgendes, halbquantitatives Bewertungsschema angesetzt:

koloniebildende Einheiten (KBE)	Bewertungsklasse
50 – 100	1
100 – 200	2
200 – 500	3
500 – 1000	4

Ergebnisse

Bei allen eingesetzten Mikroorganismen zeigte sich ein einheitliches Bild. Während das freie Thymol unter den Versuchsbedingungen das Keimwachstum vollständig unterdrückt, ist keine Wirksamkeit des Komplexes zu erkennen. In Abbildung 13 ist das Ergebnis beispielhaft für *Bacillus subtilis* dargestellt.

Auch die Veränderung der eingebrachten Wirkstoffmenge, der CD-T Charge oder der Wasserzugabe brachte kein anderes Ergebnis zu Tage.

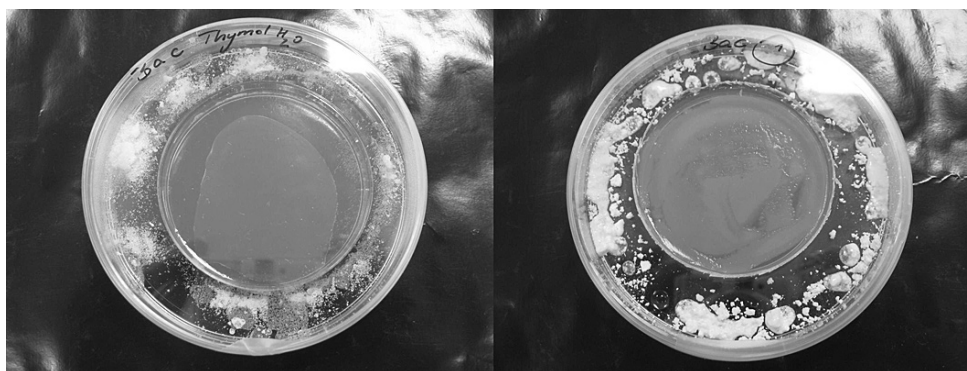


Abbildung 13: Ergebnis des Wachstumsversuchs von *Bacillus subtilis* in Gegenwart von Thymol (links) und CD-T (rechts).

Schlussfolgerung

Unter den gewählten Versuchsbedingungen liegt über dem CD-T keine ausreichend hohe Konzentration an Thymol im Gasraum vor. Eine messbare Hemmung des Keimwachstums wird nicht erzielt. Freies Thymol hingegen wirkt erwartungsgemäß antimikrobiell.

Um dennoch einen messbaren Effekt zu erzielen, wurde der Fokus auf die Keimkonzentration gelegt. Im Folgenden wurde ermittelt, welche Keimkonzentration niedrig genug ist, um auch bei den geringen verfügbaren Thymolkonzentrationen eine messbare Wachstumshemmung zu gewährleisten.

Verdünnung der Stammsuspension

Da die Standardprozedur zur Bestimmung des Keimwachstums nicht die benötigte Empfindlichkeit aufweist, wurde eine modifizierte Methode mit stark verringerter Keimzahl in der Stammsuspension erarbeitet. Ziel war es, eine Konzentration zu finden, bei der schon ohne den Einsatz eines Wachstumshemmenden Zusatzes das Ergebnis gerade noch auszählbar ist.

Dazu wurde aus einer *E. coli* Vorkultur eine Verdünnungsreihe erstellt und auf Nähragar ausplattiert. Danach erfolgt die Inkubation im Klimaschrank bei 30 °C für 24 h und anschließende Bestimmung der koloniebildenden Einheiten durch direkte Keimauszählung.

- Testorganismus: *Escherichia coli* (gram negativ, DSMZ 498)
- Medium: Standardnähragar
- Inkubationstemperatur: 30°C
- Inkubationszeit: 24h

Zur Auswertung wurde der oben vorgestellte Bewertungsschlüssel angesetzt, wobei soweit es das Ergebnis zuließ, auch gebrochene Werte herangezogen, um eine Differenzierung *innerhalb der Bewertungsklassen* zu erhalten. Das Ergebnis der Versuche ist in Abbildung 14 dargestellt. Es zeigt sich, dass erst bei einer Verdünnung von 1:3000 das Keimwachstum unter den vorliegenden Bedingungen so schwach ist, dass das Ergebnis auch ohne wachstumshemmende Faktoren auszählbar bleibt.

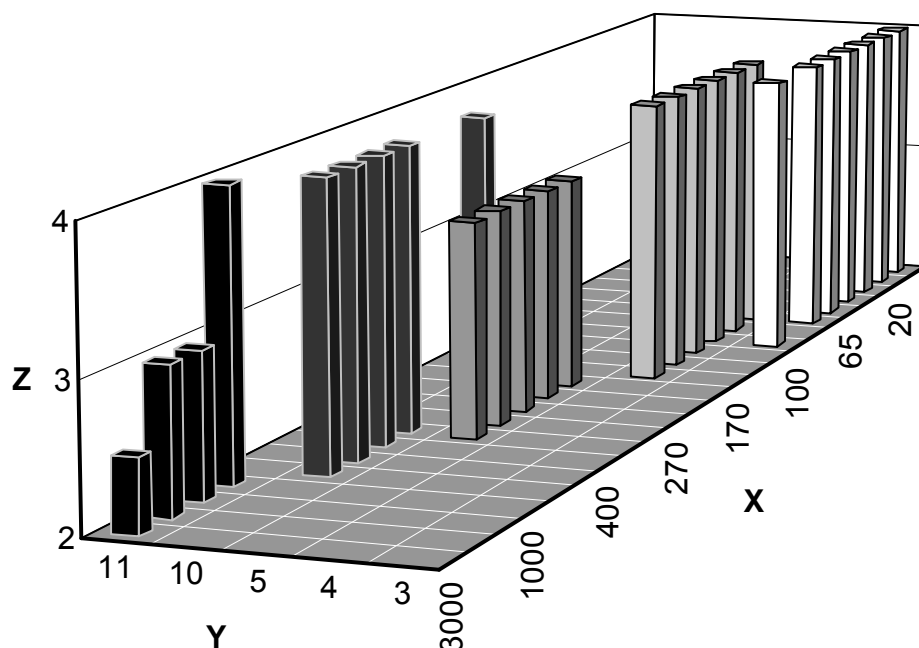


Abbildung 14: Ergebnis der Versuchsreihe zur Bestimmung einer Zielverdünnung der Stammsuspension. X: reziproker Verdünnungsfaktor (z. B. 1:170), Y: Alter der Stammsuspension in Tagen, Z: Bewertungsergebnis (24 h Inkubation bei 30 °C).

Wirksamkeit von CD-T bei verringerter Keimkonzentration

Nach diesen Ergebnissen liegen bei sehr starker Verdünnung der Keimsuspension ausreichend schlechte Wachstumsbedingungen vor, die auch für die durch den Einsatz des Wirkstoffkomplexes schwache Konzentration von antimikrobiellem Wirkstoff in der Gasphase empfindlich genug ist. So wurde in einem neuen Versuch die Wirksamkeit unterschiedlicher CD-T Mengen in einem geschlossenen Volumen quantitativ verglichen. Dazu wurden vier Verdünnungsstufen einer Stammsuspension von E. coli (1:1000 bis 1:7000) gewählt. Diese wurden auf Standardnähragar ausplattiert und über 24 h bei 30 °C in einem geschlossenen Volumen vier unterschiedlichen CD-T-Mengen ausgesetzt. Das Ergebnis für 1:7000 ist beispielhaft in Abbildung 15 dargestellt. Das Auszählergebnis aller Versuche ist in Abbildung 16 zusammengefasst.

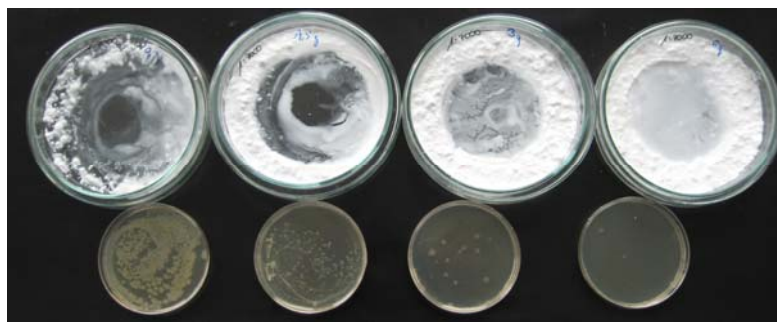


Abbildung 15: Versuchsergebnis bei Verdünnung E.-coli-Stammsuspension auf 1:7000 bei 0.3 g, 1.5 g, 3.0 g, 6.0 g CD-T Einwaage (v.l.n.r.).

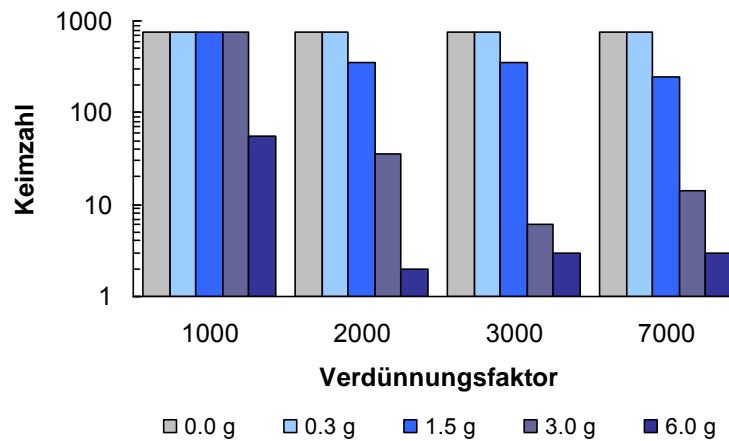


Abbildung 16: Auszählergebnis der Keimzahlen bei unterschiedlichen Verdünnungen der Bakterien-Stammsuspension und CD-T Einwaagen bis 6.0 g.

Die Auszählung der koloniebildenden Einheiten zeigt hier, dass ab einer Verdünnung von 1:2000 ein ausreichend differenziertes Ergebnis erzielt wird. Bei den Kontrollversuchen ohne CD-T wird durchgängig ein vollständiger Bewuchs des Nährbodens beobachtet¹.

Um eine Vorstellung über die Reproduzierbarkeit der Versuche zu erhalten wurde ein Wiederholungsansatz durchgeführt, der qualitativ vergleichbare Ergebnisse lieferte. Eine Zusammenstellung der relevanten Mittelwerte gibt Abbildung 17.

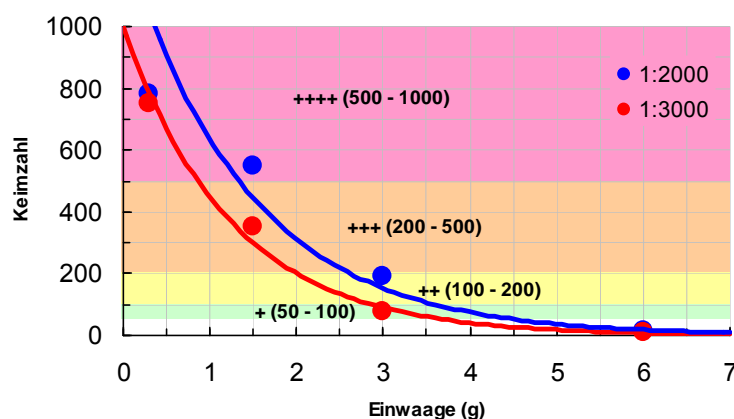


Abbildung 17: Mittelwert der ausgezählten Keimzahl gegen die eingesetzte CD-T Menge je zweier Wachstumsversuche mit E. coli Bakterien bei 2000facher und 3000facher Verdünnung der Stammsuspension. Bei nicht auszahlbaren Ergebnissen wurde das farbig dargestellte Klassifizierungsschema nach + bis ++++ eingesetzt.

Normierung auf ein Einheitsvolumen

Der Gasraum über dem Nährboden beträgt bei der verwendeten Versuchsanordnung ca. 49.7 cm³. Somit lässt sich abschätzen, dass um eine deutlich Hemmung des Keimwachstums zu erzielen, mindestens 30 kg Thymol pro Kubikmeter umschlossenen Volumens benötigt würden. Diese Zahl basiert auf der Annahme, dass die In-vitro-Versuchsbedingungen mit einer Verdünnung von 1:2000, bis 1:3000 reale Wachstumsbedingungen darstellen.

¹ Im Vorversuch s. S. 29, „Verdünnung der Stammsuspension“ wurde gefunden, dass bei 1:2000 nur noch ein reduzierter Bewuchs stattfindet. Erklärt werden kann dies kann mit dem Alter der betreffenden Stammsuspension, die möglicherweise schon am Beginn der Sterbephase stand.

Fazit aus den Keimwachstumsversuchen

Vor dem Hintergrund des Ergebnisses aus Abschnitt 6.4.1, dass nämlich die Thymolkonzentration in praktisch relevanten Verpackungsanwendungen unter 6 g pro m³ umschlossenen Volumens liegen wird, muss die unmittelbare Umsetzbarkeit des Wirkprinzips im Sinne der Projektidee in Frage gestellt werden. Bevor das Konzept zum Einsatz kommen kann, müssen neue Ideen entwickelt werden, die geeignet sind, die gefundenen Limitierungen zu umgehen.

Experimentelle Unsicherheiten konnten nicht quantitativ abgeschätzt werden. Da aber lebende Kulturen besonders schwierig zu beherrschen sind, müssen diese als verhältnismäßig groß angenommen werden. Jedoch ist die ermittelte Diskrepanz zwischen 6 g verfügbarem und 30 kg benötigtem Thymol pro Kubikmeter umschlossenen Volumens so groß, dass die Aussagekraft zumindest *qualitativer* Hinsicht groß ist, wenn auch quantitative Unsicherheiten bestehen.

Ein Ansatz für die weitere Bearbeitung des Themas ergäbe sich, wenn selbst eine Verdünnung der Stammsuspension von 1:3000 die natürlichen Wachstumsbedingungen noch deutlich überschätzen würde. Diese Frage konnte im Projekt und mit der in der PTS zur Verfügung stehenden Expertise nicht geklärt werden.

6.5 Applikation der antimikrobiellen Beschichtung im Pilotmaßstab

Auswahl des Produktaufbaus für Pilotversuche

Für Beschichtungsversuche im Pilotmaßstab wurde eine technologisch-wirtschaftlich aussichtsreiche Referenzanwendung ausgewählt. Die vorangegangenen Untersuchungen hatten gezeigt, dass Chancen für ein Verpackungsmittel mit einer antimikrobiellen Beschichtung auf Cyclodextrin-Thymol-Basis, wenn überhaupt, dann vor allem im Bereich der Wellpappen liegen. Zwar ist es technisch möglich, auch Druckpapiere für Offset- oder Tiefdruckverfahren mit CD-T auszurüsten, in diesem Bereich sind aber derzeit keine wirtschaftlich interessanten Anwendungskonzepte verfügbar.

Der Pilotversuch zur Ausrüstung eines Produktes mit einer potenziell antimikrobiell wirksamen Oberfläche wurde deshalb mit einem Kraftpapier als Substrat durchgeführt. Für die antimikrobielle Beschichtung wurde die Rezeptur auf der Basis einer einfachen Oberflächenleimung gewählt, um ein Produkt zu erhalten, das auch wirtschaftlich die Anforderungen des Marktes erfüllen kann.

Auftragsverfahren

Neben dem klassischen Auftragsverfahren mittels einer Leim- oder Filmpresse gibt es die Möglichkeit, Spühaggregate einzusetzen. Vorteile sind eine hohe Effizienz, gute Dosierbarkeit und Toleranz gegenüber unterschiedlichen rheologischen Charakteristika der Streichfarben. Außerdem wäre eine Sprüheinrichtung in einer Papiermaschine erforderlichenfalls vergleichsweise einfach nachzurüsten. Vor allem aber die hohe Materialeffizienz war ausschlaggebend für die Entscheidung, die Pilotversuche mit einer Sprüheinrichtung durchzuführen.

Anpassung der Laborrezepturen auf den Technikumsversuch

Für den Auftrag der Streichfarben mit einer Sprüheinrichtung sind bestimmte Eigenschaften der Streichfarbe, die über die Anforderungen ihres Einsatzes für Laborversuche hinausgehen. Dazu zählen insbesondere die Parameter

- Oberflächenspannung,
- dynamische Viskosität (scherratenabhängig).

Weitere Parameter wie z. B. Grobkornanteil oder Feststoffgehalt wurden nicht über die im Labor erfolgten Streichfarbenentwicklungen hinaus optimiert.

Einsatz von Verdickungsmitteln

Um die Eignung einer Farbe für den Sprühauftrag zu beurteilen, setzt der Praktiker einen Auslaufbecher ein. Je nach Applikation gibt es bestimmte Erfahrungswerte, nach welcher Zeit eine definierte Farbmenge mittels der Schwerkraft durch die kalibrierte Auslauföffnung gelaufen ist. Zur Farbentwicklung in diesem Projekt wurden solche Versuche mit rheologischen Messungen ergänzt. Dazu wurde ein Rotationsviskosimeter Bohlin CVO der Fa. Malvern mit einem Platte-Platte-Messsystem verwendet. Als Verdickungsmittel wurde Acroflex VX 651 (BASF) eingesetzt. In Abbildung 18 sind die Ergebnisse der Auslaufbecherversuche und der Viskositätsmessung gegenübergestellt. Abbildung 19 zeigt anhand der Viskositätsverläufe gegen die Scherrate, dass der Verdicker dem System eine erhebliche Strukturviskosität verleiht, die dem Sprühauftragsverfahren zuträglich ist. Eine praktikable Einsatzmenge ergibt sich aus den Versuchen mit 0.05 % einer 5 %igen Verdickerlösung bezogen auf den Gesamtansatz.

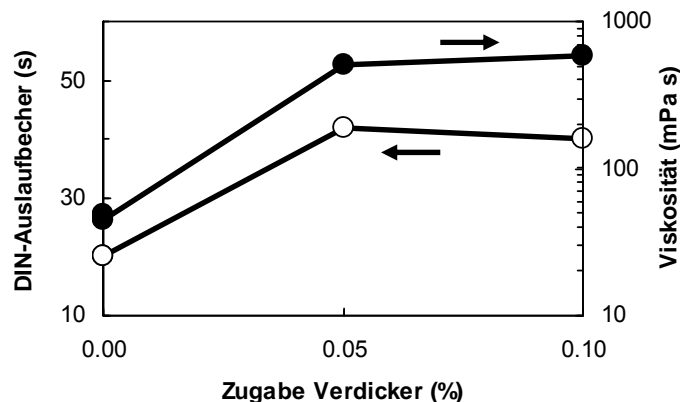


Abbildung 18: Ergebnisse der Auslaufbecherversuche und Viskositätsmessungen (mittlere Scherrate 10 s⁻¹) bei unterschiedlichen Einsatzmengen von Verdicker.

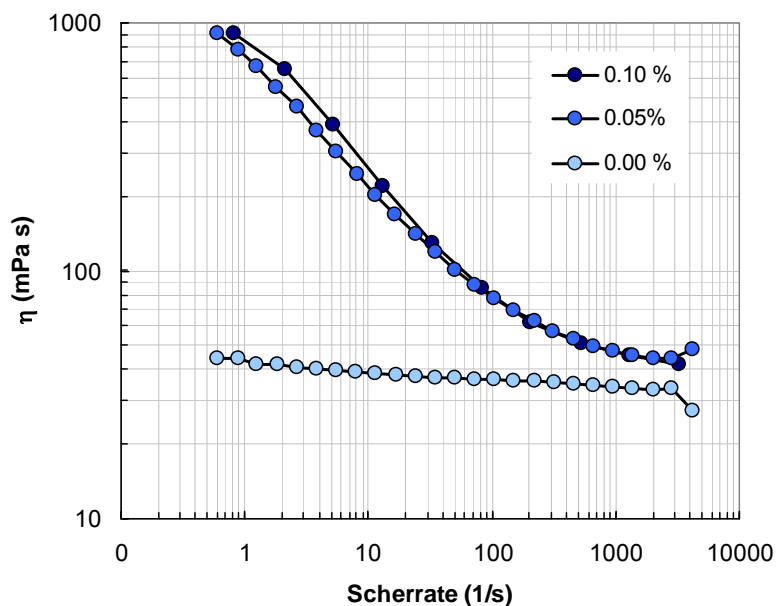


Abbildung 19: Scherratenabhängige dynamische Viskosität bei unterschiedlichen Verdickermengen.

Auswahl des Netzmittels

Bei der gewählten Auftragsmethode handelt es sich um einen Prozess mit hohen Scherraten. Für ein einzusetzendes Netzmittel bedeutet dies, dass es sehr schnell an die Oberfläche eines Tröpfchens diffundieren muss, um dort wirksam zu werden. Eine geeignete Testmethode zur Bestimmung der Dynamik von Netzmitteln ist die Messung der Oberflächenspannung nach der Blasendruckmethode [29]. In einem Screening wurden Netzmittel getestet, indem das abzentrifugierte Serum der Streichfarbe mit unterschiedlichen Netzmittelmengen versetzt und untersucht wurde. Abbildung 20 zeigt das Ergebnis für zwei ausgewählte Netzmittel. In den Beschichtungsversuchen wurde daraufhin das Produkt BYK-3400 (BYK-Chemie) eingesetzt, das eine recht gute Absenkung der Oberflächenspannung gegenüber dem Null-Versuch zeigt, diese niedrigen Werte aber schon bei geringeren Scherraten erreicht als beispielsweise Zonyl FSN (Du-Pont), links im Bild. Die am besten wirksame Konzentration wurde mit 0.4 bis 0.5 Vol.-% ermittelt.

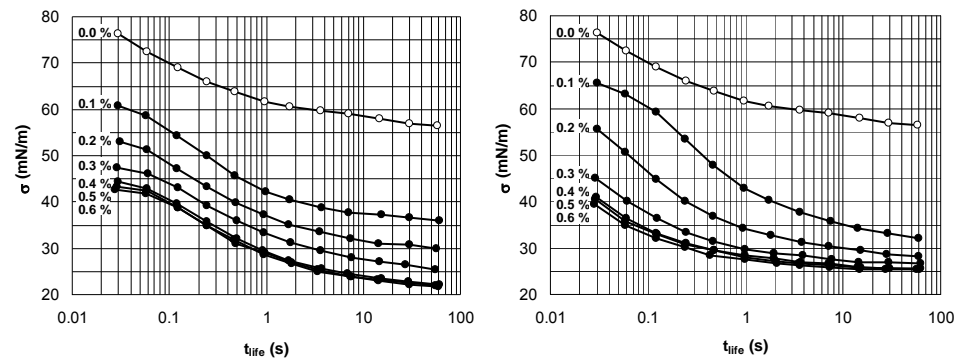


Abbildung 20: Dynamische Oberflächenspannung der Streichfarbe für Sprühversuche mit Zusatz von Netzmitteln. Links: Zonyl FSN, rechts: BYK-3400.

Streichfarbenrezeptur

Auf der Basis dieser Vorversuche wurde eine Streichfarbe auf Basis 50 % CD-T und 50 % Stärke mit Zusatz von Verdickungsmittel und Netzmittel hergestellt. Die genaue Ansatzrezeptur findet sich in Abschnitt **Fehler! Verweisquelle konnte nicht gefunden werden.**

Charakterisierung der Streichfarbe

Die Ausprüfung der eingesetzten Streichfarbe ergab folgendes Ergebnis:

- Feststoffgehalt 27.7 %
- pH 7.3
- Viskosität 138 mPa s (Brookfield, 100 U/min., 25 °C, Spindel 62)
- Viskosität 520 mPa s (Bohlin CVO, 10 s⁻¹, 25 °C, PP)
- Oberflächenspannung 28 mN/m (Sita Blasendruckmethode, t = 30 s)

Versuchsdurchführung

Die Sprühversuche wurden auf der Versuchspapiermaschine der PTS Heidenau durchgeführt (s. Abbildung 21). Dazu wurde diese mit Zweistoffdüse 930-33 der Fa. Düsen-Schlick GmbH mit einer Durchsatzmenge von 20 bis 500 ml/min versehen, die am Ende des Langsiebes angebracht war. Vorkonfektionierte Bögen eines Kraftpapiers (Kabelpapier 706, 130 g/m², Fa. Kämmerer Osnabrück) wurden auf das Sieb aufgebracht, dort befeuchtet und dann in einem Durchgang mit der Streichfarbe (s. Abschnitt **Fehler! Verweisquelle konnte nicht gefunden werden.**) beaufschlagt. Anschließend wurden die Papiere mit Heißluft von 105 °C getrocknet und über innenbeheizte Trockenzylinder geglättet.

In drei Versuchsteilen wurden bei einer Maschinengeschwindigkeit von 2 m/min und einer nominellen Auftragsbreite von 40 cm folgende Auftragsgewichte appliziert

1. 10 g/m² (35 ml/min)
2. 15 g/m² (50 ml/min)
3. 20 g/m² (70 ml/min).



Abbildung 21: Versuchspapiermaschine der PTS in Heidenau (links) und Demonstration der Sprüheinrichtung über dem Langsieb (rechts).

Prüfung der Muster

Neben der optischen Bewertung der gestrichenen Papiere wurden die gleichen Prüfungen wie bei den Laborpapieren durchgeführt. Dazu zählte die Hg-Porosimetrie, diverse Beurteilungen mittels Licht- und Elektronenmikroskopie, Berstwiderstand nach Mullen und Streifenstauchwiderstand SCT. Hinsichtlich Bedruckbarkeit wurde die Rupffestigkeit für Offsetdruck beurteilt. Abgesehen von einer höheren Gleichmäßigkeit des Strichs waren alle Ergebnisse vergleichbar mit den Messungen an Labormustern.

Im antimikrobiellen Versuch konnte die Wirksamkeit dieser Muster, wie nach den oben beschriebenen Ergebnissen erwartet wurde, nicht nachgewiesen werden. Dies wird wie zuvor beschrieben auf die geringe zu Verfügung stehende Thymolkonzentration sowie auf im Laborversuch sehr günstige Wachstumsbedingungen zurückgeführt.

6.6 Wiederbeladung des Depots im Papierstrich

Möglichkeit zur Wiederbeladung

Die Möglichkeiten zur erneuten Beladung der leeren Cyclodextrin-Depots im Strich wurden untersucht. Folgende Fragestellungen waren zu klären:

- Ist eine erneute Beladung überhaupt möglich?
- Unter welchen Bedingungen (Temperatur, Eintragsform des Thymol)?
- Dauer und Ausmaß einer Wiederbeladung?
- Sind Abhängigkeiten erkennbar?

Methoden der Wiederbeladung

Grundsätzlich sind Wiederbeladungen in flüssiger oder gasförmiger Phase möglich. Flüssigkeitsbasierte Prozesse, von denen in praktischer Hinsicht nur wässrige Prozesse interessant sind, scheiden grundsätzlich aus, da davon auszugehen ist, dass der Trägerstoff Papier so weit in Mitleidenschaft gezogen wird, dass er für eine erneute Anwendung unbrauchbar wird.

Für eine Wiederbeladung über die Gasphase wurde folgender Versuchsaufbau gewählt. In ein Schraubgefäß wird β -Cyclodextrin und, von diesem durch ein offenes Becherglas getrennt, Thymol im Überschuss gegeben. Zu dieser Anordnung wird ein aus Filterpapier gefalteter Beutel mit trockenem Silicagel gegeben und die Versuchsanordnung fest verschlossen. Das Silicagel soll in der Reaktion



durch Bindung des Wassers das Gleichgewicht Richtung CD-T verschieben.

Diese Anordnung wurde über zehn Wochen bei 50 °C gelagert. In regelmäßigen Abständen erfolgte eine Probenahme sowie die Bestimmung des Thymolgehaltes des Cyclodextrin.

Ergebnis

In keiner Probe konnte Thymol in Form von CD-T nachgewiesen werden. In der IR-Spektroskopie erscheint eine charakteristische Bande des CD-T (1290 cm^{-1}) beim CD auf 1300 cm^{-1} verschoben. Auch alle Spektren der Wiederbeladungsversuche zeigen diese Verschiebung (Abbildung 22), so dass davon ausgegangen werden kann, dass ein Übergang des Thymols nicht in verwertbaren Mengen stattfindet. Es gelingt also nicht, Thymol über die Gasphase in den Komplex zurückzuführen.

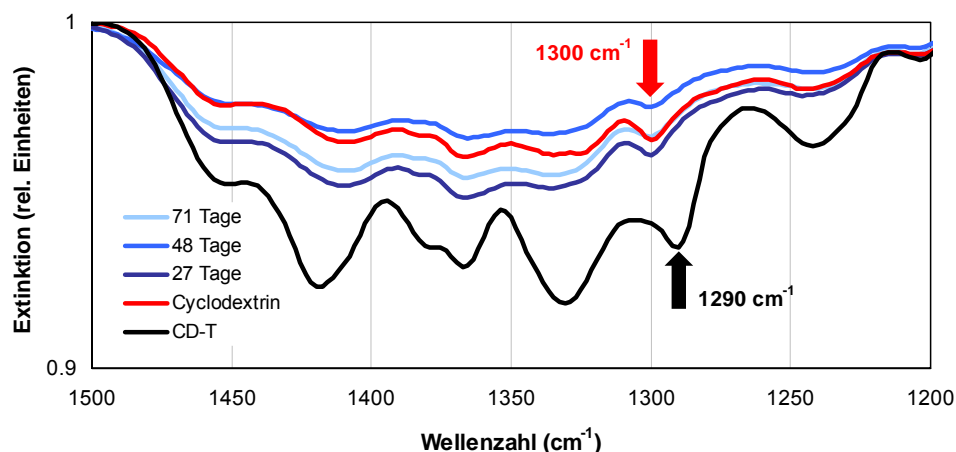


Abbildung 22: Ausschnitt aus den FT-IR-Spektren der Wiederbeladungsversuche. Die in der Legende angegebene Anzahl an Tagen markiert die Versuchsdauer für die einzelnen Proben. Verglichen wird mit reinem CD-T (schwarz) und reinem β -Cyclodextrin (rot).

Auch in der acetonischen Extraktion der Muster und Untersuchung der Extrakte mit GC/MS wird kein Thymol unter den Hauptkomponenten gefunden.

Bewertung

Es ist offensichtlich nicht möglich, über einfachen Gasphasentransfer Thymol in nennenswerter Menge in das β -Cyclodextrin zurückzuführen. Da der Dampfdruck des Thymol sehr niedrig ist (2.5 hPa bei 50 °C [30]), überrascht dieser Befund nicht. Unter wirtschaftlichen Gesichtspunkten ist praktisch jedoch lediglich ein zügiger (= billiger) Prozess von Interesse. Diese Möglichkeit muss aufgrund der vorliegenden Ergebnisse ausgeschlossen werden.

Aufwändigere Verfahren unter Einsatz von Lösemitteln würden sich allein unter Wirtschaftlichkeitsgesichtspunkten verbieten.

7 Schlussbetrachtung und Optionen für Anschlussforschung

**Neues Konzept
zum Schutz
gegen
Mikrobenbefall**

Im Rahmen des Projektes wurde ein Konzept verfolgt, das es erlauben soll, verderbliche Güter durch eine spezielle Umverpackung vor dem Angriff von Keimen zu schützen. Als Wirksubstanz sollte der β -Cyclodextrin-Thymol-Komplex (CD-T) in der inneren Beschichtung von Verpackungsmitteln eingesetzt werden. Die antimikrobielle Wirkung des Thymols soll sich dabei kontaktlos über die Gasphase entfalten.

Die Ergebnisse der Untersuchungen ließen eine Umsetzung des Konzeptes in der vorgeschlagenen Form nicht zu. Es gibt eine erhebliche Diskrepanz (ca. drei Größenordnungen) zwischen der für einen wirksamen Schutz benötigten und der über gängige Streichverfahren und Verpackungskonzepte in dieser Form erzielbaren Thymolkonzentration im Gasraum. Die unmittelbare Entwicklung eines neuen Schutzverfahrens ergibt sich somit nicht, jedoch konnten Randbedingungen für weitere Untersuchungen oder verbesserte Konzepte geklärt werden.

**Erzielte
Ergebnisse und
Optionen**

Folgende Aspekte lassen sich aus den erarbeiteten Ergebnissen ableiten.

- Der CD-T Komplex ist gegenüber kaltem Wasser ausreichend stabil, um ohne nennenswerten Thymolverlust in wässrige Rezepturen eingearbeitet zu werden.
- Die Beeinflussung der Qualität von bestimmten Produkten hinsichtlich ihrer Primäranwendung (Verpackung) kann auf die recht grobe Teilchenstruktur des CD-T reduziert werden. Der Binderbedarf sinkt, die Porosität der Umgebenden Matrix (Papier oder Strich) bleibt unbeeinflusst. Sehr glatte Oberflächen oder Beschichtungen mit hohem Glanz und hoher Transparenz sind nur mit modifizierter Teilchenstruktur (Nanopartikel) vorstellbar.
- Die Abgabe des Thymols an die Umgebung erfolgt äußerst langsam, so dass ein sehr wirkungsvoller Depot-Effekt erreicht wird. Im Gegenzug kann daraus geschlossen werden, dass die Aufnahme von Thymol unter geeigneten Bedingungen bereitwillig geschieht. Dies kann dazu genutzt werden, z. B. in geringen Konzentrationen freigesetzte, unerwünschte oder schädliche Spurenstoffe von einer mit freiem β -Cyclodextrin beschichteten Verpackungsoberfläche zu binden. Die Neutralisierung unerwünschter Gerüche wäre ein denkbares Anwendungsbeispiel. Zwar hat das Projekt gezeigt, dass eine Neubeladung des Cyclodextrin über die Gasphase sinnvoll ist, eine „Beseitigung“ von Spurenstoffen bleibt aber denkbar.
- Es zeigt sich, dass die antimikrobielle Wirksamkeit sich nutzen lässt, wenn der Keimbefall gering ist, das Wachstum der Keime also langsam erfolgt. Deshalb ist es vorstellbar, dass die Wirkung des CD-T gegenüber einzelnen Keimen, wie sie bei einem Neubefall eines unverkeimten Produktes vorliegen dürften, bessere Ergebnisse liefern.
- Da die Wirksamkeit des Thymols über die Gasphase wegen seiner starken Bindung schwach ist, kann das Material ggf. eingesetzt werden, um Papiere selbst vor einem Befall und vor der Zersetzung zu schützen. Aufgrund der guten Wasserbeständigkeit wäre ein Einsatz auch in der Masse möglich.
- Die beobachtete sehr langsame Freisetzung des Wirkstoffes kann positiv nutzbar gemacht werden, wenn es gelingt, stärker wirksame Antiseptika als das Thymol in einen solchen Komplex mit Cyclodextrin zu bringen. Gegebenenfalls können auf diesem Weg Stoffe eingesetzt werden, deren Gebrauch sich heute aufgrund toxischer Wirkungen verbietet, die aber in kontrolliert geringer Konzentration erwünschte Effekte wie z. B. antimikrobielle Wirksamkeit entfalten.

Weiterverfolgung des Ansatzes. Die aufgeführten Aspekte geben Ansatzpunkte für Untersuchungen und Entwicklungen, die für ein interessiertes Unternehmen durchgeführt werden können. Es ist dann zu klären, welches die wirklichen Befallsituationen sind. Genau diese müssten in einem In-vitro-Versuch modelliert werden. Hier hat die PTS durch dieses Projekt Kompetenzen erarbeitet, die in ihrem Beratungs- und Auftragsforschungsgeschäft weiter vermarktet werden können.

Eine verbesserte Teilchenfeinheit des Ausgangsproduktes wäre einer größeren Vielfalt von denkbaren Anwendungen dienlich. Gelänge es, CD-T als „Nanoteilchen“ zur Verfügung zu stellen, kann der hier verfolgte Forschungsansatz wieder von Interesse sein. Die Freisetzungseigenschaft sollte sich deutlich zu Gunsten eines schnelleren Phasenüberganges des Thymols verbessern (in beide Richtungen!). Die Einschränkungen bei Glätte, Glanz sowie Transparenz für den Einsatz in Beschichtungen wären beseitigt.

Ansprechpartner für weitere Informationen:

Dirk Fiedler
Tel. 03529 / 551-669
dirk.fiedler@ptspaper.de

Dr. Burkhard Schmidt-Brücken
Tel. 03529 / 551-682
Burkhard.Schmidt-Brücken@ptspaper.de

Papiertechnische Stiftung PTS
Pirnaer Straße 37
01809 Heidenau
Tel. 03529 / 551-60
Fax 03529 / 551-899

e-Mail: info@ptspaper.de
www.ptspaper.de

Literaturverzeichnis

- [1] APPENDINI P., HOTCHKISS J.H.
Review of antimicrobial food packaging., *Innov. Food Sci. Emerg.* 3, 113-126, 2002.
- [2] <http://www.trevira.de>
Polymerfaser mit Silber Trevira BioActive™, Zugriffsdatum: 30.06.2008.
- [3] <http://www.lindner-socks.com>
Silberhaltiges Gewebe silversoft™, Zugriffsdatum: 30.06.2008.
- [4] <http://www.nucryst.com/application.htm>
ACTICOAT™ für Wundauflagen, Zugriffsdatum: 30.06.2008.
- [5] KENSBOCK E., Antimikrobielle Verpackungen – Eigenentwicklungen und Testmethoden, Symposium „Aktive und kommunikative Verpackungen“, 2003.
- [6] Fraunhofer-Gesellschaft zur Förderung der angewandten Forschung e.V.
Offenlegungsschrift DE 102005027347A1, 2006.
- [7] RN, Schutz vor Bakterien und Viren. Technologie Transfer Magazin, Ausgabe 1, Januar 2002.
- [8] Wacker Chemie AG, Da liegt was in der Luft – wenn Düfte wirken: Wände mit neuen Funktionen., Feature Dienst, Nr 3, Mai 2007.
- [9] AESCHBACH R., LOLIGER J., SCOTT B.C., MURCIA A., BUTLER J., HALLIWELL B., ARUOMA O.I., Antioxidant actions of thymol, carvacrol, 6-gingerol, zingerone and hydroxytyrosol., *Food Chem. Toxicol.* 32, 31–36, 1994.
- [10] ALAM K., NAGI M.N., BADARY O.A., AL-SHABANAH O.A., AL-RIKABI A.C., AL-BEKAIRI A.M.
The protective action of thymol against carbon tetrachloride hepatotoxicity in mice., *Pharmacol. Res.* 40, 159–163, 1999.
- [11] ROBLEDO S., OSORIO E., MUNOZ D., JARAMILLO L.M., RESTREPO A., ARANGO G., VELEZ I., In vitro and in vivo cytotoxicities and antileishmanial activities of thymol and hemisynthetic derivatives., *Antimicrob. Agents Chemother.* 49, 1652–1655, 2005.
- [12] SKOLD K., TWETMAN S., HALLGREN A., YUCEL-LINDBERG T., MODEER T., Effect of a chlorhexidine/thymol-containing varnish on prostaglandin E2 levels in gingival crevicular fluid., *Eur. J. Oral. Sci.* 106, 571–575, 1998.
- [13] WEBER F.J., DE BONT J.A., Adaptation mechanisms of microorganisms to the toxic effects of organic solvents on membranes., *Biochim. Biophys. Acta* 1286, 225–245, 1996.
- [14] ZEYTIÑOGLU H., INCESU Z., BASER K.H., Inhibition of DNA synthesis by carvacrol in mouse myoblast cells bearing a human NRAS oncogene., *Phytomedicine* 10, 292–299, 2003.
- [15] COWAN M.M., Plant products as antimicrobial agents., *Clin. Microbiol. Rev.* 12, 564-582, 1999.
- [16] DENTER U., BUSCHMANN H.-J., KNITTEL D., SCHOLLMAYER E., Verfahrenstechnische Methoden zur permanenten Fixierung von Cyclodextrinderivaten auf textilen Oberflächen., *Textilveredlung* 32, Nr. 1/2, 33-39, 1997.
- [17] GRÖGER M., KRETZER E.K., WOYKE A., Reader mit Hintergrundinformationen zum Thema Cyclodextrine, Didaktik der Chemie an der Universität Siegen, 2001.
- [18] Wacker Chemie AG, Kosmetika im Nanobecher – Der kleinste Kosmetikkoffer der Welt. Feature Dienst, Nr 1, März 2007.

- [19] BUSCHMANN H.-J., KNITTEL D., SCHOLLMEYER E., New Textile Application of Cyclodextrins., J. Incl. Phenom. Macro. 40, 169-172, 2001.
- [20] SANGL R., Trends und Grundlagen zum Streichen von Papier und Karton., in: Einführung in die Papiererzeugung, Teil 4: Streichen. PTS-Manuskript PTS-MS 734, München, 2007.
- [21] DUNLOP-JONES N., Barrier Coatings - Performance Chemicals for the future., IPW, Nr.4, 77-80, 1997.
- [22] KIMPIMAEKI T., SANTAMAEKI K., Barrier Dispersion Coating – New Feasibility for the packaging industry., Paperi ja Puu 80 (4), 249–256, 1998.
- [23] VÄHÄ-NISSI M., SAVOLAINEN A. , Filled Barrier Dispersion Coatings, TAPPI Coating Conference, 287-299, 1999.
- [24] SANTAMAEKI K., KIMPIMAEKI T., The key variables of repulpable barrier coatings for on-line applications. In: Chemistry in papermaking, EUCEPA-Symposium, 413-414, 1998.
- [25] Sangl R., Überblick über die wichtigsten Auftragssysteme zum Pigmentieren und Streichen., In: Sangl R. (Hrsg.): Einführung in die Papiererzeugung - Modul 4 Streichen, Ausrüstung und Hilfsbetriebe. München, PTS, 2004.
- [26] Gliese T., Curtain Coating versus Spray Coating., Wochenblatt für Papierfabrikation 123 (10), 540-458, 2004.
- [27] M. A. Parrish,,, "Cyclodextrins - a Review." Available from Sterling Organics Ltd. Newcastle-Upon-Tyne. England
- [28] A. Fischer, GMBU e.V., persönliche Mitteilung aufgrund eigener Arbeitsergebnisse (2010).
- [29] Siehe z.B. <http://www.kruss.de/theorie/messungen/blasendruck/blasendruckmethode.html>.
- [30] http://www.merck-chemicals.de/thymol/MDA_CHEM-108167/p_90Ob.s1LatwAAAEWJeEfVhTIFirefoxHTML%5CShell%5COpen%5CCommand.