


 INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE  
 INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

<b>(51) Internationale Patentklassifikation <sup>7</sup> :</b> <b>D21C 9/00, C02F 1/50, D21H 21/04 //</b> <b>C02F 103:28</b>	<b>A1</b>	<b>(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 00/26466</b>  <b>(43) Internationales Veröffentlichungsdatum:</b> 11. Mai 2000 (11.05.00)
<b>(21) Internationales Aktenzeichen:</b> PCT/EP99/08184 <b>(22) Internationales Anmeldedatum:</b> 28. Oktober 1999 (28.10.99)  <b>(30) Prioritätsdaten:</b> 198 50 170.6            30. Oktober 1998 (30.10.98)    DE  <b>(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US):</b> BIOCONSULT GESELLSCHAFT FÜR BIOTECHNOLOGIE MBH [AT/AT]; Rifer Schlossallee 49, A-5400 Hallein (AT).  <b>(72) Erfinder; und</b> <b>(75) Erfinder/Anmelder (nur für US):</b> OBERKOFLER, Jörg [AT/AT]; Ursulinenplatz 6, A-5020 Salzburg (AT). SALIHOVIC, Edhem [BA/AT]; Moraltstrasse 7/9, A-5400 Hallein (AT). SPEDDING, Jeff [GB/AT]; Waldburgergasse 52, A-5026 Salzburg (AT). BAUMGARTNER, Birgit [AT/AT]; Gamperstrasse 30, A-5400 Hallein (AT).  <b>(74) Anwalt:</b> SCHWARZENSTEINER, Marie-Luise; Grape & Schwarzensteiner, Sebastiansplatz 7, D-80331 München (DE).	<b>(81) Bestimmungsstaaten:</b> AE, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW, ARIPO Patent (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).  <b>Veröffentlicht</b> <i>Mit internationalem Recherchenbericht.</i>	
<b>(54) Title:</b> VEGETABLE-MATERIAL BASED PREPARATIONS FOR REDUCING AND/OR PREVENTING SLIME AND ENCRUSTATION CLOSED AQUEOUS OR WATER-CARRYING SYSTEMS		
<b>(54) Bezeichnung:</b> PRÄPARATE ZUR HERABSETZUNG UND/ODER VERHINDERUNG VON SCHLEIM UND BELAG IN GESCHLOSSENEN WÄSSRIGEN ODER WASSERFÜHRENDEN SYSTEMEN AUF BASIS VON PFLANZLICHEM MATERIAL		
<b>(57) Abstract</b>		
<p>The invention relates to preparations for reducing and/or preventing slime and encrustation closed or partially closed aqueous or water-carrying systems, containing substantially germinative, germinated, multipliable and/or multiplied vegetable material as an active ingredient. The invention also relates to a method for reducing and/or preventing slime and encrustation in said systems.</p>		
<b>(57) Zusammenfassung</b>		
<p>Die Erfindung betrifft Präparate zur Herabsetzung und/oder Verhinderung von Schleim und Belag in geschlossenen bzw. teilgeschlossenen wässrigen oder wasserführenden Systemen, die als Wirkkomponente im wesentlichen keimfähiges, gekeimtes, vermehrbares und/oder vermehrtes pflanzliches Material enthalten. Sie betrifft auch ein Verfahren zur Herabsetzung und/oder Verhinderung von Schleim und Belag in den genannten Systemen.</p>		

**LEDIGLICH ZUR INFORMATION**

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AL	Albanien	ES	Spanien	LS	Lesotho	SI	Slowenien
AM	Armenien	FI	Finnland	LT	Litauen	SK	Slowakei
AT	Österreich	FR	Frankreich	LU	Luxemburg	SN	Senegal
AU	Australien	GA	Gabun	LV	Lettland	SZ	Swasiland
AZ	Aserbaidshjan	GB	Vereinigtes Königreich	MC	Monaco	TD	Tschad
BA	Bosnien-Herzegowina	GE	Georgien	MD	Republik Moldau	TG	Togo
BB	Barbados	GH	Ghana	MG	Madagaskar	TJ	Tadschikistan
BE	Belgien	GN	Guinea	MK	Die ehemalige jugoslawische Republik Mazedonien	TM	Turkmenistan
BF	Burkina Faso	GR	Griechenland	ML	Mali	TR	Türkei
BG	Bulgarien	HU	Ungarn	MN	Mongolei	TT	Trinidad und Tobago
BJ	Benin	IE	Irland	MR	Mauretanien	UA	Ukraine
BR	Brasilien	IL	Israel	MW	Malawi	UG	Uganda
BY	Belarus	IS	Island	MX	Mexiko	US	Vereinigte Staaten von Amerika
CA	Kanada	IT	Italien	NE	Niger	UZ	Usbekistan
CF	Zentralafrikanische Republik	JP	Japan	NL	Niederlande	VN	Vietnam
CG	Kongo	KE	Kenia	NO	Norwegen	YU	Jugoslawien
CH	Schweiz	KG	Kirgisistan	NZ	Neuseeland	ZW	Zimbabwe
CI	Côte d'Ivoire	KP	Demokratische Volksrepublik Korea	PL	Polen		
CM	Kamerun	KR	Republik Korea	PT	Portugal		
CN	China	KZ	Kasachstan	RO	Rumänien		
CU	Kuba	LC	St. Lucia	RU	Russische Föderation		
CZ	Tschechische Republik	LI	Liechtenstein	SD	Sudan		
DE	Deutschland	LK	Sri Lanka	SE	Schweden		
DK	Dänemark	LR	Liberia	SG	Singapur		
EE	Estland						

Präparate zur Herabsetzung und/oder Verhinderung von Schleim und Belag in geschlossenen wäßrigen oder wasserführenden Systemen auf Basis von pflanzlichem Material

Die vorliegende Erfindung betrifft Präparate zur Herabsetzung und/oder Verhinderung von Schleim und Belag in geschlossenen bzw. teilgeschlossenen wäßrigen oder wasserführenden Systemen sowie ein Verfahren, das diese Präparate zur Herabsetzung und/oder Verhinderung von Schleim und Belag in solchen Systemen einsetzt. Das Präparat und das Verfahren ist bei in Vorratsbehältern gelagerten wäßrigen Lösungen, Emulsionen und Suspensionen, industriellen Anlagen, in welchen Wasser im Kreislauf geführt wird, wie beispielsweise Papiermaschinen- oder Kühlwasserkreisläufe, anwendbar.

Hintergrund der Erfindung ist die Verhinderung der Schleim- und/oder Belagbildung in industriellen Wasserkreisläufen und die Verhinderung des Abbaus von wäßrigen Suspensionen, Emulsionen und Lösungen, in welchen, bedingt durch das günstige Milieu (Temperatur, Nährstoffangebot, pH-Wert etc.), das Wachstum von Mikroorganismen, insbesondere von Bakterien und Pilzen, welche die Schleim- und Belagbildung verursachen bzw. für den Abbau verantwortlich sind, gefördert wird.

Kontaminierende Mikroorganismen können mit Rohstoffen, zugeführtem bzw. enthaltenem Wasser, Staub, Luft und systemabhängigen Zusatzstoffen in wäßrige bzw. wasserführende Systeme eingebracht werden bzw. darin gedeihen. Viele dieser Mikroorganismen besitzen die Fähigkeit oder besser die nachteilige Eigenschaft an festen Oberflächen anzuhafte.

In geschlossenen Systemen, vorrangig von Papiermaschinen, in denen das Siebwasser im Kreislauf geführt wird, finden Mikroorganismen, wie Bakterien und/oder Pilze ein ihr Wachstum förderndes hohes organisches und anorganisches Nährstoffangebot und ein günstiges Milieu, wie erhöhte Temperatur, pH-Wert und

Sauerstoffeintrag, vor. Da viele der Mikroorganismen nicht als freie Organismen im Kreislaufwasser vorhanden sind, sondern sich an die Faser-, Füll- und Feinstoffe und an die Oberfläche der Maschinenteile, wie zum Beispiel Leitungen, Behälter und Pumpenanlagen, anlagern, kommt es zu unerwünschter Schleim- und Belagbildung. Beim Lösen des Schleimes und des Belages von den Oberflächen führt dies zur Bildung von sogenannten Batzen und damit unter Umständen zu Löchern in der Papierbahn. Die infolgedessen geschwächte Papierbahn kann reißen, was unmittelbar einen Maschinenstillstand nach sich zieht.

Ähnliches gilt für Lösungen, Suspensionen und Emulsionen von beispielsweise Pigmenten, Füllstoffen, Stärke, Leimen, Retentionsmitteln oder auch Papiermaschinen-Ausschuß, welche in Containern und Tanks gelagert werden. Nachdem der bei der Befüllung eingetragene Sauerstoff aufgebraucht ist, kommt es zum Wachstum von Mikroorganismen, welche z.B. Sulfat, Schwefel und Carbonate in Schwefelwasserstoff, Methan, Essigsäure und andere Reduktionsprodukte umwandeln. Diese Reduktionsprodukte führen zu Verfärbung, Korrosion und Geruchsbildung, aber insbesondere zum Abbau der Inhaltsstoffe.

Um das vermehrte Wachstum von schleim- und belagbildenden Mikroorganismen, zu unterdrücken, ist es bereits bekannt, dem Kreislaufwasser Biozide, Lignosulfonate, Enzyme, Nährstoffe und/oder Bakterien zuzusetzen.

Der Zusatz von Bioziden kann zwar das Wachstum von Mikroorganismen unterdrücken, diese neigen jedoch allgemein zu einer Resistenzbildung, so daß es notwendig ist, entweder die biozide Substanz häufig zu wechseln oder ihre Menge ständig zu erhöhen. Der Einsatz von Bioziden birgt auch eine Gefahr für Mensch und Umwelt, wenn sie außerhalb des normalen Verwendungsbereiches frei werden und erfordern daher die Nachschaltung von Aufbereitungsanlagen, was kostenintensiv ist. Manche der Biozide sind auch nur begrenzt einsetzbar, da sie bei-

spielsweise gegen sulfatreduzierende Bakterien nicht wirksam sind.

In der DE-PS 34 47 686 wird der Einsatz von Lignosulfonaten beschrieben, welche unter bestimmten Bedingungen die Nährstoffaufnahme von Mikroorganismen durch Komplexierung der Nährstoffe, wodurch die Mikroorganismen gewissermaßen verhungern, unterbinden. Obwohl der Zusatz von Lignosulfonaten wirkungsvoll ist, müssen häufig zusätzlich Biozide zugesetzt werden, so daß deren Problematik erhalten bleibt.

Der Zusatz von Enzymen würde ein sehr umweltfreundliches Verfahren darstellen. Es hat sich jedoch gezeigt, daß mit Hilfe von Enzymen nur eine kurzzeitige Viskositätsherabsetzung erreicht werden kann, vermutlich da die von den Enzymen gebildeten Hydrolyse- oder sonstigen niedermolekularen Produkte bevorzugte Nährstoffe für die schleim- und belagbildenden Mikroorganismen darstellen.

In der EP 0 372 520 B1 wird ein Verfahren zur Kontrolle des Biobewuchses im Kreislaufwasser beschrieben, bei dem man in Abhängigkeit von der organischen Fracht dem Kreislaufwasser nicht-sessile Mikroorganismen der Gruppe der Bakterien und Pilze zugibt. Dieses Verfahren, bei dem den schleim- und belagbildenden sessilen Mikroorganismen mit Hilfe der nicht-sessilen Mikroorganismen die Nahrungsgrundlage entzogen wird, ist zwar ausgesprochen wirksam und zuverlässig, jedoch relativ kostenintensiv.

Aufgabe der vorliegenden Erfindung ist es daher, Präparate und damit ein Verfahren zur Verhinderung von Schleim und Belag in geschlossenen bzw. teilgeschlossenen wäßrigen bzw. wasserführenden Systemen bereitzustellen, die umweltfreundlich, gesundheitlich unbedenklich, wirksam und zuverlässig arbeiten und kostengünstig auch im industriellen Maßstab eingesetzt und ausgeführt werden können.

Diese Aufgabe konnte nun überraschend durch Präparate gelöst werden, die als Wirkkomponenten im wesentlichen keimfähiges, gekeimtes, vermehrbares und/oder vermehrtes Material enthalten.

Die vielschichtigen Probleme der Herabsetzung oder Verhinderung von Schleim und Belag, die überall dort auftreten, wo Mikroorganismen, wie Bakterien, ein reichliches Nährstoffangebot und ein hinsichtlich Temperatur, pH-Wert, Sauerstoffangebot etc. ideales Wachstumsmilieu vorfinden, lassen sich mit den erfindungsgemäßen Präparaten bzw. dem Verfahren auf einfachste und kostengünstige Weise beseitigen. Das ist umso überraschender, da der Zusatz dieser Präparate primär eine Erhöhung der Biomasse darstellt.

Es müssen keine Belastungen für Mensch und/oder Umwelt befürchtet werden, wenn diese erfindungsgemäß eingesetzten Präparate in die Umwelt oder die Abwasseranlagen abgelassen werden, da sie biologisch völlig unbedenklich sind, auch aufgrund der geringen Konzentration, die für ihre Wirksamkeit erforderlich ist.

Das Auftreten von Schleim und Belag läßt sich damit nicht nur in geschlossenen Wasserkreislaufsystemen, wie jenen in Papiermaschinen und Kühlanlagen, unterdrücken, sondern es kann auch eine Konservierung von wäßrigen Suspensionen, Emulsionen, Lösungen von beispielsweise Pigmenten, Füllstoffen, Stärke, Leimen, Retentionsmitteln oder Papiermaschinen-Ausschuß erreicht werden, da deren Abbau durch anaerobe Mikroorganismen bzw. deren Wachstum verhindert wird.

Als keimfähiges pflanzliches Material bezeichnet man im Rahmen der Erfindung alles, was unter entsprechenden Bedingungen, die dem Fachmann bekannt sind, zum Keimen gebracht werden könnte. Insbesondere wird man darunter das Korn der verschiedenen Getreidearten oder Samen verstehen, welche, wie nachstehend er-

läutert, aufbereitet sind. Erfindungsgemäß werden insbesondere Mais und Reis eingesetzt.

Als gekeimtes pflanzliches Material bezeichnet man im Rahmen der Erfindung alles, was unter entsprechenden Bedingungen, die dem Fachmann bekannt sind, zum Keimen gebracht worden ist. Insbesondere wird man auch hier darunter das gekeimte Korn der verschiedenen Getreidearten oder gekeimten Samen, insbesondere von Reis oder Mais, verstehen.

Unter vermehrbarem pflanzlichen Material versteht man im Rahmen der Erfindung alle Teile von Pflanzen, welche sich unter entsprechenden, dem Fachmann bekannten Bedingungen, vermehren lassen würden, d.h. solches Material, aus welchem Zellen gewonnen werden könnten.

Unter vermehrtem pflanzlichen Material versteht man im Rahmen der Erfindung jedes Material, das unter üblichen, dem Fachmann bekannten Bedingungen, zur Zellpropagierung angeregt wurde und diese Zellen geerntet und propagiert werden.

Im Rahmen der vorliegenden Erfindung bedeuten die Begriffe "Suspension" oder "Lösung" vorzugsweise eine Suspension oder Lösung in wäßriger Form, obwohl auch andere geeignete flüssige Medien möglich sind. Als geeignet haben sich insbesondere Pufferlösungen erwiesen. Eine reine wäßrige Basis wird aus kosten- und umwelttechnischen Gründen bevorzugt. Der Begriff kann des weiteren bedeuten, daß das ausgewählte Material pflanzlichen Ursprungs entweder in der wäßrigen Phase suspendiert und/oder darin (kolloidal) gelöst ist.

Der Begriff pflanzliches Material, wie er hier verwendet wird, kann sämtliche Pflanzenteile, wie Blätter, Wurzeln, Samen, Rinden und dergleichen aber auch Pflanzenzellen, Pflanzengewebe umfassen sowie in diesem keimungsfähigen, gekeimten, vermehrungsfähigen oder vermehrten Material enthaltene Inhaltsstoffe, wie z.B. Aminosäuren, Proteine, Peptide, Ester, Alde-

hyde, Ketone, Terpene und/oder phenolische Komponenten. Diese können einzeln, jedoch auch im Gemisch untereinander, die bevorzugten Komponenten der erfindungsgemäßen Präparate darstellen.

Als bevorzugte Rohmaterialien zur Herstellung der Präparate werden Getreidepflanzen, Ölfrüchte und verschiedene Gemüsesorten ausgewählt.

Ein erfindungsgemäßes Präparat, das keimfähiges Material enthält, wird erhalten, indem man keimfähiges pflanzliches Material, insbesondere Getreidekorn oder Samen, reinigt und sterilisiert und zur Erzeugung einer Suspension in einem wäßrigen Medium, insbesondere einer Pufferlösung aufnimmt, welche man in üblicher Weise homogenisiert (zerkleinert) und hinsichtlich der Teilchengröße standardisiert. Diese Suspension kann wie sie ist bei 4°C gelagert oder lyophilisiert bzw. gefriergetrocknet werden.

Die so erhaltene Suspension läßt sich durch Feinfiltration in eine kolloidale Lösung überführen, welche das wirksame Material kolloidal suspendiert enthält. Auch diese kolloidale Lösung kann wie sie ist bei 4°C gelagert oder lyophilisiert bzw. gefriergetrocknet werden.

Ein erfindungsgemäßes Präparat, das gekeimtes Material enthält, wird erhalten, indem man keimfähiges pflanzliches Material, insbesondere Getreidekorn und Samen, zunächst reinigt und sterilisiert und unter üblichen Bedingungen, gegebenenfalls auf einem Nährmedium und im allgemeinen bei Raumtemperatur einer Keimung unterwirft, man die Keimlinge gewinnt und zur Erzeugung einer Suspension in einem vorzugsweise wäßrigen Medium, insbesondere Pufferlösung, aufnimmt, darin in geeigneter Weise zerkleinert, wie vorher homogenisiert und hinsichtlich der Teilchengröße standardisiert. Diese Suspension kann wie sie ist bei 4°C gelagert oder lyophilisiert bzw. gefriergetrocknet werden.



Die so erhaltene Suspension läßt sich durch Feinfiltration in eine kolloidale Lösung überführen, welche das wirksame Material kolloidal suspendiert enthält. Auch diese kolloidale Lösung kann wie sie ist bei 4°C gelagert oder lyophilisiert bzw. gefriergetrocknet werden.

Ein erfindungsgemäßes Präparat, das vermehrbares pflanzliches Material enthält, wird erhalten, indem man vermehrbares Material, zum Beispiel Schalen oder dergleichen von Ackerfrüchten, fruchttragenden Gehölzen etc., insbesondere Schalen oder dergleichen davon, zunächst reinigt und sterilisiert, in geeigneter Weise zerkleinert und zur Erzeugung einer Suspension, vorzugsweise in einem wäßrigen Medium aufnimmt, welche man dann in üblicher Weise homogenisiert und hinsichtlich der Teilchengröße standardisiert. Die so erhaltene Suspension kann wie sie ist bei 4°C gelagert oder lyophilisiert werden.

Ein erfindungsgemäßes Präparat, das vermehrtes Material enthält, wird erhalten, indem man vermehrbares pflanzliches Material, zum Beispiel Schalen oder dergleichen von Ackerfrüchten, fruchttragenden Gehölzen, etc., insbesondere Schalen oder dergleichen davon, zunächst reinigt und sterilisiert, in geeigneter Weise zerkleinert, beispielsweise durch Hobeln oder dergleichen, in üblicher Weise auf einem Medium, beispielsweise MS-Medium vermehrt, die Zellen erntet und gegebenenfalls weiter propagiert, die Zellen von Zeit zu Zeit durch Zentrifugieren erntet und zur Erzeugung einer Suspension in einem wäßrigen Medium, insbesondere Puffer, aufnimmt. Die so erhaltene Suspension kann wie sie ist bei 4°C gelagert oder lyophilisiert werden.

Diese so erhaltene Suspension läßt sich wieder durch Feinfiltration in eine kolloidale Lösung überführen, welche das wirksame Material kolloidal suspendiert enthält. Auch diese kolloidale Lösung kann wie sie ist bei 4°C gelagert oder lyophilisiert bzw. gefriergetrocknet werden.

Bevorzugte Getreidesorten, deren Korn im ungekeimten oder gekeimten Zustand nach entsprechender Aufbereitung die erfindungsgemäß einsetzbaren Präparate liefern, sind wie erwähnt Mais und Reis. Es ist jedoch auch die Verwendung der Früchte von Gerste, Weizen, Hafer, Soja und dergleichen denkbar.

Um beispielsweise die Keimung zu beschleunigen, können verschiedene Substanzen zugefügt werden, wie zum Beispiel Keimsalze, Wachstumsregulatoren, stickstoffhaltige Komponenten, etc. Die Keimung kann gewöhnlich bei Raumtemperatur stattfinden.

Zur Gewinnung von Zellen aus vermehrungsfähigem Material kann das vermehrungsfähige Material unter Ausschluß von Licht oder in Gegenwart von Licht in Raumatmosphäre (Temperatur/Feuchtigkeit) oder anderen Vermehrungsbedingungen (Raumtemperatur bis 30°C; Luftfeuchtigkeit bis 95 %) durchgeführt werden.

Gegenstand der Erfindung ist demnach auch ein Verfahren zur Herabsetzung und/oder Verhinderung von Schleim und Belag in geschlossenen oder teilgeschlossenen wäßrigen oder wasserführenden Systemen, wobei dem System eines der erfindungsgemäßen Präparate in geeigneter Dosierung, welche im wesentlichen abhängig vom System und den gegebenen Bedingungen ist, zumeist in Form einer Suspension und/oder kolloidalen Lösung in einer die Schleim- und Belagbildung verhindernden oder herabsetzenden Menge in geeigneter Weise zudosiert wird.

Die einzuhaltenden Verfahrensbedingungen ergeben sich aus den nachfolgenden Ausführungsbeispielen, die der Fachmann entsprechend den gegebenen Anforderungen von Fall zu Fall ohne weiteres anpassen kann.

Insbesondere sollte eine erfindungsgemäße Suspension oder Lösung systemabhängig in einer Konzentration im Bereich von 10 ppm bis 10.000 ppm zudosiert werden. Bevorzugt ist eine Konzentration von 100 ppm bis 200 ppm oder etwa 100 ppm. Genaue

Konzentrationen lassen sich durch den Fachmann aus den entsprechenden Angaben in den nachfolgenden Ausführungsbeispielen berechnen oder auf den gegebenen Anwendungsfall einstellen.

Um einen Papiermaschinen-Siebwasserkreislauf zu behandeln, kann man ein erfindungsgemäßes Präparat beispielsweise in Form einer kolloidalen Lösung aus einem gerührten Arbeitsbehälter mittels einer Schlauchpumpe kontinuierlich in den Papierfaser-Dickstoff dosieren. Die Dosierung sollte nach einem Stillstand bzw. einer Reinigung gestartet und nach einer Laufzeit von beispielsweise drei (3) Wochen hinsichtlich einer Verbesserung des Laufgrades bewertet werden. Als Laufgrad-Kriterien werden die Anzahl von Löchern in der Tambour, Produktion-Tonnagen und Schleimpatzen-Häufigkeit gewählt.

Gegebenenfalls können den wäßrigen oder wasserführenden Systemen erfindungsgemäß weitere Zusätze in Form von Enzymen, Tensiden, Lignosulfonaten und/oder nicht-sessilen Mikroorganismen beigegeben werden.

Die Tenside setzen die Sessilität der Bakterien und sonstigen Mikroorganismen, insbesondere an Oberflächen von Maschinenteilen herab, was die Wirkung der zugesetzten Suspension/Lösung erhöht.

Die Wirkung der Lignosulfonate ist wie gesagt in der DE-PS 34 47 686 beschrieben worden. In Verbindung mit der vorliegenden Erfindung kann dann der aus umwelttechnischen Gründen nicht wünschenswerte Einsatz der Biozide entfallen.

Der Zusatz geringster Mengen nicht-sessiler Mikroorganismen, wie er in der EP 0 372 520 B1 beschrieben ist, kann ebenfalls die Wirkung der erfindungsgemäß eingesetzten Suspension und/oder Lösung aus gekeimtem, vermehrungsfähigem Material pflanzlichen Ursprungs erhöhen.

Eine Sauerstoffzufuhr beschleunigt bekannterweise den Abbau organischer Stoffe und damit die hohe Belastung, beispielsweise des Kreislaufwassers, mit solchen Stoffen. Die Sauerstoffzufuhr kann dabei durch Begasung eines wasserführenden Systems mit Sauerstoff, Luft oder durch Zufuhr von sauerstoffabgebenden Verbindungen erfolgen.

Der Zusatz dieser weiteren Komponenten ist jedoch für die Wirkungsweise und Effizienz des erfindungsgemäßen Verfahrens nicht erforderlich; er kann sie lediglich von Fall zu Fall unterstützen.

Die erfindungsgemäßen Präparate können dem jeweiligen System einmal zugegeben werden. Diese Vorgehensweise wird sich besonders zur Konservierung von geschlossenen Systemen eignen. Bei Systemen, bei denen Wasser im Kreislauf geführt wird, und bei denen während des Prozesses immer wieder Ausgangsmaterial eingespeist wird und somit neues organisches Material, was zur Schleim- und Belagbildung führen kann ist eine zeitlich beabstandete, wiederholte Zugabe der Präparate vorzuziehen. Die Zugabe kann auch unabhängig voneinander an verschiedenen neuralgischen Stellen des Systems erfolgen.

Der Mechanismus, wie der Zusatz der erfindungsgemäßen Pflanzenmaterial enthaltenden Präparate der Erfindung, bei der Herabsetzung oder Verhinderung von Schleim und Belag bei den in Rede stehenden Systemen eingreift, ist nicht gänzlich aufgeklärt. Es ist jedoch davon auszugehen, daß zumindest in niedrigen Konzentrationen die erfindungsgemäß enthaltenen Wirkkomponenten das Wachstum bzw. die Vermehrungsfähigkeit der sogenannten sessilen Mikroorganismen bzw. deren Fähigkeit an Oberflächen anzuhafte, reduziert. In hohen Konzentrationen könnte das gewonnene pflanzliche Material eine toxische Wirkung entfalten. Es ist deshalb von besonderer Bedeutung, daß es in mehr als niedrigen Konzentrationen seine überraschende Wirkung entfaltet.

Im folgenden wird die Erfindung anhand von Beispielen verdeutlicht werden, aus denen sich auch die Wirksamkeit der erfindungsgemäß eingesetzten Präparate ergibt. Die angegebenen Beispiele sollen den Umfang der Erfindung jedoch in keiner Weise beschränken.

## 1. Herstellungsbeispiele für erfindungsgemäße Präparate

### 1.1 Keimfähiges Material

#### 1.1.1 Keimfähige Reissamen für ein Produkt in Form einer Suspension

Naturreis (Firma BIOQUELLE, Klaus Lösch GesmbH, BIO-NATURREIS, RUNDKORN) wird erst in 70%igem Ethanol und darauffolgend in 0,5 % Natriumhypochlorit-Lösung gewaschen, um die Oberflächenmikroorganismen zu entfernen bzw. um zu sterilisieren. Die so behandelten Reissamen werden gründlich mit sterilisiertem und destilliertem Wasser gewaschen und getrocknet.

Die Reissamen werden dann zum Beispiel in einer Kaffeemühle (Braun Typ 4045) bei feinsten Einstellung zerkleinert.

Zu je etwa 100 g zerkleinerten Reissamen wird etwa 300 ml Pufferlösung (100 mM Tris (Tris-hydroxyethylaminomethanhydrochlorid), , pH-Wert ca. 7 - 8, SIGMA, Wien) hinzugefügt.

Diese Mischung wird mittels eines Ultra-Turrax Homogenisators (IKA Model T25 Basic) bei niedrigster Stufe für 5 Minuten weiter zerkleinert. Nach diesem Schritt wird die Suspension durch ein 250 Micron Schüttelsieb filtriert, um die groben Samenreste zu eliminieren. Das Produkt in Form einer trüben Suspension wird bei 4°C in einem Kühlschrank gelagert.

### 1.1.2 Keimfähige Maissamen für ein Produkt in Form einer Suspension

Das Verfahren wird wie in Beispiel 1.1.1 durchgeführt, aber statt Reissamen wird Maissamen (Mais-Saatgut der Firma KÄRNTNER SAATGUT) verwendet.

### 1.1.3 Keimfähiger Reissamen für ein Produkt in Form einer Lösung (kolloidale Suspension)

Das Produkt in Suspensionsform von Beispiel 1.1.1 wird mittels einer Vakuum-Filternutsche durch einen 1, 6-Micron Glasfaser-Filter filtriert. Das Filtrat wird als Produkt in Form einer leicht trüben Lösung bei 4°C in einem Kühlschrank gelagert. Das Produkt, das kolloidal suspendiertes Material - im Gegensatz zu Partikeln, die unter einem Lichtmikroskop sichtbar sind - enthält, wird in dieser Erfindung als kolloidale Lösung beschrieben.

### 1.1.4 Keimfähiger Maissamen für ein Produkt in Form einer Lösung (kolloidale Suspension)

Das Verfahren wird wie in Beispiel 1.1.3 durchgeführt, aber statt Reissamen wird Maissamen verwendet.

## 1.2 **Gekeimtes Material**

### 1.2.1 Gekeimter Reissamen für ein Produkt in Form einer Suspension

Naturreis (Firma BIOQUELLE, Klaus Lösch GesmbH, BIO-NATURREIS, RUNDKORN) wird erst in 70%igem Ethanol und darauffolgend in 0,5% Natriumhypochlorit-Lösung gewaschen, um die Oberflächenmikroorganismen zu entfernen bzw. um zu sterilisieren. Die so behandelten Samen werden gründlich mit sterilisiertem und destilliertem Wasser gewaschen.

Die Reissamen werden in einem flachen, sterilisierten Behälter, ausgerüstet mit einem luftdurchlässigen Verschluss, in bedecktem Zustand in einem Nährstoffmedium (MS - Medium der Firma SIGMA, Wien) 4 Tage bei Raumtemperatur stehengelassen, um sie keimen zu lassen.

Das Nährmedium wird dekantiert und die gekeimten Reissamen werden mit destilliertem Wasser gespült. Zu je ca. 100g gekeimten Reissamen werden ca. 200 ml Pufferlösung (100 mM Tris (Tris-hydroxyethylaminomethan-hydrochlorid) der Firma SIGMA, Wien) hinzugefügt und die Mischung in einem sterilisierten Standmixer (Kenwood Model BL 321) auf Stufe 10 für 5 Minuten zerkleinert.

Die resultierende Suspension wird weiter mittels eines Ultra-Turrax Homogenisators (IKA Model T25 Basic) bei niedrigster Stufe für 5 Minuten zerkleinert. Nach diesem Schritt wird die Suspension durch ein 250 Micron Schüttelsieb filtriert, um die groben Samenreste zu eliminieren. Das Produkt in Form einer trüben Suspension wird bei 4°C in einem Kühlschrank gelagert.

#### 1.2.2 Gekeimter Maissamen für ein Produkt in Form einer Suspension

Das Verfahren wird wie in Beispiel 1.2.1 durchgeführt, aber statt Reissamen wird Maissamen verwendet

#### 1.2.3 Gekeimter Reissamen für ein Produkt in Form einer Lösung (kolloidale Suspension)

Das Produkt in Suspensionsform von Beispiel 1.2.1 wird mittels einer Vakuum - Filternutsche durch einen 1,6 Micron Glasfaser-Filter filtriert. Das Filtrat wird als Produkt in Form einer leicht trüben Lösung bei 4°C in einem Kühlschrank gelagert. Das Produkt, das kolloidal suspendiertes Material - im Gegensatz zu Partikeln, die unter einem Lichtmikroskop sichtbar

sind - enthält, wird in dieser Erfindung als Lösung beschrieben.

#### 1.2.4 Gekeimter Maissamen für ein Produkt in Form einer Lösung (kolloidale Suspension)

Das Verfahren wird wie in Beispiel 1.2.2 durchgeführt, aber statt Reissamen wird Maissamen verwendet.

### 1.3 Vermehrbares pflanzliches Material

#### 1.3.1 Vermehrbares pflanzliches Material aus Karottenresten für ein Produkt in Form einer Suspension

Karotten werden zuerst gut mit destilliertem Wasser gewaschen, danach für 30 min in 0,5 % Na-Hypochlorit-Lösung desinfiziert und dreimal mit destilliertem Wasser gespült. Die Karotten werden mittels eines konventionellen Kartoffelschälers geschält und die Schalentteile für eine weitere Prozessierung gesammelt.

Dieser Schritt simuliert Schalenreste eines Lebensmittelindustrieverfahrens zur Herstellung von Karotten für Dosen oder zum Tiefgefrieren, wobei sich große Mengen von Schalenresten noch in einem vermehrbarem Zustand befinden.

Zu je ca. 100g Schalenresten werden ca. 200 ml Pufferlösung (100 mM Tris (Tris-hydroxyethylaminomethan-hydrochlorid) der Firma SIGMA, Wien) hinzugefügt und die Mischung wird in einem sterilisiertem Standmixer (Kenwood Model BL 321) auf Stufe 10 für 5 Minuten zerkleinert.

Die resultierende Suspension wird mittels eines Ultra-Turrax Homogenisators (IKA Model T25 Basic) bei niedrigster Stufe für 5 Minuten weiter zerkleinert. Nach diesem Schritt wird die Suspension durch ein 250 Micron Schüttelsieb filtriert, um die



groben Schalenreste zu eliminieren. Das Produkt in Form einer trüben Suspension wird bei 4°C in einem Kühlschrank gelagert.

1.3.2 Vermehrbares pflanzliches Material z.B. aus Karottenresten für ein Produkt in Form einer Lösung (kolloidale Suspension)

Das Produkt in Suspensionform von Beispiel 1.3.1 wird mittels einer Vakuum - Filternutsche durch einen 1,6 Micron Glasfaser-Filter filtriert. Das Filtrat wird als Produkt in Form einer leicht trüben Lösung bei 4°C in einem Kühlschrank gelagert. Das Produkt, das u.a. kolloidal suspendiertes Material - im Gegensatz zu Partikeln, die unter einem Lichtmikroskop sichtbar sind - enthält, ist in dieser Erfindung als Lösung beschrieben.

1.4.1 Vermehrtes pflanzliches Material aus z.B. Karotten für ein Produkt in Form einer Suspension

Karotten werden zuerst gut mit destilliertem Wasser gewaschen und dann in ca. 10 mm dicke Scheiben geschnitten. Die Scheiben werden danach für 30 min in 0,5 % Na-Hypochlorit- Lösung desinfiziert und dreimal mit destilliertem Wasser gespült.

Mittels eines Mikrotoms werden die Scheiben auf 1 mm Dicke verfeinert. Diese feinen Scheiben wurden in Quadrate von 4 mm<sup>2</sup> Fläche geschnitten.

Diese Quadrate werden auf gegebenenfalls Phytohormon-behandeltes MS-Agar (MS-Medium: Murashige und Skoog-Medium, Sigma, Wien) transferiert und im Dunkeln bei Raumtemperatur inkubiert. Der nach 4 Wochen gewachsene Kallus wird auf frisches MS-Agar übertragen.

Die Kalli werden mit einem Glasstab auf ein Zellsieb transferiert, mechanisch zerkleinert und in das Suspensionsmedium

(MS-Medium, 1:1 verdünnt mit Wasser, angereichert mit 30 g/l Sucrose und 2 g/l Agar-Agar) eingesetzt. Diese Mischung wird durch Schütteln im Bewegung gehalten.

Nach zwei Wochen werden die Zellen durch ein grobmaschiges Sieb filtriert, um größere Zellaggregate abzutrennen. Die restlichen Zellen werden mit Hilfe feiner steriler Gaze vom Medium getrennt und in ein 10-faches Volumen Medium eingesetzt.

Auf diese Art und Weise werden die Zellen alle zwei Wochen gesammelt und weiter propagiert.

Nach der ersten 2-Wochen-Periode werden die zur Verwendung bestimmten Zellen bei 3000 g abzentrifugiert; je 100 g der Zellen werden in Tris-Puffer aufgenommen; das Produkt wird bei 4°C in einem Kühlschrank gelagert.

#### 1.4.2 Vermehrtes pflanzliches Material aus Kartoffeln für ein Produkt in Form einer Suspension

Das Verfahren aus Beispiel 1.4.1 wird verwendet, aber mit folgenden geänderten Parametern:

Statt Karotten werden Kartoffeln verwendet. Die Inkubationstemperatur beträgt 28°C.

#### 1.4.3 Vermehrtes pflanzliches Material aus Brombeerpflanzen für ein Produkt in Form einer Suspension

Das Verfahren aus Beispiel 1.4.1 wird verwendet, aber mit folgenden geänderten Parametern:

Statt Karotten werden Teile von Brombeerpflanzen als vermehrbares pflanzliches Material verwendet. Zur Vorbereitung werden Stammteile von wachsenden Brombeerpflanzen verwundet, um Wachstum von Narbengewebe (Kallus) zu verursachen. Dieses Ge-

webematerial wird ausgeschnitten, um Material für das Kalluswachstum zu produzieren.

Die Inkubation erfolgt nicht im Dunkeln, sondern bei ca. 2000 Lux. Die Luftfeuchtigkeit beträgt 90-95 %.

#### 1.4.4 Vermehrtes pflanzliches Material aus Maisembryonen für ein Produkt in Form einer Suspension

Das Verfahren wie in Beispiel 1.4.1 wird verwendet, aber mit folgenden geänderten Parametern:

Statt Karotten werden Embryonen von Maissamen (Keimlinge) als vermehrbares pflanzliches Material verwendet. Als Vorbereitung wird der Embryoteil von ca. 2 Tage lang gekeimten Maissamen ausgeschnitten und auf das Wachstumsmedium aufgebracht. Die Luftfeuchtigkeit während des Kalluswachstums beträgt 90-95 %.

#### 1.4.5 Vermehrtes pflanzliches Material aus Karotten für ein Produkt in Form einer Lösung (kolloidale Suspension)

Das Produkt aus Beispiel 1.4.1 wird mit einem Ultra-Turrax Homogenisator (IKA Model T25 Basic) bei niedrigster Stufe für 3 Minuten zerkleinert. Nach diesem Schritt wird die Suspension mittels einer Vakuum-Filternutsche durch einen 1,6 Micron Glasfaser-Filter filtriert. Das Filtrat wird als Produkt in Form einer leicht trüben Lösung bei 4°C in einem Kühlschrank gelagert. Das Produkt, das u.a. kolloidal suspendiertes Material - im Gegensatz zu Partikeln, die unter einem Lichtmikroskop sichtbar sind - enthält, wird in dieser Erfindung als Lösung beschrieben.

#### 1.4.6 Vermehrtes pflanzliches Material aus Kartoffeln für ein Produkt in Form einer Lösung (Kolloidale Suspension)

Das Produkt aus Beispiel 1.4.2 wird mit einem Ultra-Turrax Homogenisator (IKA Model T25 Basic) bei niedrigster Stufe für 3 Minuten zerkleinert. Nach diesem Schritt wird die Suspension mittels einer Vakuum-Filternutsche durch einen 1,6 Micron Glasfaser-Filter filtriert. Das Filtrat wird als Produkt in Form einer leicht trüben Lösung bei 4°C in einem Kühlschrank gelagert. Das Produkt, das u.a. kolloidal suspendiertes Material - im Gegensatz zu Partikeln, die unter einem Lichtmikroskop sichtbar sind - enthält, ist in dieser Erfindung als Lösung beschrieben.

## 2. Anwendungsbeispiele für die erfindungsgemäßen Präparate

### 2.1 Dosierung

Ein Produkt in Form einer Suspension oder kolloidalen Lösung, hergestellt aus Reissamen wie in Beispiel 1.1.1, wird unter kontinuierlichem langsamen Rühren in einen Behälter gemischt. Eine peristaltische Schlauchpumpe wird verwendet, um das Produkt zu dosieren. Für dieses Produkt wird ein Schlauchinnendurchmesser von 4 mm verwendet, um eine Verstopfung bei größeren Teilchen zu vermeiden.

Produkte des Beispiels 1.1.2 in Form einer Lösung wurden auch mit verschiedenen Schlauchpumpenarten problemfrei dosiert.

Diese Pumpenart wurde für andere Produkte aus dieser Erfindung zu Dosierungszwecken verwendet.

### 2.2 Ergebnisse

#### 2.2.1 Reduzierung der Keimzahl in Papiermaschinenkreislaufwasser

Gläserne Objektträger wurden drei Tage lang bei 40°C im Siebwasser I-Kreislauf einer Papiermaschine, die holzfreies Feinpapier produziert, und der ca.  $5 \times 10^5$  cfu/ml enthielt, inkubiert. Die Objektträger wurden dann mit destilliertem Wasser in einen Behälter ab gespült. Die Keimzahl der so entstandenen Bakteriensuspension wurde bestimmt und mit destilliertem Wasser auf ca.  $10^4$  cfu/ml eingestellt. Diese Flüssigkeit wird als synthetisches Kreislaufwasser für die folgenden Labortests verwendet.

0,05 ml des Produktes aus den Beispielen 1.1.1 bis 1.4.6, wie in der folgende Tabelle aufgelistet, wurden mit 100 ml synthetischem Kreislaufwasser gemischt und unter Schütteln bei 40°C für vier Stunden inkubiert. Als Kontrolle diente mit sterilem Tris-Puffer behandeltes synthetisches Kreislaufwasser. Je 100  $\mu$ l verschiedener Verdünnungen (unverdünnt bis 1:1000) wurden aus Keimzahl-Agar (Fa. Merck, Wien) ausplattiert und 24 h bei 37°C inkubiert.

Die folgende Tabelle zeigt, daß sich im Vergleich zur Kontrolle dabei eine Reduktion der Keimzahl abhängig vom verwendeten Produkt ergibt.

Tabelle 1

Beispiel Nr.	Produktbasis	Produktform	Keimzahl im SW- Probe in cfu/ml
Blind	nur Tris-behandelt	-	$1 \times 10^6$
1.1.1	Reis-ungekeimt	Suspension	$5 \times 10^5$
1.1.2	Mais- ungekeimt	Suspension	$6 \times 10^5$
1.1.3	Reis-ungekeimt	Lösung	$6 \times 10^5$
1.1.4	Mais-ungekeimt	Lösung	$8 \times 10^5$
1.2.1	Reis-gekeimt	Suspension	$4 \times 10^4$
1.2.2	Mais-gekeimt	Suspension	$8 \times 10^4$
1.2.3	Reis-gekeimt	Lösung	$1 \times 10^5$
1.2.4	Mais-gekeimt	Lösung	$4 \times 10^5$
1.3.1	Karottenschale- nicht vermehrt	Suspension	$2 \times 10^5$
1.3.2	Karottenschale- nicht vermehrt	Lösung	$4 \times 10^5$
1.4.1	Karottenzellen- vermehrt	Suspension	$1 \times 10^5$
1.4.2	Kartoffelzellen- vermehrt	Suspension	$2 \times 10^5$
1.4.3	Brombeerzellen- vermehrt	Suspension	$5 \times 10^3$
1.4.4	Maisembryozellen- vermehrt	Suspension	$2 \times 10^5$
1.4.5	Karottenzellen- vermehrt	Lösung	$4 \times 10^5$
1.4.6	Kartoffelzellen- vermehrt	Lösung	$5 \times 10^5$

### 2.2.2 Hemmung von Säure-produzierenden Keimen aus Papiermaschinenkreislaufwasser

Gläserne Objektträger wurden drei Tage lang bei 40°C im Siebwasser I-Kreislauf einer Papiermaschine, die holzfreies Feinpapier produziert, der ca.  $5 \times 10^5$  cfu/ml enthielt, inkubiert. Die Objektträger wurden dann mit destilliertem Wasser in einen Behälter ab gespült. Die Keimzahl der so entstandenen Bakteriensuspension wurde bestimmt und mit destilliertem Wasser auf ca.  $10^4$  cfu/ml eingestellt. Diese Flüssigkeit wurde als synthetisches Kreislaufwasser für die folgenden Labortests verwendet.

0,05 ml des Produktes aus den Beispielen 1.1.1 bis 1.4.6, wie in der folgenden Tabelle aufgelistet, wurden mit 100 ml synthetisches Kreislaufwasser gemischt und unter Schütteln bei 40°C über Nacht inkubiert. Als Kontrolle diente mit sterilem Tris-Puffer behandeltes synthetisches Kreislaufwasser.

Daraufhin wurde 1 ml der Mischung mit 20 ml Eisen-Dreizucker-Agar (Fa. Merck, Wien) gemischt und in Petrischalen gegossen, welche 48 h bei 37°C inkubiert wurden.

Die nachfolgende Tabelle 2 zeigt, daß im Vergleich zu den Kontroll-Proben, bei denen sich der Agar schon nach 24 h vollkommen gelb färbte (Indikator für Säurebildung durch Zuckerabbauende Bakterien) war der Agar bei den mit den Produkten behandelten Proben nach 24 h noch rot und begann sich erst nach verschieden langer zusätzlicher Zeit leicht gelb zu verfärben. Die Entwicklung der gelben Farbe wurde alle 6 Stunden kontrolliert; die Ergebnisse sind in der folgende Tabelle aufgelistet.

Tabelle 2

Papiermaschinen-Siebwasser-I: Hemmung von Säure-produzierenden Keimen (gemessen mittels Farbindikator) nach Behandlung.			
Beispiel Nr.	Produktbasis	Produktform	Zeit in Stunden bis Beginn der Farbentwicklung nach gelb
Blind	nur Tris-behandelt	-	24
1.1.1	Reis-ungekeimt	Suspension	36
1.1.2	Mais-ungekeimt	Suspension	36
1.1.3	Reis-ungekeimt	Lösung	30
1.1.4	Mais-ungekeimt	Lösung	30
1.2.1	Reis-gekeimt	Suspension	72
1.2.2	Mais-gekeimt	Suspension	60
1.2.3	Reis-gekeimt	Lösung	60
1.2.4	Mais-gekeimt	Lösung	54
1.3.1	Karottenschale- nicht vermehrt	Suspension	42
1.2.2	Karottenschale- nicht vermehrt	Lösung	36
1.4.1	Karottenzellen- vermehrt	Suspension	60
1.4.2	Kartoffelzellen- vermehrt	Suspension	48
1.4.3	Brombeerzellen- vermehrt	Suspension	120
1.4.4	Maisembryozellen- vermehrt	Suspension	54
1.4.5	Karottenzellen- vermehrt	Lösung	48
1.4.6	Kartoffelzellen- vermehrt	Lösung	42



### 2.2.3 Hemmung von Mikroorganismen aus Papiermaschinenkreislaufwasser

Um die Auswirkung der (Suspensions-)Kulturen auf das Bakterienwachstum in Papiermaschinenkreislaufwasser zu testen, wurde folgendes Experiment durchgeführt:

Eisen-Dreizucker-Agar (Fa. Merck, Wien) wurde in destilliertem Wasser wie vom Hersteller angegeben aufgelöst und für 25 Minuten bei 121°C und 1,5-2 bar autoklaviert. Nachdem er auf etwa 50°C abgekühlt war, wurde er mit dem Papiermaschinenkreislaufwasser gemischt und schließlich in Petrischalen gegossen.

Eine Serie von Produktsuspensionen wie in Beispiel 1.4.2, 1.4.3 und 1.4.4 wurde hergestellt, allerdings wurde der Tris-Puffer durch steriles destilliertes Wasser ersetzt.

In den Agar wurden je 4 Löcher ( $\phi$  1cm) pro Platte gestochen. In diese wurden dann jeweils 200  $\mu$ l der Produktsuspensionen sowie als Kontrolle 200  $\mu$ l steriles Wasser pipettiert. Die so behandelten Petrischalen wurden bei Raumtemperatur bei Raumlicht für 72 Stunden inkubiert.

Dabei zeigte sich, daß im Umkreis um die Löcher mit den Produktsuspensionen, nicht jedoch um das mit Wasser gefüllte Loch, der Farbumschlag nach gelb ausblieb bzw. verzögert auftrat.

### 2.2.4 Hemmung von Säure-produzierenden Keimen

Das gemäß 1.1.2 erhaltene Mais-Präparat wird auf Feststoffgehalt (Trockenschrank bei 105°C) gemessen und mit Pufferlösung auf 2% Feststoff im fertigen Produkt korrigiert. Das Produkt in Form einer trüben Suspension wurde bei 4°C in einem Kühlschrank gelagert.

Prozesswasser vom Siebwasser I-Kreislauf einer Papiermaschine, die holzfreies Feinpapier produziert, wurde entnommen und die Keimzahl gemessen, wobei ca.  $5 \times 10^5$  cfu/ml feststellbar waren.

0,25 ml-, 1,25 ml- sowie 2,5 ml-Aliquote des Produkts wurden mit Pufferlösung auf 5 ml verdünnt, anschließend mit 100 ml des Papiermaschinen-Siebwassers gemischt und unter Schütteln bei 40°C für über Nacht inkubiert. Als Kontrolle diente mit 5 ml Pufferlösung behandeltes Papiermaschinen-Siebwasser. Je 100 µl verschiedener Verdünnungen (unverdünnt bis 1:1000) wurden auf Keimzahl-Agar (Fa. Merck, Wien) ausplattiert und über 48 Stunden bei 37°C inkubiert.

Im Vergleich zur Kontrolle ergab sich dabei eine Reduktion der Keimzahl abhängig vom verwendeten Produkt. Ein Wirkung zeigt sich ab 50 ppm Zugabe der Suspension und ist bei 500 ppm maximal entfaltet. Foto 1 zeigt die Kontrolle gegen Foto 2, welches nach einer Behandlung mit 500 ppm fast keine Kolonien zeigt.

### 2.3 Einsatz zur Konservierung

#### 2.3.1 Hemmung der Pilzbildung bei Stärkelösung

Die in 2.2.4 verwendete Suspension wurde zur Behandlung einer bei 85°C frisch gekochten 20%igen Stärkelösung verwendet, welche direkt von der ersten Stufe eines Papiermaschinen-Leimvorbereitungssystems genommen wurde. Die Stärkelösung wurde mit 5.000 ppm bzw. 200 ppm der Suspension behandelt, kurz gemischt und die behandelte Mischung sofort in Petrischalen gegossen. Als Kontrolle diente unbehandelte Stärkelösung. Die Petrischalen wurden für 3 Tage bei Raumtemperatur im Dunkeln inkubiert und danach auf Wachstum von Mikroorganismen kontrolliert, wobei es sich hauptsächlich um Pilze handelt. Die Photographien 3, 4 und 5 zeigen die Reduktion des Pilzwachstum in der Stärkelösung bei Zugabe von 5.000 ppm bzw. 200 ppm der erfindungsgemäß eingesetzten Suspension, im Vergleich zu der un-

behandelten Kontrolle (0 ppm). Die konservierende Wirkung der erfindungsgemäßen Präparate ist damit erwiesen.

### 2.3.2 Hemmung der Pilzbildung im Vergleich zu Biocid

Eine 9%-ige Stärkelösung wird mit einer Lösung von Bioziden durch Zugabe von 100 ppm Dilurit 946 bzw. 70 ppm Sumetrol RX 345 behandelt. Die gleiche Stärkelösung wird des weiteren mit verschiedenen Konzentrationen der unter 2.2.4 verwendeten Suspension behandelt. Die Zugabe der Suspension vermindert das Wachstum säurebildender Bakterien, wie das in der nachfolgenden Tabelle durch die Abnahme der pH-Senkung gezeigt ist.

Nr.	Produktkonzentration	pH (0 h)	pH (nach 4d)
1.	Kontrolle (keine Behandlung)	5,3	4,3
2.	Biozid	5,3	4,6
3.	100 ppm Suspension	5,3	4,6
4.	200 ppm Suspension	5,3	4,8
5.	300 ppm Suspension	5,3	4,8

Dieser Tabelle ist zu entnehmen, daß eine unbehandelte Kontrolle innerhalb 4 Tagen (d) säurebildende Bakterien produziert, die den pH-Wert um 1 sinken läßt. Bei Zugabe von 100 ppm der Suspension sinkt der pH nur um 0,7, bei 200 ppm oder 300 ppm um nur 0,5.

Die vorangehenden Beispiele zeigen deutlich die Wirksamkeit der erfindungsgemäß eingesetzten Suspension bzw. kolloidalen Lösung. Aufgrund der leichten Verfügbarkeit des Rohmaterials Pflanze, wie es hier definiert worden ist, das zudem keine komplizierten Aufbewahrungs- und Aufbereitungstechniken erfordert und biologisch unbedenklich ist, liefern die erfindungsgemäßen Präparate sowie das Verfahren eine wirksame und zuverlässige Maßnahme gegen Schleim und Belag in geschlossenen oder teilgeschlossenen wäßrigen oder wasserführenden Systemen.

Patentansprüche

1. Präparate zur Herabsetzung und/oder Verhinderung von Schleim und Belag in geschlossenen oder teilgeschlossenen wäßrigen oder wasserführenden Systemen, die als Wirkkomponente im wesentlichen keimfähiges, gekeimtes, vermehrbares und/oder vermehrtes pflanzliches Material enthalten, hergestellt, indem man

a) keimfähiges pflanzliches Material reinigt und sterilisiert, in geeigneter Weise zerkleinert und zur Erzeugung einer Suspension in einem wäßrigen Medium aufnimmt, man die Suspension in üblicher Weise homogenisiert und hinsichtlich der Teilchengröße standardisiert und

die so erhaltene Suspension gegebenenfalls durch Feinfiltration in eine kolloidale Lösung überführt, welche man gewinnt; oder

b) keimfähiges pflanzliches Material reinigt und sterilisiert und unter üblichen Bedingungen einer Keimung unterwirft, die Keimlinge gewinnt, zur Erzeugung einer Suspension in einem wäßrigen Medium aufnimmt und in geeigneter Weise zerkleinert, homogenisiert und hinsichtlich der Teilchengröße standardisiert und

die so erhaltene Suspension gegebenenfalls durch Feinfiltration in eine kolloidale Lösung überführt, welche man gewinnt, oder

c) vermehrbares pflanzliches Material reinigt und sterilisiert, zur Erzeugung einer Suspension in einem wäßrigen Medium aufnimmt, in geeigneter Weise zerkleinert und homogenisiert und hinsichtlich der Teilchengröße standardisiert und

die so erhaltene Suspension gegebenenfalls durch Feinfiltration in eine kolloidale Lösung überführt, welche man gewinnt, oder

- d) vermehrbares pflanzliches Material reinigt und sterilisiert, in geeigneter Weise zerkleinert und auf Nährmedium vermehrt, die Zellen erntet und in dem verdünnten Nährmedium propagiert, die Zellen abzentrifugiert, in wäßrigem Medium aufnimmt und

die so erhaltene Suspension in geeigneter Weise homogenisiert und gegebenenfalls durch Feinfiltration in eine kolloidale Lösung überführt, welche man gewinnt.

2. Präparat nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß man das keimfähige Material aus Getreidekorn und Pflanzensamen auswählt.
3. Präparat nach Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, daß man zu seiner Herstellung Reiskörner und Maiskörner auswählt.
4. Präparat nach Anspruch 2 oder 3, dadurch gekennzeichnet, daß man das vermehrbare pflanzliche Material, insbesondere Reis oder Mais, mit Ethanol und Natriumhypochlorit-Lösung wäscht und sterilisiert, in einer Mühle fein zermahlt, aufgenommen in Pufferlösung in einem Homogenisator homogenisiert und mittels eines 250-Mikron-Schüttelsiebes hinsichtlich der Teilchengröße standardisiert.
5. Präparat nach Anspruch 4, dadurch gekennzeichnet, daß man die erhaltene Suspension zur Erzeugung einer kolloidalen Lösung durch ein 1,6-Mikron-Filter filtriert.
6. Präparat nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß man keimfähiges pflanzliches Material, insbesondere Reis oder Mais, mit Ethanol und Natriumhypochlorit-Lösung wäscht und sterilisiert, in einem Nährmedium unter Luftzufuhr keimt,

die Keimlinge gewinnt, in Pufferlösung aufnimmt, mit einem Mixer zerkleinert und die so erhaltene Suspension in einem Homogenisator homogenisiert und mittels eines 250-Mikron-Schüttelsiebes hinsichtlich der Teilchengröße standardisiert.

7. Präparat nach Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, daß man die erhaltene Suspension zur Erzeugung einer kolloidalen Lösung durch einen 1,6-Mikron-Filter filtriert.
8. Präparat nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß man das vermehrbare pflanzliche Material aus Pflanzenabfällen, Samenembryonen und dergleichen auswählt.
9. Präparat nach Anspruch 8, dadurch gekennzeichnet, daß man das vermehrbare pflanzliche Material mit Ethanol und Natriumhypochlorit-Lösung wäscht und sterilisiert, in Pufferlösung aufnimmt und mittels eines Mixers zerkleinert, in einem Homogenisator homogenisiert und mittels eines 250 Mikron Schüttelsiebes hinsichtlich der Teilchengröße standardisiert.
10. Präparat nach Anspruch 9, dadurch gekennzeichnet, daß man die erhaltene Suspension zur Erzeugung einer kolloidalen Lösung durch einen 1,6-Mikron-Filter filtriert.
11. Präparat nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß man das vermehrbare pflanzliche Material sehr fein zerkleinert und auf Nährmedium inkubiert, gewachsenen Kallus erntet und erneut auf frischem Nährmedium inkubiert, die so erhaltenen Zellen auf ein Zellsieb überträgt, mechanisch zerkleinert, in verdünntem Nährmedium zur weiteren Propagierung aufnimmt, schließlich die Zellen abzentrifugiert und in Pufferlösung zur Erzeugung einer Suspension aufnimmt.
12. Präparat nach Anspruch 11, dadurch gekennzeichnet, daß man die erhaltene Suspension zur Erzeugung einer kolloidalen

Lösung in geeigneter Weise in einem Homogenisator homogenisiert und durch ein 1,6-Mikron-Filter filtriert.

13. Präparat nach Anspruch 11 oder 12, dadurch gekennzeichnet, daß man das vermehrbare pflanzliche Material bei Raumtemperatur bis 30°C im Dunkeln inkubiert.
14. Präparat nach einem der Ansprüche 11 bis 13, dadurch gekennzeichnet, daß man bei einer Luftfeuchtigkeit von bis zu 95 % inkubiert.
15. Präparat nach einem der Ansprüche 1 bis 14, dadurch gekennzeichnet, daß dem letzten Herstellungsschritt zur Ausbildung der Suspension oder kolloidalen Lösung ein Lyophylisierungsschritt folgt.
16. Verfahren zur Herabsetzung und/oder Verhinderung von Schleim und Belag in geschlossenen oder teilgeschlossenen wäßrigen oder wasserführenden Systemen, wobei man dem System ein Präparat nach einem der Ansprüche 1 bis 15 in Form einer Suspension oder kolloidalen Lösung in einer die Schleim- und Belagbildung herabsetzenden oder verhindernden Menge zudosiert.
17. Verfahren nach Anspruch 16, dadurch gekennzeichnet, daß man die Suspension oder kolloidale Lösung systemabhängig in einer Konzentration im Bereich von 10 ppm bis 10.000 ppm zudosiert.
18. Verfahren nach Anspruch 17, dadurch gekennzeichnet, daß man die Suspension oder kolloidale Lösung in einer Konzentration im Bereich von 100 ppm bis 200 ppm zudosiert.
19. Verfahren nach Anspruch 18, dadurch gekennzeichnet, daß man die Suspension oder kolloidale Lösung in einer Konzentration von weniger als 100 ppm zudosiert.

20. Verfahren nach einem der Ansprüche 16 bis 19, dadurch gekennzeichnet, daß man weitere Zusätze in Form von Enzymen, Tensiden, Lignosulfonaten und/oder nicht-sessilen Mikroorganismen vorsieht.
21. Verfahren nach einem der Ansprüche 16 bis 20, dadurch gekennzeichnet, daß man dem System zusätzlich Sauerstoff zuführt.



Foto 1

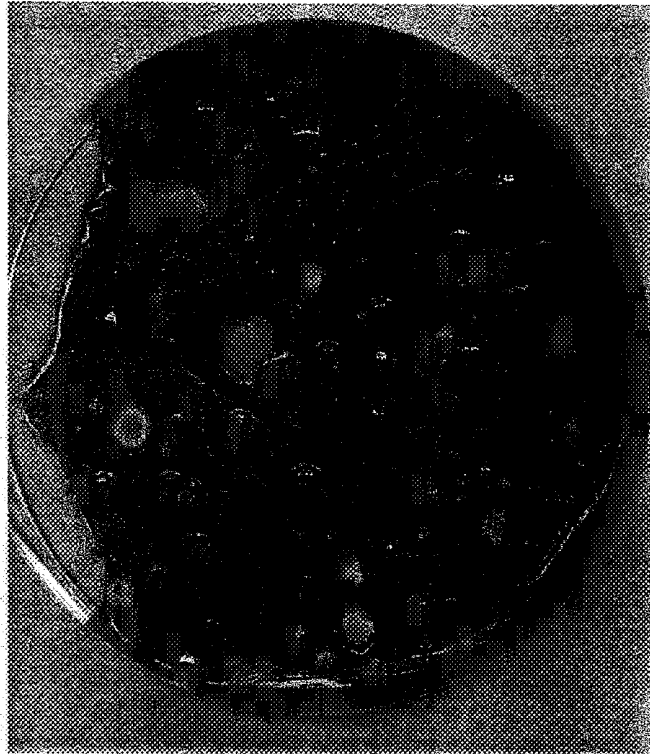


Foto 2

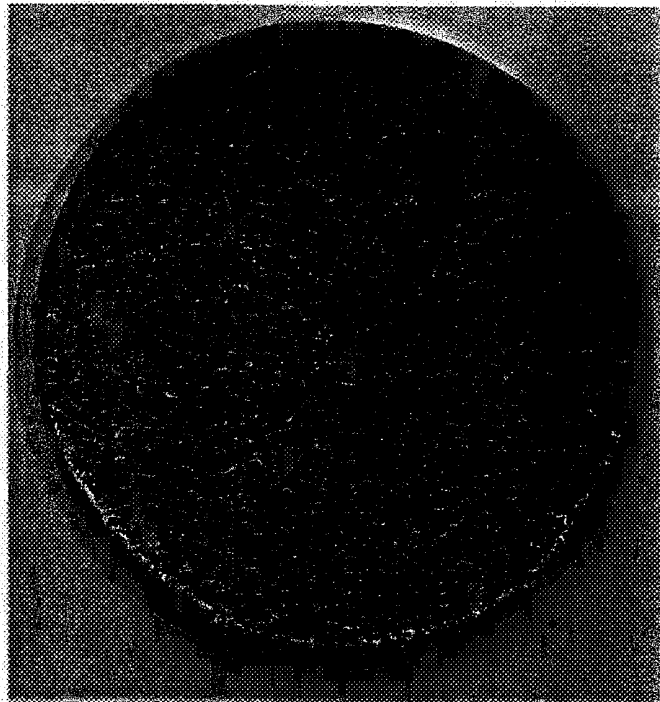


Foto 3

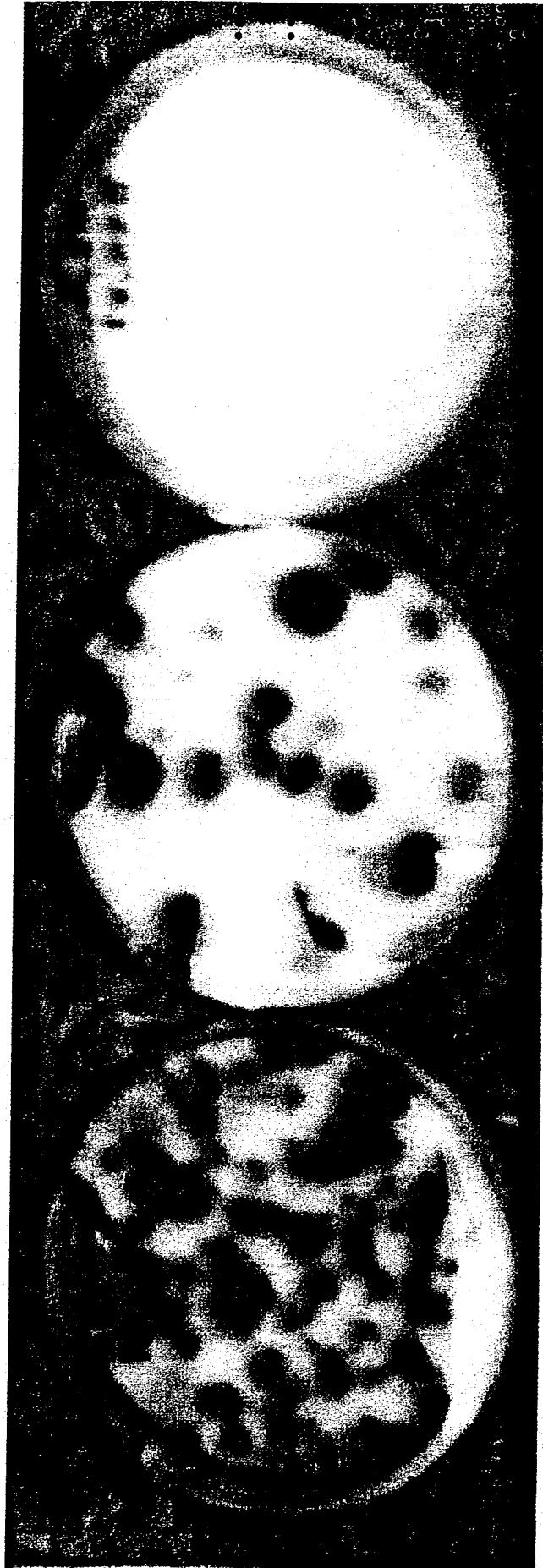
5000 ppm

Foto 4

200 ppm

Foto 5

Null



# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Inte. onal Application No

PCT/EP 99/08184

**A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER**

IPC 7 D21C9/00 C02F1/50 D21H21/04 //C02F103:28

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

**B. FIELDS SEARCHED**

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 D21C D21H C02F

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

**C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT**

Category °	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	GB 2 273 291 A (GRACE W R & CO) 15 June 1994 (1994-06-15) page 5 -page 6; claims ----	1, 2, 10, 17-20
X	DE 21 51 326 A (LELLEY JAN DR) 19 April 1973 (1973-04-19) page 3, line 5 -page 4, line 3 ----	1, 8
A	US 5 611 939 A (HERNANDEZ-MENA ROY ET AL) 18 March 1997 (1997-03-18) the whole document -----	1-21

Further documents are listed in the continuation of box C.

Patent family members are listed in annex.

° Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

2 February 2000

Date of mailing of the international search report

15/02/2000

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Bernardo Noriega, F

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/EP 99/08184

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
GB 2273291 A	15-06-1994	AU 5224293 A	23-06-1994
		CA 2110856 A	09-06-1994
		EP 0602891 A	22-06-1994
		JP 6233986 A	23-08-1994
		ZA 9309192 A	08-08-1994
DE 2151326 A	19-04-1973	CH 532353 A	15-01-1973
		FR 2156399 A	25-05-1973
		IT 966321 B	11-02-1974
		NL 7213890 A	17-04-1973
US 5611939 A	18-03-1997	CA 2187657 A	07-06-1997
		EP 0778244 A	11-06-1997
		US 5695652 A	09-12-1997

# INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 99/08184

**A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES**

IPK 7 D21C9/00 C02F1/50 D21H21/04 //C02F103:28

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

**B. RECHERCHIERTE GEBIETE**

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

IPK 7 D21C D21H C02F

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

**C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN**

Kategorie <sup>o</sup>	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	GB 2 273 291 A (GRACE W R & CO) 15. Juni 1994 (1994-06-15) Seite 5 -Seite 6; Ansprüche ---	1,2,10, 17-20
X	DE 21 51 326 A (LELLEY JAN DR) 19. April 1973 (1973-04-19) Seite 3, Zeile 5 -Seite 4, Zeile 3 ---	1,8
A	US 5 611 939 A (HERNANDEZ-MENA ROY ET AL) 18. März 1997 (1997-03-18) das ganze Dokument -----	1-21

Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

Siehe Anhang Patentfamilie

<sup>o</sup> Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

"E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

"&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

2. Februar 2000

Absenddatum des internationalen Recherchenberichts

15/02/2000

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde  
Europäisches Patentamt, P. B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Bernardo Noriega, F

# INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 99/08184

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
GB 2273291 A	15-06-1994	AU 5224293 A CA 2110856 A EP 0602891 A JP 6233986 A ZA 9309192 A	23-06-1994 09-06-1994 22-06-1994 23-08-1994 08-08-1994
DE 2151326 A	19-04-1973	CH 532353 A FR 2156399 A IT 966321 B NL 7213890 A	15-01-1973 25-05-1973 11-02-1974 17-04-1973
US 5611939 A	18-03-1997	CA 2187657 A EP 0778244 A US 5695652 A	07-06-1997 11-06-1997 09-12-1997