



TALLINNA TEHNICAÜLIKOOL
INSENERITEADUSKOND
Materjali- ja keskkonnatehnoloogia instituut

**VESINIKPEROKSIIDI AKTIVEERIMISMEETODITE
UURING DESINFITSEERIMISVAHENDITE
ARENDUSE EESMÄRGIL**

**STUDY ON HYDROGEN PEROXIDE ACTIVATION
METHODS FOR THE DEVELOPMENT OF DISINFECTANTS**

MAGISTRITÖÖ

Üliõpilane: Heleene Hollas

Üliõpilaskood: 192195KAKM

Juhendaja: Juri Bolobajev, teadur

Kaasjuhendaja: Siimu Rom, ASi Chemi-
Pharm tootearendusjuht

Tallinn 2021

AUTORIDEKLARATSIOON

Olen koostanud lõputöö iseseisvalt.

Lõputöö alusel ei ole varem kutse- või teaduskraadi või inseneridiplomit taotletud. Kõik töö koostamisel kasutatud teiste autorite tööd, olulised seisukohad, kirjandusallikatest ja mujalt pärinevad andmed on viidatud.

“26” mai 2021

Autor: Heleene Hollas

/ allkiri /

Töö vastab magistritööle esitatud nõuetele

“26” mai 2021

Juhendaja: Juri Bolobajev

/ allkiri /

Kaitsmisele lubatud

“.....”.....20... .

Kaitsmiskomisjoni esimees

/ nimi ja allkiri /

Lihtlitsents lõputöö reprodutseerimiseks ja lõputöö üldsusele kättesaadavaks tegemiseks¹

Mina, Heleene Hollas

1. Annan Tallinna Tehnikaülikoolile tasuta loa (lihtlitsentsi) enda loodud teose „Vesinikperoksiidi aktiveerimismeetodite uuring desinfitseerimisvahendite arenduse eesmärgil“,

mille juhendaja on Juri Bolobajev,

1.1 reprodutseerimiseks lõputöö säilitamise ja elektroonse avaldamise eesmärgil, sh Tallinna Tehnikaülikooli raamatukogu digikogusse lisamise eesmärgil kuni autoriõiguse kehtivuse tähtaja lõppemiseni;

1.2 üldsusele kättesaadavaks tegemiseks Tallinna Tehnikaülikooli veebikeskkonna kaudu, sealhulgas Tallinna Tehnikaülikooli raamatukogu digikogu kaudu kuni autoriõiguse kehtivuse tähtaja lõppemiseni.

2. Olen teadlik, et käesoleva lihtlitsentsi punktis 1 nimetatud õigused jäävad alles ka autorile.

3. Kinnitan, et lihtlitsentsi andmisega ei rikuta teiste isikute intellektuaalomandi ega isikuandmete kaitse seadusest ning muudest õigusaktidest tulenevaid õigusi.

26. mai 2021

¹ Lihtlitsents ei kehti juurdepääsupiirangu kehtivuse ajal vastavalt üliõpilase taotlusele lõputööle juurdepääsupiirangu kehtestamiseks, mis on allkirjastatud teaduskonna dekaani poolt, välja arvatud ülikooli õigus lõputööd reprodutseerida üksnes säilitamise eesmärgil. Kui lõputöö on loonud kaks või enam isikut oma ühise loomingu tegevusega ning lõputöö kaas- või ühisautor(id) ei ole andnud lõputööd kaitsvale üliõpilasele kindlaksmääratud tähtajaks nõusolekut lõputöö reprodutseerimiseks ja avalikustamiseks vastavalt lihtlitsentsi punktidele 1.1. ja 1.2, siis lihtlitsents nimetatud tähtaja jooksul ei kehti.

Materjali- ja keskkonnatehnoloogia instituut
LÕPUTÖÖ ÜLESANNE

Üliõpilane: Heleene Hollas, 192195KAKM

Õppekava, peeriala: KAKM02/18 Keemia- ja keskkonnakaitse tehnoloogia

Juhendaja: teadur, Juri Bolobajev, 620 2851

Kaasjuhendaja: ASi Chemi-Pharm tootearendusjuht, Siimu Rom, 677 8806

Lõputöö teema:

Vesinikperoksiidi aktiveerimismeetodite uuring desinfitseerimisvahendite arenduse eesmärgil

Study on hydrogen peroxide activation methods for the development of disinfectants

Lõputöö põhieesmärgid:

1. Kirjanduse ülevaate koostamine vastavalt magistritöö plaanile
2. Katsete teostamine ja katsete teostamine
3. Tulemuste analüüs ja interpreteerimine

Lõputöö etapid ja ajakava:

Nr	Ülesande kirjeldus	Tähtaeg
1.	Katseline osa	Tähtajatu
2.	Kirjanduse ülevaade	Jaanuar 2021
3.	Materjalid ja meetodid	Jaanuar 2021
4.	Tulemuste arutelu	Aprill 2021
5.	Sissejuhatus, kokkuvõte	Mai 2021
6.	Diplomitöö ja dokumentide vormistamine, esitamine	Mai 2021

Töö keel: eesti keel

Lõputöö esitamise tähtaeg: "26" mai 2021. a

Üliõpilane: Heleene Hollas "26" mai 2021.a
/allkiri/

Juhendaja: Juri Bolobajev "26" mai 2021.a
/allkiri/

Kaasjuhendaja: Siimu Rom "26" mai 2021.a
/allkiri/

Programmijuht: Marina Trapido ".....".....20.....a
/allkiri/

SISUKORD

EESSÖNA.....	7
SISSEJUHATUS	8
1. KIRJANDUSE ÜLEVAADE	9
1.1 Uute desinfitseerijate arendamise tähtsus.....	9
1.2 Desinfitseerijad	10
1.3 Desinfitseerijate klassifikatsioon	13
1.3.1 Orgaanilised desinfitseerijad.....	15
1.3.2 Anorgaanilised desinfitseerijad	18
1.4 Vesinikperoksiidi roll desinfitseerimisprotsessis	20
1.4.1 Aktiveeritud vesinikperoksiid	21
1.4.2 Kommertstooted	22
1.5 Vesinikperoksiidi aktiveerimine	23
1.5.1 Siirdemetallid	24
1.5.2 Orgaanilised happed	25
1.6 Lisaained ja nende rollid toodetes.....	26
1.6.1 Stabilisaatorid.....	26
1.6.2 Kompleksimoodustajad.....	26
1.6.3 Pindaktiivsed ained	27
2. MATERJALID JA MEETODID	28
2.1 Kasutatud reagentid.....	28
2.2 Katsemeetodid.....	29
2.3 Deoksüriboosi meetod.....	29
2.3.1 Meetodi tööpõhimõte.....	31
2.3.2 Meetodi kalibreerimine.....	32

3. TULEMUSED JA ARUTELU	33
3.1 Siirdemetallid	33
3.2 Fenoolsed ühendid.....	36
3.3 Karboksüülhapped	42
3.4 Kommertstooted.....	44
3.5 Edasised arendusetapid	44
KOKKUVÕTE	46
ABSTRACT	48
KASUTATUD KIRJANDUS.....	50
LISAD	57

EESSÕNA

Käesolev töö on teostatud Tallinna Tehnikaülikooli Inseneriteaduskonna Materjali- ja keskkonnatehnoloogia instituudis. Lõputöö teema sõnastati kaasjuhendaja AS Chemi-Pharm tootearendusjuhi Siimu Romi algatusel.

Soovin tänada juhendajat teadur Juri Bolobajevit abi eest nii laboratoorsete katsete teostamisel, diplomitöö kirjutamisel kui ka andmete töötlemisel. Samuti olen tänulik kaasjuhendaja Siimu Romile, kes jagas väga vajalikke nõuandeid ja juhiseid.

Magistritöö raames viidi läbi uuring vesinikperoksiidi aktiveerimismeetodite kohta eesmärgiga arendada välja vesinikperoksiidi baasil desinfitseerija. Leitud informatsiooni põhjal viidi läbi katseseeriad, et kindlaks teha, missugused aktiveerimismeetodid on kõige efektiivsemad arendatavas tootes kasutamiseks. Uuriti ka lisaainete mõju vesinikperoksiidi aktiveerimisele.

Vesinikperoksiid, vesinikperoksiidi aktiveerimine, desinfitseerijad, magistritööd

SISSEJUHATUS

Pindade puhastamine ja desinfitseerimine mängivad väga olulist rolli mikroobse saaste vastu võitlemisel. Põhimõtteliselt ei ole pindade desinfitseerimise tähtsus ega olemus viimaste aastakümnete jooksul oluliselt muutunud, kuid eriti suurt tähelepanu pööratakse sellele mõistetavalt just praegustes pandeemia tingimustes. COVID-19 leviku mõju tänapäevasele maailmale on muutnud uute desinfitseerijate arendamise vältimatuks, et pindade desinfitseerimisprotsess muutuks veelgi tõhusamaks, kuid samas keskkonnasõbralikumaks ning ohutumaks.

Väga laialdaselt kasutatakse desinfektsioonivahendeid just haiglates ning muudes tervishoiuasutustes mitmesuguste pindade, esemete ja tarvikute puhastamiseks. Eelkõige on need hädavajalik osa nakkushaiguste tõrjepraktikatest ja abiks tervishoiuteenustega seotud nakkuste ennetamisel. Lisaks haiglatele on praegusel ajal nii käte kui ka pindade jaoks mõeldud desinfitseerijad kasutusel ka mitmetes muude valdkondade ettevõtetes.

Üldiselt mõeldakse desinfektsioonivahendite all keemilisi aineid või nende segusid, mida kasutatakse mikroorganismide ja patogeenide hävitamiseks või nende kasvu inhibeerimiseks. Desinfitseerijad sisaldavad mitmesuguseid aktiivseid aineid, millel on laia spektriga antimikroobne toime ning millest paljusid on kasutatud juba väga kaua, sealhulgas näiteks alkohole, fenoole, joodi, kloori. Just aktiivaine on see, mis hävitab patogeene, tavaliselt nende rakkude tööd või ehitust häirides ja kahjustades. Lisaks aktiivsetele koostisosadele sisaldub desinfitseerimisvahendites enamasti veel ka muid erineva otstarbega koostisaineid. Näiteks lisatakse tootele pindaktiivseid aineid, et tagada pindade ühtlane märgumine või aidata kaasa puhastusomadustele.

Vesinikperoksiidil põhinevaid tooteid peetakse ohututeks ja keskkonnasõbralikeks. Seda seetõttu, et need lagunevad looduslikult esinevateks vee ja hapniku molekulideks. Vesinikperoksiidi sisaldavad desinfitseerijad hävitavad kiiresti laia spektrit baktereid ja viirusi ning on tõhusad puhastus- ja desinfektsioonivahendid.

Sellest tulenevalt oli käesoleva töö peamiseks eesmärgiks alustada aktiveeritud vesinikperoksiidi sisaldavate desinfitseerijate tootearendusprotsessi, viies läbi põhjalikud kirjanduse uuringud erinevate vesinikperoksiidi aktiveerimismeetodite kohta. Leitud informatsiooni kohaselt teostati mitmeid katseseeriaid deoksüriboosi meetodil, leidmaks kõige efektiivsemat vesinikperoksiidi aktiveerijat, mida kasutada arendatavas tootes. Lisaks sellele uuriti ka erinevate kompleksmoodustajate ning pindaktiivsete ainete mõju vesinikperoksiidi aktiveerimisele.

1. KIRJANDUSE ÜLEVAADE

1.1 Uute desinfitseerijate arendamise tähtsus

Mikrobioloogia on teadus, mis tegeleb mikroorganismide ehk mikroobide uurimisega. Mikroorganismidel on inimeste elus oluline roll, mis võib meile tuua nii kasu, aga ka kahju. Enim huvipakkuvad on erinevaid haigusi põhjustavad mikroobid, kuid lisaks tervishoiule on mikroobse saastumisega seotud veel ka mitmed teised valdkonnad, nagu toidutööstus ja toidu riknemine, põllumajandus, taimeinfektsioonid ja pinnakahjustused. Mikroorganismide tõrje on seega oluline saastumise vältimiseks, samuti selle eemaldamiseks ning vähendamiseks, kui saastumine on juba toimunud. Antiseptikas, desinfitseerimise ja steriliseerimise protsessides kasutatakse sel eesmärgil mitmesuguseid füüsikalisi ja keemilisi meetodeid (McDonnell, 2007).

Maailma Terviseorganisatsiooni andmetel saab igal aastal Euroopa Liidus ligikaudu neli miljonit patsienti tervishoiuteenustega seotud nakkuse. Selle all mõeldakse haiguseid või patoloogilisi seisundeid, mis on seotud haigustekitaja või selle jääkainetega kokkupuutumise või tervishoius kasutatavate seadmete kaudu, raviprotseduuride käigus või ravi tagajärjel (Council of the European Union, 2009). Terviseamet defineerib tervishoiuteenuse osutamisega seotud infektsiooni kui nakkust, mida patsiendil ei olnud 48 tundi enne tervishoiuteenust osutavasse asutusse saabumist või mis ei ole eelmises tervishoiuteenust osutanud asutuses viibimise jääknäht (Terviseamet, 2020). Kuigi mõned mikroorganismid ei kujuta endast ohtu tervetele inimestele, on haiglates erineva immuunpuudulikkuse tasemega patsiente, varasemate infektsioonidega isikuid, või nõrgema immuunsüsteemiga lapsi ja eakaid inimesi, mistõttu on vajalik tõhusate kontroll- ja tõrjemeetmete rakendamine efektiivse desinfitseerimise näol. Olulist rolli mikroorganismide paljunemisel mängivad pinnad, mis nõuavad puhastamisel ja mikrobioloogilisel hindamisel eriti suurt tähelepanu (Querido et al., 2019).

Nakkuse levimine võib toimuda kas otseses kontaktis nakatunud patsiendiga või kaudselt läbi saastunud eseme või pinna (Querido et al., 2019). Ehkki patogeeni ülekandumine ühelt patsiendilt teisele toimub kõige sagedamini tervishoiutöötajate käte kaudu, võivad haigla saastunud pinnad ja meditsiiniseadmed, harvemini ka vesi ja õhk, olla nakkuse levimisega otseselt või kaudselt seotud (Weber et al., 2013). Üks tervishoiuteenustega seotud nakkuste suure arvu peamisi põhjusi on seotud mikroorganismide võimega püsida keskkonnas pikka aega, näiteks kuivadel ja kõvadel pindadel. Pinnad võivad toimida mikroorganismide jaoks reservuaarina, kust nakkus võib edasi levida kõigile, kes sellega kokku puutuvad (Querido et al., 2019).

Saastunud pindade tagajärjel tervishoiuteenustega seotud nakkuste leviku vähendamiseks on kolm peamist võimalust. Esimeseks on ruumipindade puhastamise ja desinfitseerimise rakendamine ning täiustamine. Teiseks, ruumide puhastamine kasutades puutevabasisid (*no-touch*) desinfitseerimismeetodeid, mille all mõeldakse enamasti näiteks UV-lampe või automaatseadmeid, mis pihustavad ruumi aktiivaine segu. Kolmanda variandina on välja töötatud isedesinfitseerivad tööpinnad (Weber et al., 2013).

Desinfitseerimisvahenditega seoses esineb ka mitmeid probleeme (Otter et al., 2013):

- aktiivaine ebaefektiivsus teatud patogeeni suhtes, näiteks ei ole paljud sageli kasutatavad haigla desinfektsioonivahendid *C. difficile* eoste ja noroviiruse vastu tõhusad;
- toksilisus töötajatele või keskkonnale;
- haiglas kasutusel olevate materjalide ja seadmete kahjustamine;
- sobimatus pindadega;
- biotsiidi/antibiootikumide ristresistentsuse tekkimise võimalus.

Praegust tervisealast olukorda ja koroonaviiruse levikut silmas pidades pööravad kõik asutused suurt tähelepanu klientide, patsientide ja personali ohutusele. See hõlmab ka viiruse leviku piiramiseks vajalikke desinfitseerimismeetodeid. Kõik juhised sisaldavad teavet tööpindade desinfitseerimise ning sagedase kätepesu kohta, kuid vähem kirjeldatakse õigete desinfitseerivate kemikaalide ja meetodite valimise ning kasutamise olulisust või hoopis uudsete, täiustatud desinfitseerimisvahendite vajalikkust.

1.2 Desinfitseerijad

Biotsiid on üldmõiste, mis kirjeldab tavaliselt laia toimespektriga mikroorganisme inaktiveerivat keemilist ainet (McDonnell & Russell, 1999). Biotsiidiks nimetatakse aineid või ainete segusid, mis sisaldavad või tekitavad üht või mitut toimeainet ning mille eesmärk on ebasoovitavate organismide hävitamine, kahjutuks tegemine, nende toime ärahoidmine või muul viisil nende vastu võitlemine (Euroopa Liidu Teataja, 2012). Kuna erinevate biotsiidide antimikroobne toime on varieeruv, kasutatakse enamasti rohkem spetsiifilisi termineid nagu „-staatiline“, viidates kasvu pärssivatele ainetele (nt bakteriostaatilised, fungistaatilised ja sporistaatilised) ja „-tsiidne“, viidates sihtorganismi hävitavatele ainetele (nt sporitsiidne, virutsiidne ja bakteritsiidne) (McDonnell & Russell, 1999).

Desinfektsioonivahendid on aktiivaineid sisaldavad segud, mida kasutatakse patogeenide ja mikroorganismide hävitamiseks või nende kasvu inhibeerimiseks (Prabu et al., 2013). Desinfitseerimine hoiab ära nakatumise, vähendades potentsiaalselt nakkusohlike organismide arvu nende tapmise, eemaldamise või lahjendamise teel (Katzung et al., 2012). Desinfitseerijaid kasutatakse enamasti elututel objektidel või pindadel ning nad võivad olla sporistaatilised, kuid ei pruugi olla sporisitsidid (McDonnell & Russell, 1999). Üldjuhul on desinfitseerimine efektiivne enamike patogeenide vastu, välja arvatud bakterite eosed, mida peetakse desinfitseerimise ja steriliseerimise suhtes kõige vastupidavamateks (McDonnell, 2007). Steriliseerimise käigus on aga üldiselt võimalik eemaldada kõik mikroorganismid, kuid mitte prionid (Traverse & Aceto, 2015). Steriliseerijad hävitavad nii vegetatiivseid rakke kui ka eoseid, kui neid kasutatakse piisava aja jooksul ning sobiva temperatuuri juures (Katzung et al., 2012).

Desinfitseerimisvahendite alla kuuluvad ka antiseptikud, mis on kasutusel patogeensete mikroobide inhibeerimiseks või hävitamiseks ning nende kasvu pärssimiseks eluskoos. Nendeks võivad olla näiteks tervishoiutöötajate käte desinfitseerijad ja kirurgilised puhastus- ning desinfitseerimistooted (Traverse & Aceto, 2015). Antiseptikutel on peremeesrakkude jaoks piisavalt madal toksilisus, et neid on võimalik kasutada otse nahal, limaskestadel või haavadel (Katzung et al., 2012).

Enne desinfitseerimist ja steriliseerimist on vaja pinnad põhjalikult puhastada, sest seal leiduvad anorgaanilised ja orgaanilised materjalid häirivad nende protsesside tõhusust. Puhastamine tähendab võõrkehade, nagu näiteks saasteainete, sealhulgas tolmu, tahkete jäätmete, kemikaalijääkide, suure hulga mikroorganismide, ja neid ümbritseva orgaanilise aine eemaldamist. Tavaliselt kasutatakse puhastamisel vett koos pindaktiivseid aineid ja/või ensüüme sisaldavate toodetega (Traverse & Aceto, 2015).

Desinfektsioonivahendid jaotatakse sageli vastavalt nende efektiivsusele erinevate mikroorganismide vastu kõrge, keskmise ja madala tasemega toodeteks. Kõrgetasemelisi desinfektsioonivahendeid peetakse tõhusaks patogeensete mikroobide vastu, välja arvatud bakterite eosed. Need ained on pikema kokkupuuteaja jooksul üldjuhul ka sporisitsidid. Kesktaseme desinfektsioonivahendid on tõhusad mükobakterite, vegetatiivsete bakterite, viiruste ja seente vastu, kuid mitte tingimata kõikide bakterite või seente eoste suhtes. Madala aktiivsusega desinfektsioonivahendid on efektiivsed enamike bakterite, mõnede viiruste ja seente vastu, kuid mitte mükobakterite ja bakterite eoste vastu (McDonnell, 2007).

Biotsiidi valimisel on vajalik enim tähelepanu pöörata toote antimikroobsele efektiivsusele, ohutusele ja pindadega sobivusele. Ühegi rakenduse jaoks pole ideaalset

biotsiidi, kuid mõningad soovitatavad omadused on järgnevad (McDonnell, 2007; Rutala & Weber, 2019):

- aktiivsus (eelistatavalt kõigi) mikroorganismide vastu,
- kiire toime,
- efektiivsus ka saastavate orgaaniliste ja anorgaaniliste materjalide juuresolekul, mis võivad biotsiidi aktiivsust pärssida,
- madal toksilisus, ärritavus, mutageensus või kantserogeensus,
- sobivus pindade ja puhastatavate aladega, kasutusmugavus,
- soovimatute või mürgiste jääkide puudumine ning mitte tekkimine (lagunemisel või reageerimisel teiste kemikaalidega),
- stabiilsus, kuid võime keskkonnas hõlpsasti laguneda,
- keskkonnasõbralikkus,
- püsivus, tootel peaks olema töödeldud pinnale püsiv antimikroobne toime või antimikroobne jääkmõju,
- vastuvõetav lõhn,
- ökonoomsus, kulud ei tohiks olla ülemäära kõrged,
- vees lahustuvus,
- head puhastusomadused,
- mittesüttiv, leekpunkt alla 65 °C.

Tõhusa desinfitseerimisprotsessi saavutamiseks on esmalt vajalik õige desinfektsioonivahendi valimine (Rutala & Weber, 2014). Kõigi nende omaduste saavutamise võimalus erinevates olukordades on ebareaalne, seetõttu on oluline pöörata tähelepanu kõige sobivama desinfitseerimisvahendi valimisele lähtudes selle omadustest, konkreetse olukorra probleemidest ja desinfitseerimisprotseduuri soovitud tulemustest (Traverse & Aceto, 2015). Lisaks on oluline vahendi praktiline kasutus, selle põhjalik rakendamine nii, et desinfitseerimisvahend puutub kokku kogu pinnaga, samuti ka tervishoiuasutuste puhul haiglatöötajate nõuetekohane väljaõpe ning tootja etikettide juhistest kinnipidamine. Sobiva toote ja korrektse praktika kombinatsioon annab tulemuseks efektiivse pinna desinfitseerimise ning nakkusriski vähendamise (Rutala & Weber, 2014).

1.3 Desinfitseerijate klassifikatsioon

Biotsiidsed protsessid hõlmavad paljusid füüsikalisi ja keemilisi meetodeid. Desinfitseerimine võib toimuda erinevate füüsikaliste protsesside, näiteks ioniseeriva kiirguse, kuiva või niiske kuumuse või auru abil (Katzung et al., 2012). Ka mitmesugused kemikaalid, nagu aldehüüdid, halogeenid ja fenoolid, on kasutusel tänu nende antimikroobsele toimele. Biotsiidi valik ja kasutamine sõltuvad vajalikust rakendusest. Näiteks võib mitmesugustel kõvadel pindadel, nagu meditsiiniseadmetel, kasutada paljusid agressiivseid kemikaale või kõrge temperatuuriga protsesse, kuid naha antiseptikumina ei ole need vastuvõetavad (McDonnell, 2007).

Tervishoiuasutustes on desinfitseerimiseks levinud arvukalt erinevaid keemilisi aineid ja segusid. Need on enamasti vedelal kujul ja jagunevad aktiivaine põhjal üheksasse laia kategooriasse: happed, alkoholid, aldehüüdid, leelised, biguaniidid, halogeenid (hüpokloritid ja joodil põhinevad jodofoorid), oksüdeerivad ained, fenoolid ja kvaternaarsed ammooniumiühendid. Erinevate pindade ja seadmete desinfitseerimiseks arendatakse virutsiidse, bakteritsiidse, fungitsiidse ja tuberkulotsiidse toimega aktiveeritud vesinikperoksiidi tooteid, mis on viimasel ajal levima hakanud tänu nende headele, ideaalsele desinfitseerijale lähedastele omadustele (Traverse & Aceto, 2015).

Haiglates on varasemalt kõige sagedamini kasutatavad pinna desinfektsioonivahendid olnud alkoholipõhised, fenoolid ja kvaternaarseid ammooniumiühendeid sisaldavad tooted. Need ühendid ei ole aga spore moodustavate patogeenide suhtes piisavalt efektiivsed ning seetõttu on kasutusel ka näiteks klooribaasil (nt hüpoklorit) desinfitseerijad (Weber et al., 2013). Sõltuvalt aktiivainest on desinfitseerijatel erinevad eelised ja puudujäägid (Tabel 1.1).

Tabel 1.1 Näiteid desinfitseerijates kasutatavate aktiivainete eelistest ja puudustest (Rutala & Weber, 2019)

Desinfitseerija klassifikatsioon	Eelised	Puudused
Alkoholid (etanol, isopropanool)	-Bakteritsiidne, tuberkulotsiidne, fungitsiidne, virutsiidne -Kiire mõju -Kasutatakse nii tarvikute kui ka pindade puhul -Mürgiseid jääke pole	-Pole sporitsiidne -Mõjutatud orgaanilisest ainest -Võimalik seadmete kahjustamine -Tuleohtlik -Aurustub kiiresti

Tabel 1.1 järg

Desinfitseerija klassifikatsioon	Eelised	Puudused
Kvaternaarsed ammooniumiühendid (alküüldimetüül, bensalkooniumkloriid, ammooniumkloriid)	-Bakteritsiidne, fungitsiidne, virutsiidne -Head puhastusomadused -Odav -Hoiustamisel stabiilne	-Pole sporitsiidne -Kõrge vee karedus mõjutab mikrobitsiidsust -Mõjutatud orgaanilisest ainest -Limaskestasid, hingamisteid ärritav
Halogeenid (kloor) (naatriumhüpoklorit, kaltsiumhüpoklorit, kloordioksiid)	-Bakteritsiidne, tuberkulotsiidne, fungitsiidne, virutsiidne -Sporitsiidne (suurtes kontsentratsioonides) -Mürgiseid jääke pole -Kiire toime -Suhteliselt stabiilne	-Metalle söövitav -Orgaaniline aine mõjutab mikrobitsiidset toimet -Võimalik trihalometaani tekkimine -Võib põhjustada naha ja silmade ärritust -Lõhn
Halogeenid (jood/jodofoorid)	-Bakteritsiidne, tuberkulotsiidne, fungitsiidne, virutsiidne -Mittesüttiv -Hoiustamisel stabiilne	-Seente hävitamiseks on vaja pikaajalist kontakti -Pole sporitsiidne -Kahjustab silikoonkateetreid -Pigem antiseptikum kui pinnadesinfektant
Peroksüühendid (vesinikperoksiid (aktiveeritud))	-Bakteritsiidne, tuberkulotsiidne, fungitsiidne, virutsiidne -Kiire toime -Töötajatele ohutu -Keskkonnasõbralik -Mittesüttiv	-Kallim kui enamik teisi desinfitseerivaid aineid -Madalatel kontsentratsioonidel pole sporitsiidne -Materjalisobimatus (nt vask, messing, tsink)
Peroksüühendid (peräädikhape, vesinikperoksiid)	-Bakteritsiidne, fungitsiidne, virutsiidne, sporitsiidne -Aktiivne orgaanilise materjali juuresolekul -Keskkonnasõbralikud kõrvalsaadused	-Stabiilsuse puudumine -Materjalisobimatus -Kallim kui enamik teisi desinfitseerivaid aineid -Limaskestasid, hingamisteid ärritav
Fenoolid (orto-fenüülfenool, orto-bensüülpara-klorofenool)	-Bakteritsiidne, tuberkulotsiidne, fungitsiidne, virutsiidne -Odav -Mittesüttiv -Hoiustamisel stabiilne	-Imendub poorsetesse materjalidesse ja ärritab kudesid -Teatud fenoolid põhjustavad naha depigmentatsiooni -Pole sporitsiidne

Biotsiide on võimalik lisaks aktiivaine klassi põhjal jagamisele klassifitseerida rühmadesse ka peamiste toimetemehhanismide alusel: oksüdeerivad ained, energia ülekandeained (*transfer-of-energy agents*), ristsiduvad ained ning ained, mis

seonduvad spetsiifiliselt makromolekulide struktuuridega ja rikuvad nende struktuure (McDonnell, 2007).

Oksüdeeriva toimega biotsiide kasutatakse laialdaselt, nende hulka kuuluvad halogeenid (kloor, broom ja jood), peräädikhape, vesinikperoksiid. Oksüdeerivatel ainetel on tugev mõju DNA ja RNA struktuuridele. Spetsiifiline toime polünukleotiididele võib mitte ainult põhjustada mutatsioone, vaid häirida ka rakuprotsesse nagu paljunemine, transkriptsioon ja translatsioon, mis on vajalikud mikroobide ellujäämiseks.

Energiaülekandepõhiste toimeviisidega biotsiidsed protsessid on soojus ja kiirgus. Makromolekulide bioloogilised funktsioonid sõltuvad nende struktuuridest. Struktuurid on aga tundlikud erinevate keemiliste ja füüsikaliste mõjurite suhtes, mis põhjustavad häireid ja seetõttu nende spetsiifiliste funktsioonide kadu. Energia ülekandmisel soojuste või kiirguse kujul on dramaatiline mõju makromolekulaarsetele struktuuridele.

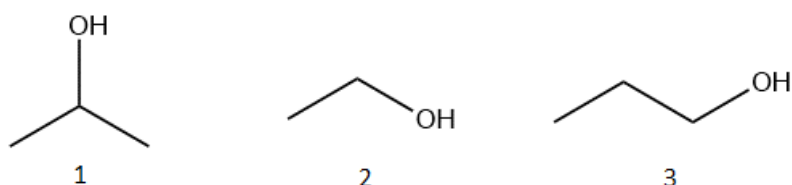
Ristsidumis- või koagulatsioonipõhiste toimeviisidega biotsiidid on näiteks aldehüüdid, fenoolid ja alkoholid. Need ained põhjustavad makromolekulide, eriti valkude ja nukleiinhapete vahel spetsiifilisi koostoimeid, mis viivad struktuuride nõrgestamiseni ja funktsiooni kaoni.

Makromolekulide struktuure ja funktsioone hävitades toimivad biotsiidid on näiteks orgaanilised happed, metallid, biguaniidid (McDonnell, 2007).

1.3.1 Orgaanilised desinfitseerijad

Alkoholid

Alkoholid on ühendid, mille hüdroksüülrühm (-OH) on seotud küllastunud süsinikuaatomiga. Erinevaid alkohole kasutatakse paljudel keemilistel ja tööstuslikel eesmärkidel. Antiseptikumide ja desinfektsioonivahenditena on kõige enam levinud isopropanool, etanool ja n-propanool (Joonis 1.1).



Joonis 1.1 Isopropanooli (1), etanooli (2) ja n-propanooli (3) struktuurvalemid

Alkoholid on kiire toimega ja laia toimespektriga antimikroobsed ained, mis ei jäta pärast kasutamist jääke ega tekita keskkonnaprobleeme. Neil on kiire bakteritsiidne ja

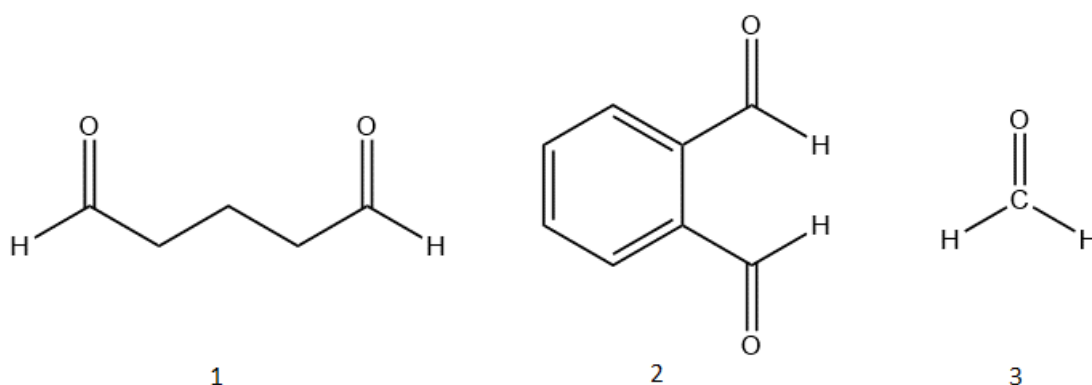
mükobakteritsiidne toime, efektiivsus seente ja viiruste vastu on aga aeglasem. Sportsiidne toime on alkoholidel minimaalne. Alkoholid on suhteliselt stabiilsed, vähese lõhnaga, odavad, mittetoksilised ja ühilduvad hästi pindadega. Suurte kontsentratsioonide korral tuleks alkoholide kasutamisel kontrollida tuleohutust. Korduv kasutamine nahal ja teatud elututel pindadel võib aja jooksul põhjustada kuivamist ja pragunemist (McDonnell, 2007).

Alkoholide antimikroobne toime tuleneb nende võimest valke denatureerida (Larson & Morton, 1991). Alkoholid omavad toksilisi mõjusid mikroorganismide struktuurile ja ainevahetusele. Reaktiivne hüdroksüülrühm moodustab valkudega kergesti vesiniksidemeid, mis viib struktuuri ja funktsiooni kadumiseni, põhjustades valkude ja teiste makromolekulide sadestumist (McDonnell, 2007).

Antiseptikumides ja desinfitseerijates kasutatavad alkoholid on lühikese ahelaga ja nii vesi- kui ka rasvlahustuvad (McDonnell, 2007). Ideaalse alkoholilahuse kontsentratsioon jääb vahemikku 60-80 mahu%. Puhta alkoholi suurem kontsentratsioon vähendab toote antimikroobset toimet, kuna valkude denaturatsioon vee puudumisel halveneb (WHO, 2009).

Aldehüüdid

Desinfitseerivate ja/või steriliseerivate ainetena kasutatakse laialdaselt kolme aldehüüdi: glutaaraldehüüd, *orto*-ftaalaldehüüd ja formaldehüüd (Joonis 1.2). Vedelaid glutaaraldehüüdi ja *orto*-ftaalaldehüüdi preparaate kasutatakse laialdaselt temperatuuritundlike meditsiiniseadmete desinfitseerimisel.



Joonis 1.2 Glutaaraldehüüdi (1), *orto*-ftaalaldehüüdi (2) ja formaldehüüdi (3) struktuurivaleimid

Aldehüüdid ei ole metalli, plasti ega kummi söövitavad ning neil on lai toimespekter mikroorganismide ja viiruste vastu. Aldehüüdid toimivad valkude ja nukleiinhapete keemiliste rühmade alküülimise teel. Desinfitseerimise või steriliseerimise

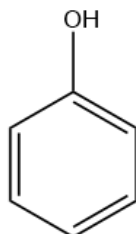
ebaõnnestumised võivad tekkida efektiivsest kontsentratsioonist madalama lahjenduse kasutamisel ja orgaanilise materjali juuresolekul (Katzung et al., 2012).

Orto-ftaalaldehüüd on keemiline sterilant, mille toimespekter on võrreldav glutaaraldehüüdiga, ehkki selle bakteritsiidne toime on mitu korda kiirem. Erinevalt glutaaraldehüüdist ei vaja *orto*-ftaalaldehüüd aktiveerimist, on vähem limaskestas ärritav ega vaja protsessi jälgimist. Sellel on hea ühilduvus erinevate materjalidega ja on keskkonnale üsna ohutu. *Orto*-ftaalaldehüüd on kasulik endoskoopide, kirurgiliste instrumentide ja muude meditsiiniseadmete desinfitseerimiseks või steriliseerimiseks (Katzung et al., 2012).

Fenoolid

Fenoolühendid on efektiivsed paljude mikroorganismide, sealhulgas seente ja viiruste suhtes, spooride vastu toimivad nad aga aeglaselt (DeBono & Laitung, 1997).

Fenooli ennast (üks vanimaid kirurgilistest antiseptikumidest) ei kasutata enam desinfektsioonivahendina, kuna on söövitav, toksiline ja kantserogeenne (Joonis 1.3). Neid ebasoodsaid omadusi on võimalik vähendada moodustades derivaate, milles funktsionaalrühm asendab aromaatses tuumas vesiniku aatomit. Kõige sagedamini kasutatavad fenoolühendid on *o*-fenüülfenool, *o*-bensüül-*p*-klorofenool ja *p*-tertsiaarne amüülfenool (Katzung et al., 2012).



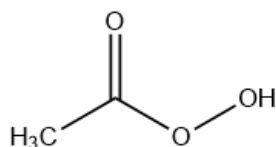
Joonis 1.3 Fenooli struktuurvalem

Antiseptikumides või desinfektsioonivahendites kasutatakse alküül- või halogeenasendatud fenoolseid ühendeid. Nende toimemehhanism põhineb valkude denatureerimisel ja koaguleerimisel ning nad käituvad kui protoplasmaatilised mürgid (Wickstrom, 2015). Fenoolsed ühendid nõrgestavad rakuseinu ja membraane, sadestavad valke ja inaktiveerivad ensüüme. Nad on bakteritsiidsed (ka mükobakterite vastu) ja fungitsiidsed ning on võimelised inaktiveerima lipofiilseid viirusi, kuid ei ole sporitsiidsed (Katzung et al., 2012). Suurtel kontsentratsioonidel toimib fenool protoplasma mürgina, tungides läbi rakuseina ja lõhkudes ning sadestades rakuvalke.

Peroksühapped

Peroksiidiühenditel, vesinikperoksiidil ja peräädikhappel, on sobivas kontsentratsioonis kasutamisel kõrge aktiivsus ja lai spekter bakterite, eoste, viiruste ja seente vastu. Nende eeliseks on see, et tekkivad laguproduktid pole mürgised ega kahjusta keskkonda (Katzung et al., 2012).

Peräädikhape on tugev, laia toimespektriga ja kõrge redokspotentsiaaliga desinfitseerija (Joonis 1.4). Redokspotentsiaal hindab desinfitseerimisvahendi mikroobide hävitamise tõhusust või bakterite jääktihedust desinfitseeritud vees (Zhang et al., 2018).



Joonis 1.4 Peräädikhappe struktuurvalem

Peräädikhappe eeliseks on kahjulike laguproduktide puudumine, mistõttu orgaanilise materjali eemaldamisel ei teki ebasoovitavaid jääke. Selle efektiivsus säilib orgaaniliste ainete juuresolekul ja on spordisidne ka madalatel temperatuuridel. Peräädikhapet peetakse aga ebastabiilseks, eriti lahjendatuna. Peräädikhape denatureerib valke, häirib rakuseina läbilaskvust ja oksüdeerib valkudes, ensüümides ja muudes metaboliitides olevad sulfhüdrüül- ja väävlisidemeid (Block, 2001).

1.3.2 Anorgaanilised desinfitseerijad

Halogeenid

Jood on väga aktiivne bakteritsiid, kuid joodiühendid ei ole ülitundlikkusreaktsioonide tõttu väga levinud. Joodilahuseid on tervishoius pikka aega kasutatud peamiselt naha või koe antiseptikas. Joodofoore on seevastu kasutatud nii antiseptikumide kui ka desinfektsioonivahenditena, viimaste puhul on joodisisaldus suurem. Jodofoorid on joodi ühendid teiste ainetega, kus toimub püsivalt väikestes kogustes joodi vabanemine (Gottardi, 2001). Jodofoorid säilitavad joodi aktiivsuse, nad hävitavad vegetatiivseid baktereid, mükobaktereid, seeni ja viirusi. Pikaajalisel kokkupuutel võivad need olla ka spordisidised. Jodofoorid on võrreldes puhaste joodilahustega vähem ärritust ja naha ülitundlikkust tekitavad (Katzung et al., 2012). Tuntum ja enim kasutatav jodofoor on polüvinüülpürrolidooni ja joodi ühend povidoon-jood. See ja ka teised jodofoorid säilitavad joodi bakteritsiidse efektiivsuse, kuid erinevalt joodist ei jäta üldiselt plekke ning on vähem toksilised (Gottardi, 2001). Jood suudab kiiresti tungida

mikroorganismide rakuseina ning arvatakse, et surmavad mõjud tulenevad valkude ja nukleiinhapete struktuuri ning sünteesi häiretest.

Kloor on tugev oksüdeerija ja universaalne desinfektsioonivahend (Katzung et al., 2012). Hüpokloritid, kloori sisaldavatest desinfektsioonivahenditest kõige enam kasutatavad, on saadaval vedelas (nt naatriumhüpoklorit) või tahkes (nt kaltsiumhüpoklorit) vormis. Enim levinud on 5,25 % naatriumhüpokloriti lahus, mis on tüüpiline majapidamises kasutatav valgendaja (Merritt et al., 2000). Kuna veri, seerumid, väljaheited ja valke sisaldavad materjalid inaktiveerivad kloori, tuleks enne klooril põhineva desinfitseerimisvahendi kasutamist pinnad puhastada. Alternatiivsed kloori vabastavad ühendid on näiteks kloordioksiid ja klooramiin T. Need ained hoiavad kloori kauem kinni ja neil on pikaajaline bakteritsiidne toime (Katzung et al., 2012). Klooramiinid on kasutusel joogivee desinfitseerimiseks, peamiselt just monoklooramiid. Klooramiinid on vähem efektiivsed viiruste ja algloomade vastu kui vaba kloor, kuid toodavad desinfitseerimisel vähem soovimatuid kõrvalprodukte (Askenaizer, 2003).

Osoon

Osooni (O₃) on võimalik kasutada steriliseerimise protsessis madalatel temperatuuridel. Seda on laialdaselt rakendatud joogivee desinfitseerimisel ja piirkondade desodoreerimiseks. Osooni kasutamisel on mõned peamised eelised: seda saab tekitada veest, see on laia antimikroobse toimespektriga ja laguneb keskkonnas kiiresti mittetoksilisteks jääkideks. Kuigi osoon on madalatel kontsentratsioonidel efektiivne vegetatiivsete bakterite ja muude patogeenide vastu, on sporitsiidse aktiivsuse jaoks ja valideeritud steriliseerimisprotsesside väljatöötamiseks vaja siiski märgatavalt suuremaid kontsentratsioone (McDonnell, 2007).

Metallid

Desinfektsioonivahenditena kasutatakse näiteks anorgaanilisi metalle, nagu vask, hõbe ja kuld. Eelkõige on oma antimikroobsete omaduste poolest tuntud just hõbeioonid. Hõbeda valik on tingitud selle mitmekülgsest funktsioonist meditsiinivaldkonnas (Deshmukh et al., 2018).

Hõbe on pika ajalooga meditsiinis ja rahvatervises kasutatav metall. Suurtes kontsentratsioonides võib hõbe olla laia toimespektriga antimikroobne aine, väljakutseks on olnud aga selle kontsentratsiooni säilitamine materjalidel või bioloogilistel pindadel. Hõbedast tingitud toksilisus on madal, see on halvasti lahustuv ning seetõttu on ka hõbeda läbi naha imendumine vähene. Efektiivsuse saavutamiseks

tuleb hõbedat kasutada ioniseeritud (oksüdeeritud) kujul, mitte selle puhtal metallilisel kujul.

Hõbe mõjutab bakteri tsütoplasmat ja membraani seondudes membraanil paiknevate ensüümide elektrondonoritega, mis osalevad raku replikatsioonis ja energia ülekandes. Nende ensüümidega seondudes põhjustab hõbe ensüümide inaktivatsiooni, membraani lagunemist ja kaaliumioonide vabanemist bakterirakust, mis põhjustab rakusurma (McDonnell & Russell, 1999).

1.4 Vesinikperoksiidi roll desinfitseerimisprotsessis

Huvi keskkonnasõbralike, mittetoksiliste ning lagunevate, kuid samas stabiilsete ja efektiivsete biotsiidide vastu pole kunagi olnud nii suur. Oksüdeerivaid aineid, eriti vesinikperoksiidi, kasutatakse üha enam paljudes meditsiini-, toidu- ja tööstuslikes rakendustes, aga ka keskkonnakaitses, näiteks veetöötluses. Tervishoiusüsteemis on oksüdeerivad ained eriti kasulikud kõvade pindade ja meditsiiniseadmete kõrge taseme desinfitseerimiseks. Nende peamisteks eelisteks on lai toimespekter, keskkonnamürgisuse puudumine ning ebameeldiva lõhna ja söövitava toime kadumine pärast nende täielikku lagunemist (Linley et al., 2012).

Vesinikperoksiid (H_2O_2) on laialdaselt levinud biotsiid, mida kasutatakse desinfitseerimiseks ja steriliseerimiseks. Tegemist on selge, värvitu vedelikuga, mis on kaubanduslikult saadaval erinevates kontsentratsioonides (McDonnell & Russell, 2001). Vesinikperoksiidi lahuseid või preparaate ja gaasipõhiseid protsesse kasutatakse laialdaselt antiseptikas, desinfitseerimisel ja fumigeerimisel (McDonnell, 2007). Vesinikperoksiidi peetakse enamikest desinfitseerijatest keskkonnasõbralikumaks, kuna selle laguproduktid vesi ja hapnik on kahjutud. Puhtad lahused on üldiselt stabiilsed, kuid enamik neist sisaldavad siiski soovimatult kiire lagunemise vältimiseks stabilisaatoreid (McDonnell & Russell, 2001).

Vesinikperoksiid on laia toimespektriga võimas oksüdeerija, olles efektiivne nii viiruste, bakterite, pärmide kui ka eoste vastu. (McDonnell, 2007). Võrreldes gramnegatiivsete bakteritega on vesinikperoksiidil grampositiivsete bakterite suhtes suurem aktiivsus (McDonnell & Russell, 2001). Vesinikperoksiidi bakteritsiidne ja fungitsiidne toime esineb juba lahuse madalatel kontsentratsioonidel, sporitsiidse toime jaoks on vaja aga märgatavalt suuremaid kontsentratsioone (tavaliselt vahemikus 25–60 %). Seevastu gaasiline vesinikperoksiid on sporitsiidne palju madalamatel kontsentratsioonidel (>0,1 mg/l) ja seda peetakse pindasid oluliselt vähem kahjustavaks. Tugevat sporitsiidet mõju

avaldata vesinikperoksiidi kombinatsioon teiste oksüdeerivate ainetega (nt peräädikhape). Sportsiidne efektiivsus sõltub vesinikperoksiidi kontsentratsioonist (McDonnell, 2007).

Vesinikperoksiid toimib oksüdeerijana, tekitades vabu hüdroksüülradikaale, mis ründavad rakkude olulisi komponente, sealhulgas lipiide, valke ja DNA-d (McDonnell & Russell, 2001). Vesinikperoksiidi kasutatakse laialdaselt biotsiidina, eriti rakendustes, kus on oluline selle lagunemine mittetoksilisteks kõrvalproduktideks. Arvatakse, et Fentoni reaktsioon, mis viib vabade hüdroksüülradikaalide tootmiseni, on vesinikperoksiidi toime alus ning et see viib DNA, valkude ja membraanilipiidide oksüdeerumiseni. Valkude oksüdatsiooni uuringud on näidanud, et võib esineda teatud valkude selektiivne oksüdeerumine ja et aurfaasiline vesinikperoksiid on valkude jaoks tugevam oksüdeerija kui vedelfaasiline vesinikperoksiid (Linley et al., 2012).

1.4.1 Aktiveeritud vesinikperoksiid

Tavaline apteegist ostetav vesinikperoksiidi lahus koosneb 3 % vesinikperoksiidist ja 97 % veest. See on väga ebastabiilne ning seetõttu on seda ka lihtne inaktiveerida, mis muudab selle desinfektsioonivahendina kasutamiseks kõvadel mittepoorsetel pindadel ebasobivaks. Selleks, et vesinikperoksiidi stabiliseerida, lisatakse lahusele erinevaid lisaaineid, nagu näiteks happeid või kelaate. Kelaadid võivad võimendada toote mikrobioloogilist efektiivsust, mis läbi vesinikperoksiid püsib aktiivsena kogu desinfitseerimiseks kuluva aja vältel. Uudse lähenemisena on Virox Technologies Inc. välja arendanud tehnoloogia ning turule tulnud toodetega, kus on kombineeritud madalas kontsentratsioonis vesinikperoksiidi aktiveerimine kõrge mikrobioloogilise efektiivsuse saavutamiseks ning ühtlasi vesinikperoksiidi stabiliseerimine mikrobioloogilise efektiivsuse säilimiseks toote säilivusaja (2 aastat) jooksul. Seda nimetatakse kiirendatud vesinikperoksiidi (AHP®) tehnoloogiaks, mis oma olemuselt on vesinikperoksiidi aktiveerimise tehnoloogia.

Aktiveeritud vesinikperoksiidi preparaadid on 0,5–2 % vesinikperoksiidi sünergilised segud anioonsete ja mitteioonsete pindaktiivsete ainete, aktivaatorite ja stabilisaatoritega, millel on laia toimespektriga antimikroobne toime. Need on lühikese kokkupuuteajaga efektiivsed bakterite, eoste, mükobakterite, viiruste ja seente vastu. Aktiveeritud vesinikperoksiidi tooted ei ärrita silmi ega nahka ning on biolagunevad, lagunedes veeks ja hapnikuks aktiivsete keemiliste jääkideta. Nad on üha levinumad desinfektsioonivahendid haiglates ja hambakliinikutes. Puuduseks on pehmete metallide, näiteks messingist, vasest ja alumiiniumist ning süsinikotsikutega instrumentide võimalik kahjustamine (Wickstrom, 2015).

1.4.2 Kommertstooted

Aktiveeritud vesinikperoksiidil põhinevad kommertstooted sisaldavad enamasti erinevaid lisaaineid nagu näiteks pindaktiivsed ja kelaativad ained. AHP® on patenteeritud, sünergistlik segu laialdaselt kasutatavatest, ohututest koostisosadest, mis koos madala vesinikperoksiidi sisaldusega suurendavad märgatavalt selle bakteritsiidset toimet ja puhastusvõimet. Kõiki kemikaale, mida kasutatakse AHP® koostises, leidub tavaliselt kaubanduslikes ja tööstuslikes puhastusvahendites ja desinfektsioonivahendites. AHP® eesmärk on, et see oleks efektiivne patogeenide suhtes lühikese kokkupuuteaja jooksul, kuid samas leebe sellega kokku puutuvate inimeste ja pindade suhtes.

Aktiveeritud vesinikperoksiidi sisaldavaid desinfitseerimisvahendeid ning ka erinevate patenteeritud tehnoloogiatega tootjaid on mitmeid (Lisa 1). Suuremad neist on näiteks Virox, Diversey, Steris (Tabel 1.2).

Tabel 1.2 Mõningad kommertstooted

Toode	Koostisaine	CAS nr	Sisaldus, massi%
Virox® 5 (Canada) Concentrated Surface Cleaner & Disinfectant General Virucide (Diversey)	Vesinikperoksiid	7722-84-1	5-10
	Hüdroksüetülideen-difosfoonhape	2809-21-4	3-5
	Dodetsüülbenseensulfoonhape	68584-22-5	1-3
	Fosforhape	7664-38-2	1-3
	Arüülsulfoonitud naatriumsoolad	147732-60-3	1-3
Accel® PREvention™/MC Concentrate Concentrated One-Step Surface Cleaner & Disinfectant (Diversey)	Dodetsüülbenseensulfoonhape	68584-22-5	5-10
	Propüleenglükool n-propüüleeter	1569-01-3	5-10
	Vesinikperoksiid	7722-84-1	5-10
	2-hüdroksübensoehape	69-72-7	1-5
	Hüdroksüetülideen-difosfoonhape	2809-21-4	0,1-1
Oxivir Five 16 Concentrate (US) One Step Disinfectant Cleaner (Diversey)	Propüleenglükool n-propüüleeter	1569-01-3	5-10
	Dodetsüülbenseensulfoonhape	68584-22-5	3-7
	Alkoholid, C6-12, etoksüleeritud	68439-45-2	3-7
	Vesinikperoksiid	7722-84-1	1-5
	Fosforhape	7664-38-2	1-5

Tabel 1.2 järg

Toode	Koostisaine	CAS nr	Sisaldus, massi%
Accel Rescue™ Sporocidal Solution RTU Sporocidal Disinfectant Cleaner (Diversey)	Vesinikperoksiid	7722-84-1	1-5
	Bensüülalkohol	100-51-6	1-5
	Hüdroksüädikhape	79-14-1	0,5-1,5
	Hüdroksüetülideen-difosfoonhape	2809-21-4	0,1-1
	Dodetsüülbenseensulfoonhape	68584-22-5	0,1-1
Revital-Ox® Resert™ High Level Disinfectant (Steris)	2-furankarboksüülhape	88-14-2	2-3
	Vesinikperoksiid	7722-84-1	1-3

Toodetakse nii kontsentrante kui ka valmissegusid. Üks näide vesinikperoksiidi eelseguna turustamisest on Sporox, mis sisaldab 7,5 % vesinikperoksiidi ja 0,85 % fosforhapet.

0,5 %-line vesinikperoksiidi lahus Hydrox ühendab meditsiiniseadmetelt mikroobide hävitamise ja puhastustõhususe, mis on paljude pesuvahendite omast parem.

Aktiveeritud vesinikperoksiidi tootena on Accel HLD5 2 % vesinikperoksiidi, anioonsete pindaktiivsete ainete, mitteioonsete pindaktiivsete ainete ja stabilisaatorite segu, mis on lõhnatu ja mille pH on 2,5 kuni 3,0. Uuringutes on see osutunud laia toimespektriga ja kiiresti toimivaks mikrobtsiidiks, mis on efektiivne, kuid samas ohutu lõppkasutajatele ja keskkonnale (Freeman & Auer, 2012).

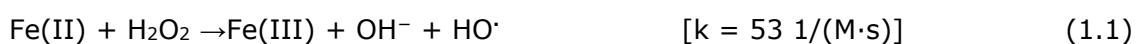
1.5 Vesinikperoksiidi aktiveerimine

Raud ja vesinikperoksiid on võimelised oksüdeerima paljusid substraate ja seeläbi põhjustama mikroorganismides ja viirustes bioloogilisi kahjustusi, mutageneese ning neid hävitama. Reaktsioon, mida nimetatakse Fentoni protsessiks, on keeruline, kuid samas kompleksne ning võimeline tekitama nii aktiivseid hüdroksüülradikaale kui ka raua kõrgemaid oksüdatsioonastmeid (Winterbourn, 1995).

Fentoni reagent ja teised sarnased Fenton-tüüpi protsessid hõlmavad peroksiidide (tavaliselt vesinikperoksiidi) reaktsioone raudioonidega, moodustades aktiivseid radikaale, mis oksüdeerivad orgaanilisi või anorgaanilisi ühendeid (Pignatello et al., 2006). Fentoni keemia ajalugu ulatub aastasse 1894, mil Henry J. Fenton avastas, et

rauasoolad soodustavad tugevalt õunhappe oksüdeerumist vesinikperoksiidi abil (Fenton, 1894). Fentoni protsessis moodustuv hüdroksüülradikaal (HO[•]) on tuntud võimsa oksüdeerijana ($E^0 = 2,73 \text{ V}$) (Latimer, 1952).

Fentoni protsessi mehhanismi kõige levinum kirjeldus põhineb kõrge reaktsioonivõimega hüdroksüülradikaali moodustumisel vesinikperoksiidi ja kahevalentse raua reaktsiooni tulemusena. Mehhanism vesinikperoksiidi lagundamiseks happelises lahuses orgaanilise ühendi puudumisel koosneb reaktsioonide järjestusest 1–7 (Barb et al., 1949).



Vesinikperoksiidi liias saab tekkinud raud(III)ioone redutseerida H₂O₂ abil, et regenereerida jällegi raud(II)ioone. Seetõttu saab vesinikperoksiidi aktiveerimise algatada nii raud(II)- kui ka raud(III)ioonide abil ning tsükkel Fe(II)- ja Fe(III)ioonide vahel katalüüsib pidevalt H₂O₂ muundumist hüdroksüülradikaalideks (Pham, 2012).

Maksimaalse saasteainete vähendamise saavutamiseks Fentoni reaktsiooni käigus on vaja vastavaid tingimusi. Olulised on temperatuur, pH, aga ka vesinikperoksiidi ja raud(II)ioonide kontsentratsioon. Fentoni reaktsiooni peab läbi viima happelistes tingimustes (pH=2–4), et vältida raua sadestumist hüdroksiidina. Reaktsioonil on maksimaalne katalüütiline aktiivsus pH vahemikus 2,8–3,0, mille järel selle efektiivsus väheneb raua raud(III)hüdroksiidina sadestumise ja vesinikperoksiidi lagunemise tõttu hapnikuks ja veeks (Pignatello et al., 2006).

1.5.1 Siirdemetallid

Oksüdeerimine vesinikperoksiidiga toimub vabade hüdroksüülradikaalide tekitamise teel, kõige enam kasutatavaks vesinikperoksiidi aktivaatoriks on raud. Kui raud(II)iooniga aktiveeritud vesinikperoksiid on tuntud kui klassikaline Fentoni reaktiiv,

siis igasugune kõrvalekalle klassikalisest segust on tuntud kui modifitseeritud Fentoni süsteem.

Hõbe- ja raudioonid parandavad hüdroksüülradikaale moodustades vesinikperoksiidi oksüdeerivat toimet (Tofant et al., 2006). Hõbeioonide bakteritsiidne toime mikroorganismidele on hästi teada, kuid selle mehhanismi mõistetakse vaid osaliselt. On leitud, et hõbeioonid töötavad interakteerudes tugevalt elutähtsate ensüümide tiolrühmadega ja inaktiveerides neid (Navi et al., 2014).

1.5.2 Orgaanilised happed

Piimhape toimib loodusliku antimikroobse aienana, mis on üldiselt ohutu ning mittetoksiline (Alakomi et al., 2000). Piimhappe antibakteriaalne toime on suures osas, kuid mitte täielikult seotud selle võimega dissotsieerumata kujul tungida läbi tsütoplasma membraani, vähendades seeläbi rakusisest pH-d ja häirides transmembraanse prootoni liikumapanevat jõudu (Ray & Sandine, 1992). Piimhappe väikese vees lahustuva molekulina pääseb välismembraani veega täidetud poriinvalkude kaudu lihtsasti ligi periplasmale (Alakomi et al., 2000).

Desinfektsioonivahendit, mis koosneb vesinikperoksiidist koos piimhappe ja EDTA-ga nimetatakse nende ainete ingliskeelsete nimetuste esitähete järgi „HLE“-ks. Uuringute järgi on tootel efektiivne antimikroobne toime juba madalatel kontsentratsioonidel (0,15-0,4 % (v/v) HLE). HLE toime põhineb EDTA ja mõlema antimikroobse aine (piimhappe ja vesinikperoksiid) sünergial (Abriouel et al., 2018).

Askorbiinhape on võimeline tootma vesinikperoksiidist vase või raua katalüsaatorite juuresolekul hüdroksüülradikaale. Lisaks sellele on avastatud askorbiinhappe võime moodustada hüdroksüülradikaale sõltumata siirdemetallide reaktsioonis osalemisest, mida on näidatud reaktsioonis 1.8 (Nappi & Vass, 2000).



kus AH^- - askorbaat monoanioon, $\text{A}^{\cdot -}$ - askorbüülradikaal

1.6 Lisaained ja nende rollid toodetes

1.6.1 Stabilisaatorid

Vesinikperoksiidi molekuli muudab ebastabiilseks seal sisalduv lisa vesinikuaatom. Vesinikperoksiid laguneb lihtsasti veeks ja hapnikuks ning seda protsessi kiirendavad veelgi erinevad katalüsaatorid, nagu näiteks metallpinnad, -oksiidid ja mõned lahustuvad soolad, näiteks raua ja vase soolad. Vesinikperoksiidi lagunemine toimub ka orgaanilise materjali juuresolekul. Lagunemisprotsessi mõjutab ka pH ja stabilisaatorite olemasolu või puudumine.

Kuna vesinikperoksiid on lühikese säilivusajaga ning kaldub tavatingimustes lagunema kiiresti veeks ja hapnikuks, on selle stabiliseerimata kujul kasutamine paljude desinfitseerivate ja antiseptiliste rakenduste jaoks piiratud. Vesinikperoksiidi kasuliku eluea pikendamiseks on kasutusel inhibeerivad ained, mis stabiliseerivad lahust ning pärsivad vesinikperoksiidi lagunemist. Sellisteks aineteks on näiteks hippurhape, atsetaniliid ja fosforhape (Kelly et al., 1991). Puhta vesinikperoksiidi lahuste efektiivsusega seotud probleemide tõttu sisaldavad paljud vesinikperoksiidil põhinevad desinfitseerimisvahendid erinevaid stabilisaatoreid, nagu näiteks hõbeioone, et saavutada stabiilsemaid ja efektiivsemaid tooteid (Toté et al., 2009). Kuna aga metallid võivad mõjuda ka kui katalüsaatorid, on väga oluline nende kogus lahuses.

Kasutusel on ka erinevaid ainete segusid, mis koos mõjuvad kui stabiliseerijad. Üheks selliseks on näiteks kontsentraat, mis sisaldab fosfor-, sidrun- ja viinhapet kindlates vahekordades, nii et lahusel on omadus stabiliseerida vesinikperoksiidi püsivalt kõrge aktiivsusega desinfektsioonivahendi saamiseks ka madalatel kontsentratsioonidel (Kelly et al., 1991).

1.6.2 Kompleksimoodustajad

Mikroorganismide ellujäämiseks ja rakkude kasvu jaoks on oluline määratletud rauakogus (Cairo et al., 2006). Rauda kelaativad ained ehk kompleksimoodustajad mõjutavad mikroobide raua omastamist ning seeläbi pärsivad nende kasvu (Kontoghiorghes et al., 2010).

Metalle kelaativad ained on võimelised valikuliselt häirima mikroorganismidele olulist metallide ainevahetust, metallide omandamist ja biosaadavust oluliste reaktsioonide jaoks. Kelaativad ained pärsivad metallist sõltuvate valkude (nt metalloproteaasid ja transkriptsioonifaktorid) bioloogilist rolli, häirides mikroobirakkude homöostaasi ja

kulmineerudes mikroobide toitumise, kasvu ja arengu blokeerimisega, rakkude diferentseerumisega. Kelaativad ained võimendavad ka teiste antimikroobsete ühendite aktiivsust (Santos et al., 2012).

EDTA

EDTA ehk etüleendiamiintetraädikhape on kelaativ aine, millel üksi toimides puuduvad antimikroobsed omadused. Teiste antimikroobsete ainete juuresolekul peetakse seda aga nende aktiivsuse ja efektiivsuse võimendajaks (Brown & Richards, 1965). Üks EDTA toimeviisidest on gramnegatiivsete bakterite välismembraani lipopolüsahhariidstruktuuri nõrgestamine. Selle tagajärjel muutub membraan teistele ainetele paremini läbitavaks ning sellest tuleneb ka EDTA desinfitseerimisprotsessi võimendav toime (Lambert et al., 2003).

1.6.3 Pindaktiivsed ained

Tervishoiuasutustes kasutatavad desinfektsioonivahendid on enamasti üheastmelised tooted, mis tähendab, et nad puhastavad ja desinfitseerivad samaaegselt, mitte ei nõua kahte iseseisvat etappi. Puhastamise käigus eemaldatakse pinnajäätmel, tolm, orgaanilised materjalid ning desinfitseerimise protsessis kasutatakse spetsiaalseid vahendeid või germitsiide eesmärgiga hävitada ebasoovitavad mikroorganismid. Sageli parandavad vahendi puhastusvõimet pindaktiivsed ained. Pindaktiivsed ained suurendavad desinfektsioonivahendi puhastamise efektiivsust ja tagavad pinna täieliku ning ühtlase katmise, et saavutada maksimaalne desinfitseerimine (Rutala & Weber, 2019).

Pindaktiivsed ained ja pesuvahendid, mis eemaldavad pindadelt mustuse, on koos teiste antimikroobsete ainetega töötades desinfitseerimise ja steriliseerimise tähtis osa (Falk, 2019). Pindaktiivsed ained aitavad pinnajääkide ja biokile eemaldamisel, nad toetavad desinfitseerimisprotsessi hävitades bakterirakkude membraani. Mõned pindaktiivsed ained võivad suurendada levinud aktiivainete efektiivsust või iseseisvalt omada antimikroobseid omadusi, olles biotsiidsed toimeained (katioonsed pindaktiivsed ained). Pindaktiivseid aineid on kasutatud ka stabiliseeritud vesinikperoksiidi lahuste füüsikaliste omaduste kontrollimiseks (Kelly et al., 1991).

2. MATERJALID JA MEETODID

2.1 Kasutatud reagentid

Käesolevas töös kasutatud kemikaalid, nende tootja ning puhtusaste on järgmised: 2-tiobarbituurhape ($C_4H_4N_2O_2S$, Sigma-Aldrich, $\geq 98\%$), trikloroäädikhape ($C_2HCl_3O_2$, Merck KGaA, $\geq 98\%$), 2-deoksü-D-riboos ($C_5H_{10}O_4$, Alfa Aesar, 99%), vesinikperoksiid (H_2O_2 , Honeywell, $\geq 30\%$), naatriumhüdroksiid (NaOH, Sigma-Aldrich, $\geq 98\%$), raud(II)sulfaat heptahüdraat ($FeSO_4 \cdot 7H_2O$, Sigma-Aldrich, 99,5%), raud(III)sulfaat hüdraat ($Fe_2(SO_4)_3 \cdot xH_2O$, Honeywell, 21-23%), askorbiinhape ($C_6H_8O_6$, Reaktiv), hõbesulfaat (Ag_2SO_4 , Lach-Ner, 99,5%), hüdroksüülamiin (NH_2OH), pürogallool ($C_6H_6O_3$, Merck KGaA, $\geq 99\%$), soolhape (HCl, Sigma-Aldrich, $\geq 37\%$), 1,1,3,3-tetraetoksüpropan ($C_{11}H_{24}O_4$, Sigma-Aldrich, $\geq 96\%$), hüdrokinoon ($C_6H_6O_2$), oksaalhappe dihüdraat ($C_2H_2O_4 \cdot H_2O$, Lach-Ner, 100%), salitsüülhape ($HO_2C_6H_4COOH$, Lachema), vasksulfaat ($CuSO_4$), askorbiinhape ($C_6H_8O_6$), gaalhape ($C_7H_6O_5$, Carl Roth GmbH + Co. KG, $\geq 98\%$). Kõik teised kemikaalid olid analüütiliselt puhtad.

Eksperimentaalse osa käigus analüüsiti ka erinevaid konkurentide kommertstooteid (Tabel 2.1).

Tabel 2.1 Analüüsitud kommertstooted

Toode	Koostisaine	CAS nr	Sisaldus, massi%
Diversey Oxivir Sporicide	Vesinikperoksiid	7722-84-1	3-10
	Bensüülalkohol	100-51-6	3-10
Ecolab Incidin Oxyfoam S	Vesinikperoksiid	7722-84-1	1-2,5
	Glükoolhape	79-14-1	1-2,5
Diversey Oxivir Plus Spray	Vesinikperoksiid	7722-84-1	0,28
	Salitsüülhape	69-72-7	0,1-1
Diversey Oxivir Plus Concentrate	Vesinikperoksiid	7722-84-1	5-10
	Dodetsüülbenseen-sulfoonhape	68584-22-5	5-10
	Propüleenglükool n-propüüleeter	1569-01-3	5-10
	2-hüdroksübensoehape	69-72-7	1-3

Lisaks uuriti erinevate tööstuslikult kasutatavate lisa-/toorainete mõju hüdroksüülradikaalide kontsentratsioonile (Tabel 2.2).

Tabel 2.2 Kasutatud lisaained

Toode	Koostisaine	CAS nr	Sisaldus
Kompleksimoodustajad			
Baypure CX 100/34 %	Iminodisuktsinaadi tetraaatriumsool	144538-83-0	34 %
Trilon M Liquid	Metüülglütsiin-äädikhappe trinaatriumsool	164462-16-2	40 %
Pindaktiivsed ained			
Propetal 130	Rasvalkoholi polüalküleenglükool-eeter (segu)	Segu	100 %
Leunapon - F 10/8/E	Alkoholid C9-11-iso-, C10-rikkad, etoksüleeritud	78330-20-8	≥99,8 %

Kõik lahused valmistati bidestilleeritud veega.

2.2 Katsemeetodid

Hüdroksüülradikaalide mõju hindamiseks *in vitro* süsteemides on väga oluline osata neid tuvastada ja täpselt kvantifitseerida. Hüdroksüülradikaalide tekke otsene mõõtmine on tehniliselt üsna keeruline. Mõned sagedamini kasutatavad hüdroksüülradikaalide mõõtmismeetodid nõuavad tehnoloogiaid, mis on kallid ega ole tavaliselt kergesti kättesaadavad, nagu näiteks stsintillaatori kasutamine, kõrgsurvedelikromatograafia, massispektroskoopia, elektronide spin-resonants (ESR), gaaskromatograafia (Rice-Evans et al., 1991).

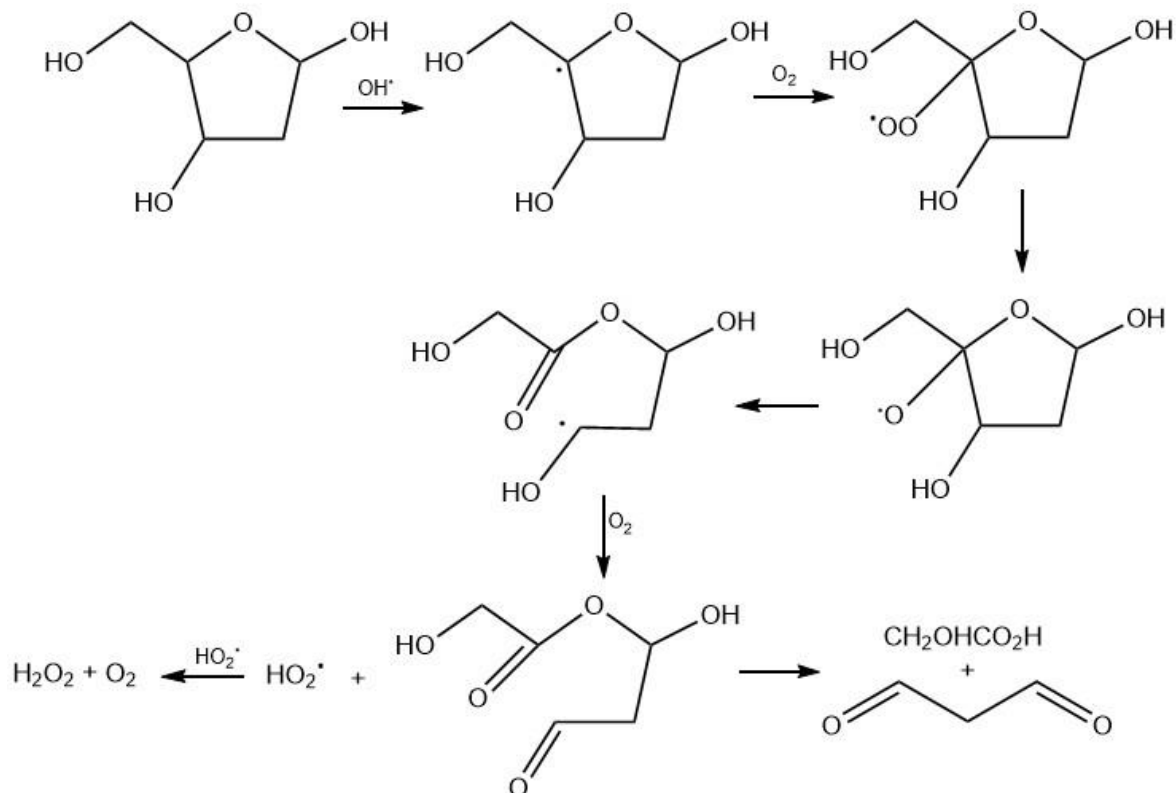
Kaks lihtsamat testi, mida kasutatakse laialdaselt hüdroksüülradikaalide tekke tuvastamiseks, on deoksüriboosi meetod ja salitsülaadi hüdroksüülimine (2,3-dihüdroksübensoaadi määramine) (Rice-Evans et al., 1991).

2.3 Deoksüriboosi meetod

Deoksüriboosi meetodit kasutatakse hüdroksüülradikaalide tekke tuvastamiseks. Deoksüriboos reageerib hüdroksüülradikaalidega kiiruskonstandiga $3,1 \cdot 10^9 \text{ l}/(\text{M}\cdot\text{s})$

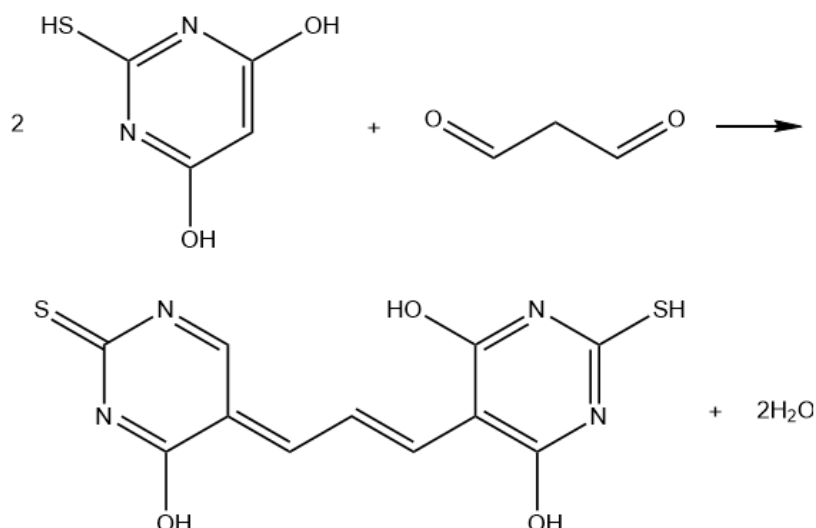
moodustades maloondialdehüüdi (MDA). Viimane reageerib tiobarbituurhappega (TBA) ja annab madalal pH-tasemel kuumutamisel 532 nm juures neelduva roosa kromogeeni (Rice-Evans et al., 1991).

Deoksüriboos laguneb kokkupuutel hüdroksüülradikaalidega, mis on tekkinud H_2O_2 aktiveerimisel Fentoni reaktsiooni või muude protsesside käigus. Reaktsioonisegu kuumutamisel happelises keskkonnas lõhuvad hüdroksüülradikaalid deoksüriboosi furaanitsükli ning moodustub maloondialdehüüd (Joonis 2.1) (Li, 2013).



Joonis 2.1 Maloondialdehüüdi tekkimine deoksüriboosi lagunemisel (Cheeseman et al., 1988)

Maloondialdehüüdi on võimalik tuvastada selle võime tõttu reageerida tiobarbituurhappega, moodustades roosa MDA-TBA kromogeeni, $\lambda_{max} = 530$ nm (Joonis 2.2). Seetõttu on lainepikkusel 532 nm määratud neelduvus proportsionaalne toodetud hüdroksüülradikaalide kogusega (Li, 2013). Deoksüriboosi on sel viisil sageli kasutatud hüdroksüülradikaalide moodustumise mõõtmiseks biokeemilistes süsteemides (Halliwell et al., 1987).



Joonis 2.2 Kromogeeni tekkimine TBA ja MDA reageerimise tagajärjel (Antolovich et al., 2001)

2.3.1 Meetodi tööpõhimõte

Katsete läbi viimiseks valmistati 5,6 mM deoksüriboosi (DR) lahus, 8 mM vesinikperoksiidi lahus, 1 % (w/v) tiobarbituurhappe (TBA) lahus, 2,8 % (w/v) trikloroäädikhappe (TCA) lahus ning uuritava aktiveeriva aine töölahus, enamasti kontsentratsiooniga 1,6 mM. Kõik reagentid, välja arvatud TBA ja TCA lahus, valmistati bidestilleeritud veega, mille pH oli viidud 3-ni, kasutades 0,1 ja 1 N H₂SO₄ lahuseid. pH kontrolliti digitaalse pH-meetriga (Mettler Toledo, S220).

Reaktsioonisegu lõppmahuga 1 ml saadi 0,5 ml deoksüriboosi, 0,25 ml vesinikperoksiidi ja 0,125 ml aktiveeriva reagenti kokkusegamisel (Tabel 2.3). Uuritavateks reagentideks olid askorbiinhape, hüdroksüülamiin, hõbe, raud, vask, pürogallool, hüdrokinoon, oblikhape, salitsüülhape, piimhape, gaalhappe, erinevad kompleksimoodustajad ja pindaktiivsed ained. Lisaks uuriti erinevate kommertstoodete (Oxivir Sporicide, Incidin Oxyfoam S, Oxivir Plus Spray ja Oxivir Plus) toimet.

Tabel 2.3 Deoksüriboosi meetodil läbi viidud katsete reaktsioonisegude koostis

Aine	Kontsentratsioon reaktsioonisegus (mM)
Deoksüriboos	2,8
Vesinikperoksiid	2,0
Uuritav aktivaator	0,2

H₂O₂ lisamine alustas reaktsiooni, mille lõpetamiseks lisati 1,25 ml TCA-d. Katsete kestvus oli erinev, varieerudes paarikümnest minutist kuni kahe nädalani. Seejärel lisati

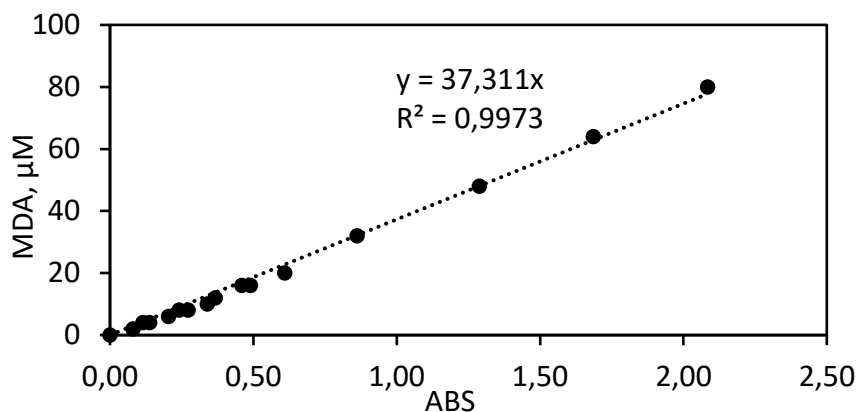
1,25 ml TBA-d, mis andis värvireaktsiooni. Nullproovides asendati vesinikperoksiidi lahus bidestilleeritud veega (pH=3).

Pärast TCA ja TBA lahuste lisamist kuumutati proove 100 °C juures 20 minutit. Kõikide katsete puhul tehti kaks paralleeli.

Saadud roosa kromfoori valguse absorptsioon mõõdeti 532 nm juures, kasutades UV-Vis spektrofotomeetrit (Thermo Electron Corporation, Beverly, MA, USA). Tekkinud hüdroksüülradikaalide ekvivalendiks määrati maloondialdehüüdi kontsentratsioon.

2.3.2 Meetodi kalibreerimine

Deoksüriboosi meetodi kalibreerimiseks valmistati standardlahused, mis sisaldasid eri kontsentratsioonides maloondialdehüüdi. Standardlahused valmistati 1,1,3,3-tetraetoksüpropaani hüdroolüüsi teel 0,1 M soolhappe juuresolekul. Selleks lisati katseklaasi 0,5 ml 1,1,3,3-tetraetoksüpropaani ja 0,5 ml 0,1 M soolhapet. Katseklaasi kuumutati 100 °C juures (keevas vees) 5 minutit. Pärast segu jahutamist viidi katseklaasi sisu kvantitatiivselt 100 ml mõõtkolbi, mis täideti seejärel bidestilleeritud veega märgini. Saadud lahus sisaldas 1,45 mg/ml maloondialdehüüdi ning meetodi kalibreerimiseks tehti sellest vajalikud lahjendused (2 - 80 µM) (Joonis 2.3).



Joonis 2.3 Deoksüriboosi meetodi kalibreerimisgraafik

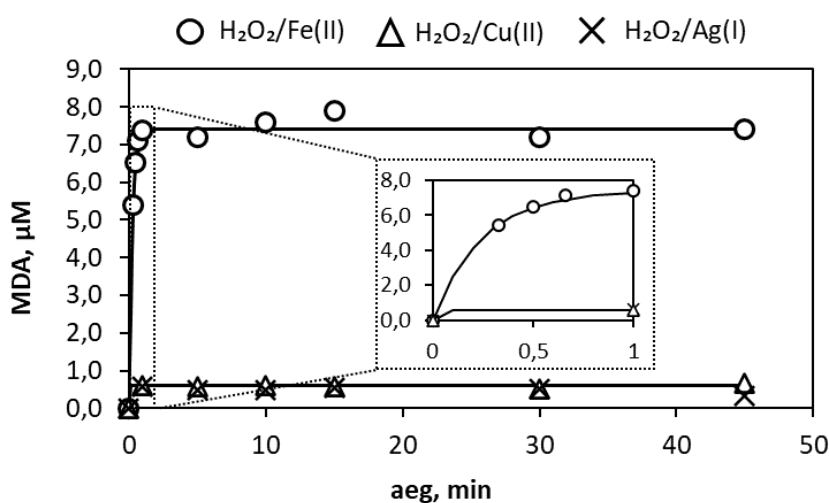
3. TULEMUSED JA ARUTELU

3.1 Siirdemetallid

Fentoni protsessis initsieerivad Fe(II)ioonid saasteaineid lagundavaid hüdroksüülradikaale põhjustades vesinikperoksiidi lagunemist (Oturán et al., 2011). Protsessi maksimaalse efektiivsuse tagamiseks peab keskkonna pH olema sobiv, suurim tõhusus arvatakse olevat pH vahemikus 2–4 (Dai et al., 2012). Kõik katsed teostati pH väärtuse 3 juures.

Klassikaline Fentoni protsess töötab vastavalt süsteemis toimuvatele reaktsioonidele väga kiiresti. Raud(II)ioonid mängivad Fentoni protsessis aktiveerimisel olulist rolli, soodustades väga reaktiivsete hüdroksüülradikaalide tekkimist (Bolobajev et al., 2015). Fe(II) ja H₂O₂ kiire reaktsiooni (võrrand 1.1, $k = 53 \text{ l}/(\text{M}\cdot\text{s})$) käigus toimub Fe(II) oksüdeerumine Fe(III)-ks, mistõttu vesinikperoksiid jääb aktivaatorist ilma ning selle tulemusena protsess lakkab.

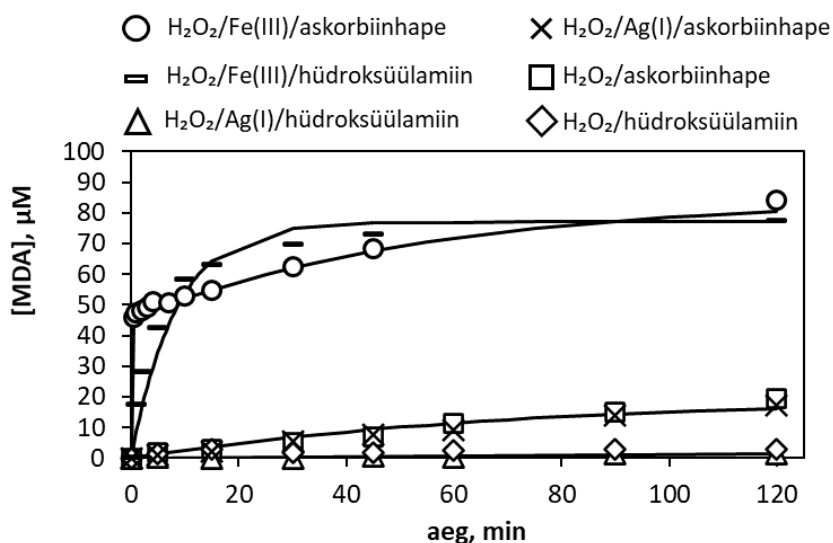
Fentoni protsessi käigus tekkinud maloondialdehüüdi koguse põhjal vaadeldi hüdroksüülradikaalide tekkeprotsessi (Joonis 3.1). Fentoni reaktsiooni käigus reageerib raud(II)ioon optimaalse pH juures vesinikperoksiidiga ja oksüdeerub raud(III)iooniks, tekivad hüdroksüülradikaal ja hüdroksiidioon. Raud toimib katalüsaatorina, muutes vormi Fe(II)- ja Fe(III)-ioonide vahel (võrrandid 1.1-1.7). Joonis 3.1 kinnitab, et klassikaline Fentoni protsess töötab vesinikperoksiidi aktiveerimisel kiiresti ja efektiivselt, kuid Fe(II) kiire oksüdeerimise tõttu lakkab hüdroksüülradikaalide teke juba pärast esimest minutit ning prolongeeritud efekt puudub täielikult.



Joonis 3.1 Klassikaline Fentoni reaktsioon, [H₂O₂] = 0,25 mM, [Fe(II)] = 0,025 mM; Fenton-tüüpi reaktsioonid vask(II)- ja hõbe(I)ioonidega, [H₂O₂] = 2 mM, [Cu(II)] = 0,2 mM, [Ag(I)] = 0,2 mM

Kui klassikaline Fentoni protsess toimub H_2O_2 ja $Fe(II)$ -ioonide osalusel, siis mistahes modifikatsioon antud kombinatsioonist on tuntud kui Fenton-tüüpi süsteem. Käesolevas töös uuriti vesinikperoksiidi aktiveerimist lisaks raudioonidele ka vask- ja hõbeioonide abil. Vask(II)ioonid töötavad sarnaselt raudioonidele, muutes H_2O_2 juuresolekul vormi Cu^{2+} ja Cu^+ vahel. On leitud, et Fenton-tüüpi süsteemil, milles kasutatakse vask(II)ioone, on hüdroksüülradikaalide tekkekiirus kõrgeim pH vahemikus 4 kuni 8 (Kim et al., 2018). Hõbe võib sõltuvalt vesikeskkonna pH-tingimustest Fenton-tüüpi oksüdeerumise kontekstis esineda kahes oksüdatsioonivormis, Ag^0 või Ag^+ . Hõbeioone on võimalik tõhusalt kasutada heterogeense katalüsaatorina vesinikperoksiidi aktiveerimisel, kui pH-tingimused on kas neutraalsed või aluselised (Hussain et al., 2021).

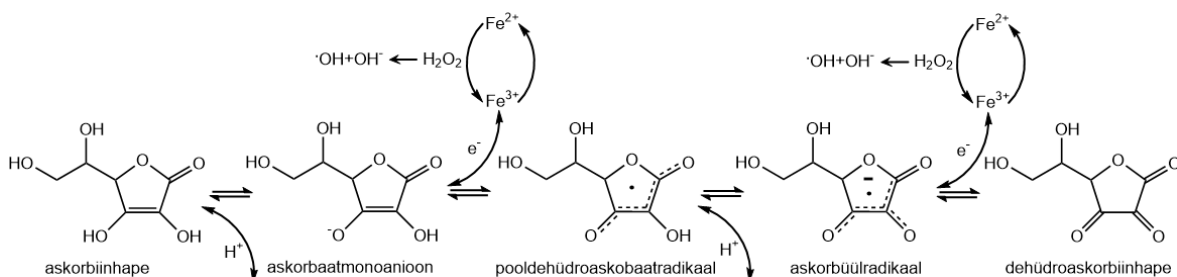
Läbi viidi veel mitmeid erinevaid Fenton-tüüpi reaktsioone (Joonis 3.2). Katsed tehti askorbiinhappega raud- või hõbeiooni juuresolekul ning hõbeiooni ja hüdroksüülamiiniga. Võrdlusena on joonisel 3.2 toodud ka ilma metallioonide juuresolekuta askorbiinhappe ja hüdroksüülamiiniga teostatud katsed.



Joonis 3.2 Fenton-tüüpi reaktsioonid askorbiinhappe (AA) ja hüdroksüülamiiniga (HA) raud(III)- ja hõbe(I)ioonide juuresolekul, $[H_2O_2] = 2 \text{ mM}$, $[AA] = [HA] = [Fe(III)] = [Ag(I)] = 0,2 \text{ mM}$

Märgatavalt suurima efekti andis kombinatsioon raud(III)iooni ja askorbiinhappega. Askorbiinhape on tugev raua ning üleüldse siirdemetallide redutseerija. Askorbiinhappe lisamine $Fe(III)/H_2O_2$ süsteemile võimaldab $Fe(III)$ -ioonile elektroni andes seda redutseerida ning seejuures soodustab hüdroksüülradikaalide teket vastavalt klassikalisele Fentoni protsessile (Bolobajev et al., 2015). Fentoni reaktsioon lõppeb, kui kogu kahevalentne raud on ära oksüdeerunud. Askorbiinhappe abil on aga võimalik reaktsiooni regenereerida, tootes süsteemi kahevalentset rauda, misjärel protsess töötab pikema aja jooksul.

Askorbiinhape töötab kui retsirkulaator ning suurendab sel viisil aktiveerimise efekti (Joonis 3.3). Deprotoneeritud askorbiinhape, askorbaatmonoanioon, läbib kaheastmelise oksüdatsiooni, et tekitada dehüdroaskorbiinhapet vaheühendite pooldehüdroaskorbaat- ja askorbüülradikaalide kaudu, mis osalevad Fe(III)-ioonide muundamisel Fe(II)-ks, toetades seeläbi hüdroksüülradikaalide teket ja sihtainete oksüdatsiooni (Bolobajev et al., 2015).



Joonis 3.3 Fe(III)-ioonide redutseerimine Fe(II)-ks askorbiinhappe toimel (Bolobajev et al., 2015)

Askorbiinhape hõbe(II)iooniga või ilma metallioonita andis võrreldes Fe(III) süsteemiga ligi neli korda väiksema maloondialdehüüdi kontsentratsiooni. Hõbeioon ei soodustanud antud tingimustes vesinikperoksiidi aktiveerimist ning tekkinud maloondialdehüüdi kontsentratsioon oli võrdne hõbeiooni juuresolekuta tehtud katsete saadustega.

Võrdlusena läbi viidud katses askorbiinhappega, kus metallioonid puudusid, oli näha hüdroksüülradikaalide teket, kuid protsess oli aeglasem kui raud(III)ioonide juuresolekul. Askorbaatmonoaniooni elektroni loovutamisel saadakse pooldehüdroaskorbaatradikaal, mis oksüdeeritakse, moodustades askorbüülradikaali ja dehüdroaskorbiinhappe. Vesinikperoksiidi mõjul askorbaatmonoaniooni oksüdeerimisel tekivad hüdroksüülradikaalid, sõltumata siirdemetallide vahendusest (võrrand 1.8) (Nappi & Vass, 2000).

Hüdroksüülamiini kasutatakse redutseerimisagendina paljudes keemilistes protsessides, sealhulgas siirdemetallide redutseerimises või orgaanilisel sünteesil (Budavari, 1996). Hüdroksüülamiin käitub sarnaselt askorbiinhappele, olles võimeline tänu headele redutseerimisomadustele vesinikperoksiidi aktiveerima (Elmagirbi et al., 2012). Katsetes saadud tulemused hüdroksüülamiiniga olid võrreldes askorbiinhappega vähem efektiivsed.

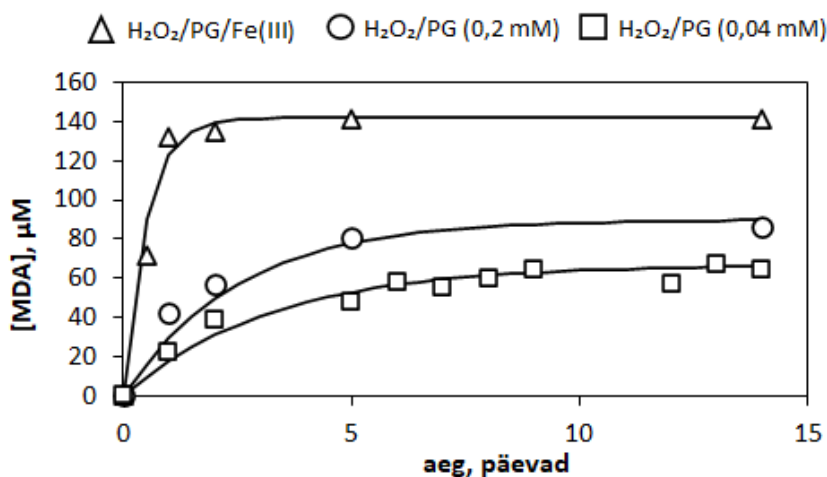
3.2 Fenoolsed ühendid

Lisaks Fentoni reaktsioonile ja selle erinevatele modifikatsioonidele viidi läbi katsed mõningate fenoolsete ühenditega, nagu pürogallool ja gaalhappe, et saavutada suuremat vesinikperoksiidi aktiveerimise efekti. On teada, et askorbiinhape ja teatud teised bioloogilised redutseerijad on võimelised tootma hüdroksüülradikaale, oksüdeerides vesinikperoksiidi vase või raua katalüsaatorite juuresolekul. Vesinikperoksiidi aktiveerimiseks saab kasutada ka mõningaid orgaanilisi aineid, siirdemetallide juuresolekust sõltumata. Kuigi antud mehhanismi kohta on vähe infot, on teada, et mõned orgaanilised ained on võimelised ilma metalli vahendamiseta andma elektrone vesinikperoksiidile ning seeläbi seda aktiveerima (Nappi & Vass, 2000).

Pürogallool on orgaaniline ühend, mis kuulub fenoolide hulka. Pürogallooli kui olulist keemilist toorainet ja reagenti valmistatakse gaalhappe dekarboksüülimisreaktsioonil (Li & Wang, 2015). Pürogallool mitmealuselise fenoolina kutsutakse rakudes esile apoptoosi ehk programmeeritud rakusurma (Han & Park, 2010).

Fenoolid on võimelised käituma antioksidantidena. Fenoolühendite antioksidatiivne võime tuleneb peamiselt nende redoksomadustest, võimaldades neil toimida redutseerijadena ja vesiniku doonoritena. Antioksidatiivse toime põhjal on võimalik hinnata ka polüfenoolide redutseerimisvõimet (Liang et al., 2010). Mõningate mitmealuseliste fenoolide uurimisel on leitud, et näiteks pürogallool on efektiivsem kui hüdrokinoon (Moore, 1976). Ühealuselised fenoolid ei ole head redutseerijad. Mida rohkem hüdroksüülrühmasid ühendis sisaldub, seda parem on selle redutseerimisvõime (Riebel et al., 2017). Mitmealuselised fenoolid, nagu näiteks pürogallool, hüdrokinoon ja katehhool, redutseerivad happelistes tingimustes Fe(III)-iooni Fe(II)-ks ja kiirendavad seeläbi hüdroksüülradikaalide tootmist klassikalise Fentoni reaktsiooni abil (Chen & Pignatello, 1997).

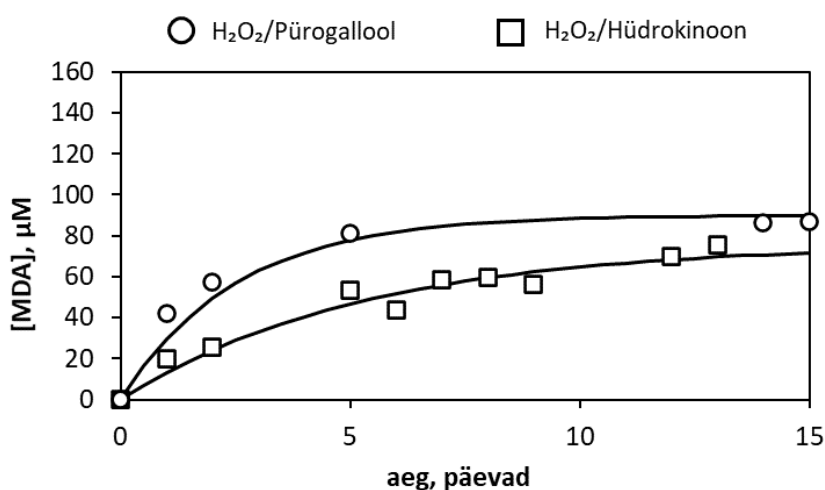
Katsed pürogallooliga teostati kahel erineval kontsentratsioonil, 0,2 mM ja 0,04 mM (Joonis 3.4). Kõrgema kontsentratsiooniga kombinatsiooni puhul tehti katse ka raud(III)ioonide juuresolekul.



Joonis 3.4 Vesinikperoksiidi ($[H_2O_2] = 2 \text{ mM}$) aktiveerimine pürogallooliga ($[PG] = 0,2$ ja $0,04 \text{ mM}$); vesinikperoksiidi aktiveerimine pürogallooliga raud(III)ioonide juuresolekul, $[Fe(III)] = [PG] = 0,2 \text{ mM}$

Vastavalt pürogallooli sisaldusele reaktsiooniseigus on maloondialdehüüdi tekkimise tulemustes näha ka erinevust. Suurema pürogallooli kontsentratsiooniga segus tekkis rohkem hüdroksüülradikaale. Enim mõjutas hüdroksüülradikaalide teket aga raud(III)ioonide juuresolek, mis peaaegu kahekordistas tulemuse. Raudioonid käituvad kui katalüsaatorid ja suurendavad hüdroksüülradikaalide teket veelgi (Tofant et al., 2006).

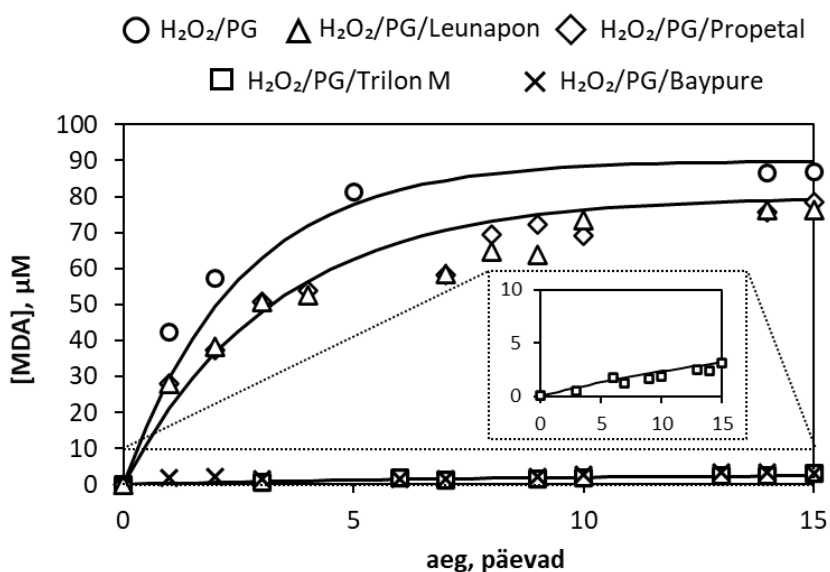
Kahealuseline fenoolühend hüdrokinoon töötas vesinikperoksiidi aktiveerimisel efektiivselt, kuid võrreldes pürogallooliga tekkis hüdroksüülradikaale vähem (Joonis 3.5). Pürogallool kui kolmealuseline fenool oli uuritud ainetest efektiivselt vesinikperoksiidi aktiveerija.



Joonis 3.5 Vesinikperoksiidi ($[H_2O_2] = 2 \text{ mM}$) aktiveerimine hüdrokinooni (HQ) ja pürogallooliga, $[HQ] = [PG] = 0,2 \text{ mM}$

Eesmärgiga aktiveerimisprotsessi aeglustada, saavutada prolongeeritud efekti, on võimalik lisada süsteemi erinevaid lisaaineid. Seda protsessi võib nimetada vabade radikaalide püüdmiseks. Vabade radikaalide püüdja võib olla mis tahes molekul, mis on võimeline andma elektroni vabale radikaalile, aeglustades oksüdeerimisprotsessi (Pavithra & Vadivukkarasi, 2015).

Selleks viidi läbi katsed pürogallooliga erinevate kompleksimoodustajate ja pindaktiivsete ainete juuresolekul (Joonis 3.6). Võrdluseks on joonisele lisatud ka vesinikperoksiidi aktiveerimine ainult pürogallooliga. Uuritud kompleksimoodustajateks olid Trilon M ja Baypure CX, pindaktiivsetest ainetest kasutati tooteid Propetal ja Leunapon. Need ained valiti, kuna tegu on laialdaselt kasutatavate desinfitseerimisvahendite koostisosadega. Propetal ja Leunapon on mitteioonsed pindaktiivsed ained ning tänu laengu puudumisele on nad lahuses stabiilsemad. Lisaainete kontsentratsioonideks reaktsioonisegudes oli kompleksimoodustajate puhul 14 mg/L ja pindaktiivsete ainete puhul 18 mg/L. Vajalikud kogused arvatavalt lisaaine ja vesinikperoksiidi sisalduste suhtele, võttes aluseks levinud kommertstoodete koostise.

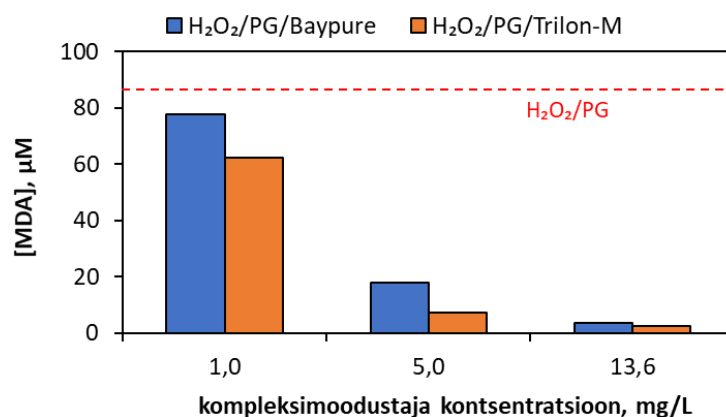


Joonis 3.6 Vesinikperoksiidi ($[H_2O_2] = 2 \text{ mM}$) aktiveerimine pürogallooliga ($[PG] = 0,2 \text{ mM}$) kompleksimoodustajate ja pindaktiivsete ainete juuresolekul, $[Trilon M] = [Baypure] = 14 \text{ mg/L}$, $[Propetal] = [Leunapon] = 18 \text{ mg/L}$

Kompleksimoodustajad efektiivsete radikaali püüdjatena omasid hüdroksüülradikaalide moodustamisele tugevat pärssivat mõju, viies tekkinud vabade radikaalide koguse võrdluses ilma lisaaineteta aktiveerimisele väga madalale ning näidates prolongeeritud efekti. Pindaktiivsete ainete mõju vesinikperoksiidi aktiveerimisele ja sealjuures hüdroksüülradikaalide tekkele oli märgatavalt väiksem. Arvatavasti võib erinevus

kompleksimoodustajate ja pindaktiivsete ainete vahel olla seotud nende struktuuriga, kuid vastavat informatsiooni teaduskirjandusest ei leitud.

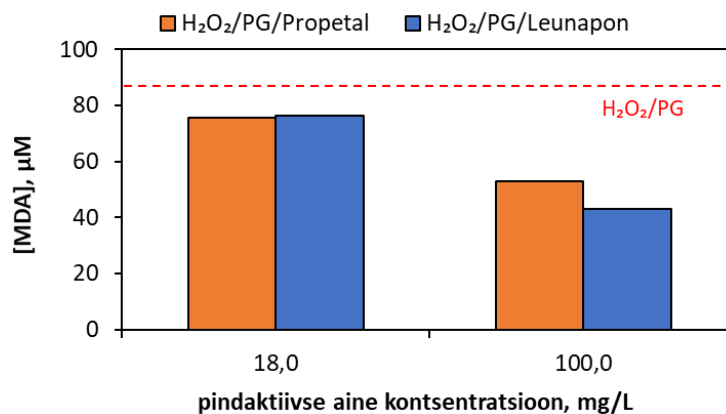
Selleks, et selgitada välja optimaalsed lisaainete kontsentratsioonid, tehti katsed pürogallooliga erinevate lisaainete sisalduste juures. Kuna kompleksimoodustajate inhibeeriv mõju hüdroksüülradikaalide tekkele oli suur, siis vähendati nende kontsentratsiooni 5 mg/L-ni ja 1 mg/L-ni (Joonis 3.7).



Joonis 3.7 Hüdroksüülradikaalide tekke inhibeerimise efekt erinevatel kompleksimoodustajate kontsentratsioonidel 14. päeval, [H₂O₂] = 2 mM, [PG] = 0,2 mM

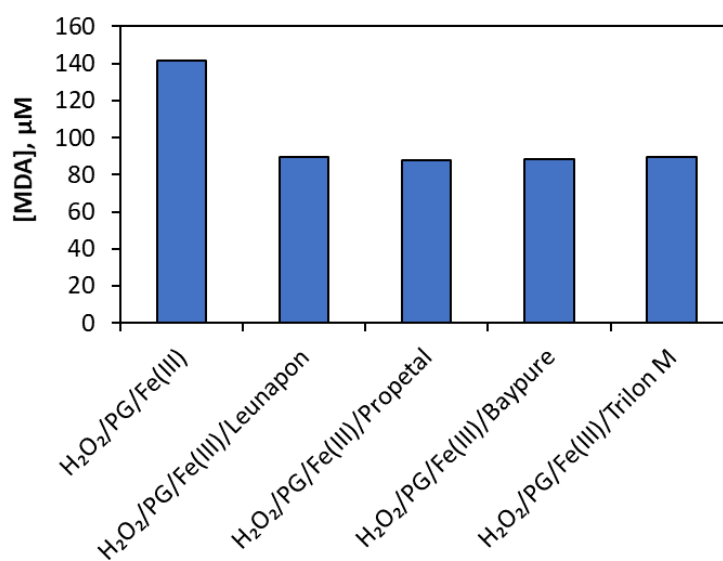
Katsete tulemused vastasid loogikale, kompleksimoodustaja sisalduse vähenedes suurenes hüdroksüülradikaalide tekkimise kiirus ehk lisaaine inhibeeriv mõju nõrgenes. Tulemustest selgus ka, et kompleksimoodustaja Trilon M on tugevam kui Baypure, omades iga kontsentratsiooni juures suuremat pärssivat mõju vesinikperoksiidi aktiveerimisele. Trilon M on metüülglütsiin-äädikhappe trinaatriumsoola 40 %-line vesilahus, Baypure sisaldab 34 % iminodisuktsinaadi tetraaatriumsoola.

Pindaktiivsete ainete mõju hüdroksüülradikaalide tekkele oli madalam, seega tõsteti lisakatseteks nende kontsentratsiooni 18 mg/L-lt 100 mg/L-ni (Joonis 3.8).



Joonis 3.8 Hüdroksüülradikaalide tekke inhibeerimise efekt erinevatel pindaktiivsete ainete kontsentratsioonidel 14. päeval, [H₂O₂] = 2 mM, [PG] = 0,2 mM

Katseseeriad pürogallooli ja lisaainetega viidi läbi ka siirdemetalli juuresolekul (Joonis 3.9). Metallina kasutati raud(III)ioone. Kui raud(III)ioone lisamata tehtud proovides omasid kompleksimoodustajad tugevat inhibeerivat mõju vesinikperoksiidi aktiveerimisele, pindaktiivsete ainete mõju oli väiksem, siis raud(III)ioonide juuresolekul neil kahel vahet ei olnud. Hüdroksüülradikaale tekkis kõikides reaktsioonisegudes ligikaudu sama palju. Siirdemetalli juuresolek vähendab kompleksimoodustajate ja pindaktiivsete ainete mõjude erinevusi protsessi tulemustele. Raudioonid muudavad katalüsaatorina süsteemi kiiresti väga aktiivseks, andes kohese efekti. Mehhanism, kuidas mõjutab raudioonide juuresolek süsteemi lisaainetega ja põhjus, miks erinevus kompleksimoodustajate ja pindaktiivsete ainete mõjude vahel kaob, jääb praegu tundmatuks ning vajab edasisi uuringuid.

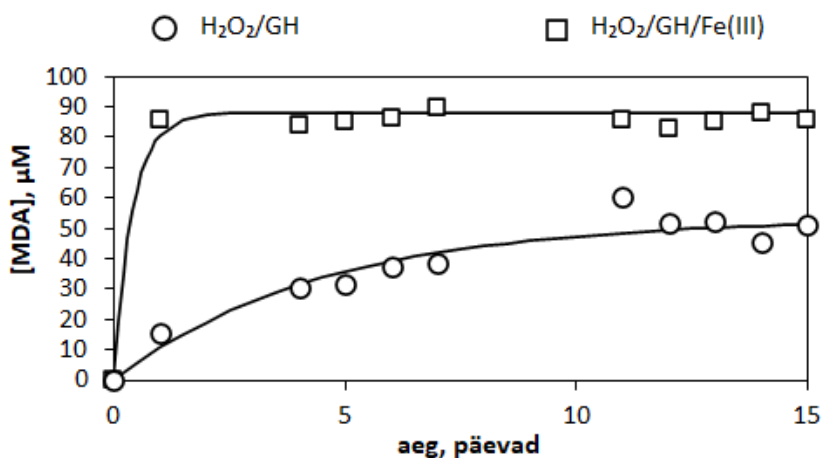


Joonis 3.9 Vesinikperoksiidi ([H₂O₂] = 2 mM) aktiveerimine pürogallooli ([PG] = 0,2 mM) ja raud(III)ioonidega ([Fe(III)] = 0,2 mM) kompleksimoodustajate ning pindaktiivsete ainete juuresolekul, [Trilon M] = [Baypure] = 14 mg/L, [Propetal] = [Leunapon] = 18 mg/L. Proovid olid võetud 15. päeval

Teise fenoolse ühendina uuriti lähemalt gaalhappe võimet aktiveerida vesinikperoksiidi. Gaalhape on trihüdroksübensoehape, mida klassifitseeritakse fenoolhappeks. Gaalhapat kasutatakse peamiselt sünteetilise vaheühendina pürogallooli tootmisel.

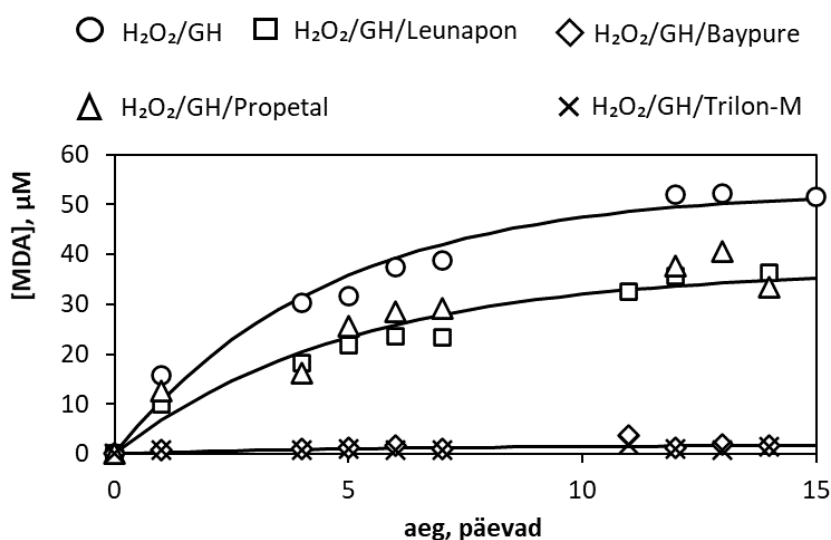
Vesinikperoksiidi aktiveerimine gaalhappega teostati nii siirdemetalli juuresolekul kui ka selle puudumisel (Joonis 3.10). Võrreldes pürogallooliga tekkis mõlemas protsessis ligikaudu kaks korda vähem hüdroksüülradikaale. Gaalhappe fenoolstruktuur, mis sisaldab karboksüülrühma, on oma kolme hüdroksüülrühma ja kõrge antioksidatiivse võime tõttu potentsiaalselt efektiivne vesinikperoksiidi aktiveerija. Struktuuris sisalduv karboksüülrühm tõmbab elektronpilvi enda peale ning seeläbi vähendab ülejäänud reaktsioonitsentrite (hüdroksüülrühmade) efektiivsust (Van Lith & Ameer, 2016).

Gaalhappesega aktiveerimisel on näha hüdroksüülradikaalide tekke pikaajalisemat efekti. Raud(III)ioonide lisamine süsteemi kaotab selle, saavutades hüdroksüülradikaalide maksimaalse kontsentratsiooni juba esimestel päevadel ning seejärel stabiliseerudes.



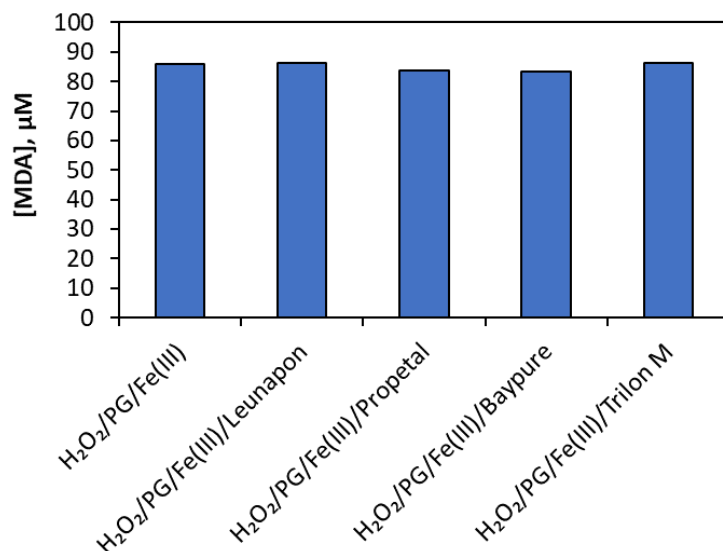
Joonis 3.10 Vesinikperoksiidi ($[H_2O_2] = 2 \text{ mM}$) aktiveerimine gaalhappesega ($[GH] = 0,2 \text{ mM}$) ning vesinikperoksiidi aktiveerimine gaalhappesega raud(III)ioonide juuresolekul, $[Fe(III)] = 0,2 \text{ mM}$

Kompleksimoodustajate ja pindaktiivsete ainete mõju vesinikperoksiidi aktiveerimisele gaalhappesega on sarnane võrreldes pürogallooliga (Joonis 3.11). Siirdemetalli juuresolekuta mõjuvad lisaained erinevalt, kompleksimoodustajad pärsivad reaktsioonivõimet rohkem, pindaktiivsed ained vähem. Antud süsteemi tulemusena on aga tekkinud hüdroksüülradikaalide kontsentratsioon ligi kaks korda madalam kui pürogallooli kasutamisel.



Joonis 3.11 Vesinikperoksiidi ($[H_2O_2] = 2 \text{ mM}$) aktiveerimine gaalhappesega ($[GH] = 0,2 \text{ mM}$) kompleksimoodustajate ja pindaktiivsete ainete juuresolekul, $[Trilon M] = [Baypure] = 14 \text{ mg/L}$, $[Propetal] = [Leunapon] = 18 \text{ mg/L}$

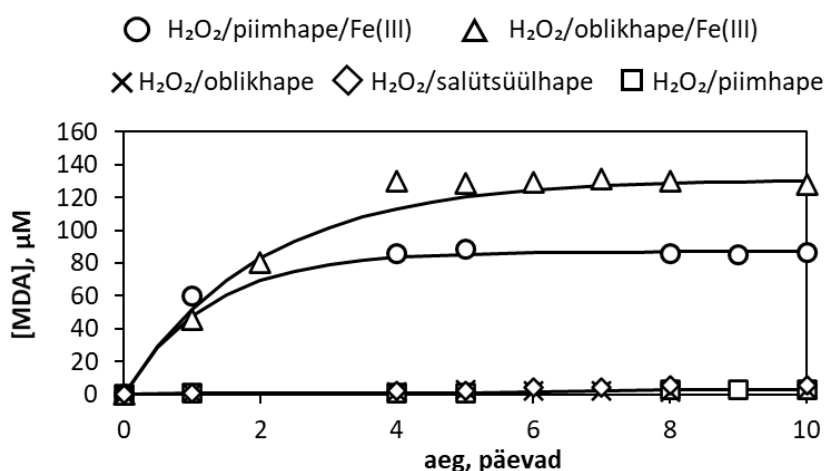
Raudioonide mõju süsteemile on äärmiselt drastiline (Joonis 3.10). Vesinikperoksiidi aktiveerimine toimub juba esimesel päeval ning prolungeeritud efekt puudub. Raud(III)ioonide lisamisel gaalhappe süsteemile lisaained enam hüdroksüülradikaalide moodustumisele mõju ei avalda (Joonis 3.12).



Joonis 3.12 Vesinikperoksiidi ([H₂O₂] = 2 mM) aktiveerimine gaalhappe ([GH] = 0,2 mM) ja raud(III)ioonidega ([Fe(III)] = 0,2 mM) kompleksimoodustajate ning pindaktiivsete ainete juuresolekul, [Trilon M] = [Baypure] = 14 mg/L, [Propetal] = [Leunapon] = 18 mg/L. Proovid olid võetud 14. päeval

3.3 Karboksüülhapped

Järgnevate katsete käigus uuriti karboksüülhapete võimet aktiveerida vesinikperoksiidi (Joonis 3.13). Katsed viidi läbi piim-, salitsüül- ja oblikhappega. Vaadeldi ka siirdemetallide mõju süsteemile.



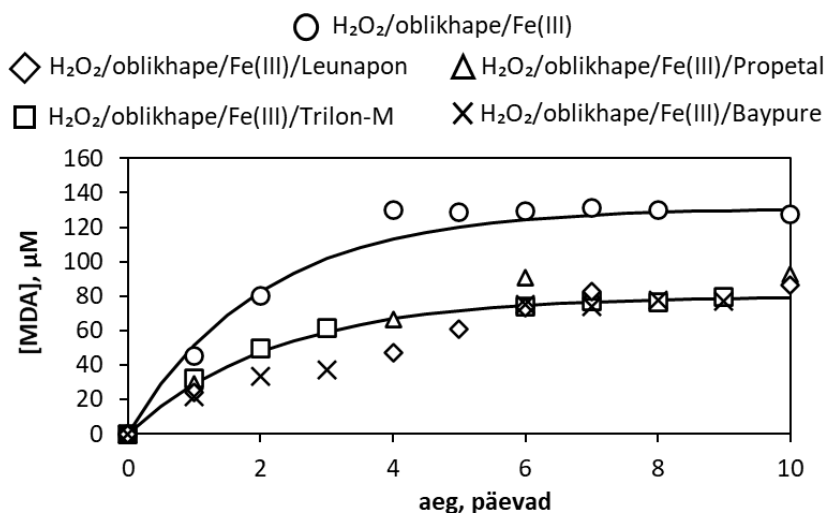
Joonis 3.13 Vesinikperoksiidi ([H₂O₂] = 2 mM) aktiveerimine karboksüülhapetega, [Fe(III)] = [piimhape] = [oblikhape] = [salitsüülhape] = 0,2 mM

Piimhape ja salitsüülhape siirdemetalli juuresolekuta ei olnud võimalised vesinikperoksiidi aktiveerima. Siirdemetalli lisamine aktiveeris süsteemi, nagu on ka kõikides eelnevates katsetes täheldatud.

Oblikhappe ilma siirdemetallita samuti ei aktiveerinud vesinikperoksiidi ning katsete tulemusena hüdroksüülradikaale ei tekkinud. Raud(III)ioonide lisamisel hakkas aga süsteem tööle prolungeeritud efektiga, hüdroksüülradikaalide moodustumine oli intensiivsem ligikaudu neljandal päeval. Oblikhappe ja raudioonide kombinatsioon on tuntud tugeva redutseerijana, kuid see protsess, nagu ka eelnevad karboksüülhapete kombinatsioonid, võib olla fotoindutseeritud.

Raud(III)ioonide karboksülaatkomplekside fotokeemia erinevate karboksüülhapetega pakub keskkonnakeemia seisukohalt märkimisväärset huvi, kuna nende ühendite fotolüüsiga kaasneb reaktiivsete hüdroksüülradikaalide moodustumine, mis põhjustab orgaanilise aine lagundamist. Raud(III)ioonide karboksülaatkomplekside fotolüüsi mehhanism tähendab, et kõigepealt toimub sisemise sfääri elektronide ülekanne, millega kaasneb Fe(III)ioonide redutseerimine Fe(II)ioonideks ja vaba radikaali tekkimine, millele järgneb radikaali kiire dekarboksüülimine. Dekarboksüülimise tulemusena tekkinud sekundaarne radikaal reageerib raud(III)ioonide komplekside ja lahustunud hapnikuga, saades reaktiivsed hapnikuliigid (Pozdnyakov et al., 2013).

Kuna süsteem ainult oblikhappega tulemusi ei andnud, siis katseid oblikhappe ja lisaainetega läbi ei viidud. Uuriti aga oblikhappe ja raud(III)ioonide koosmõjul vesinikperoksiidi aktiveerimist lisaainete, kompleksimoodustajate ja pindaktiivsete ainete, juuresolekul (Joonis 3.14). Tulemustest selgus, et antud süsteemides mõjuvad kõik lisaained võrdse inhibeeriva toimega, viies tekkinud hüdroksüülradikaalide kontsentratsiooni märgatavalt madalamale tasemele.

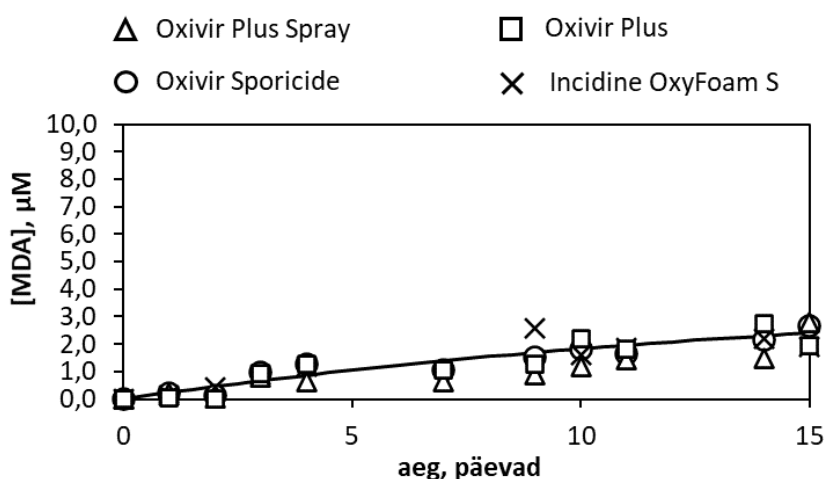


Joonis 3.14 Vesinikperoksiidi ([H₂O₂] = 2 mM) aktiveerimine oblikhappe ([oblikhappe] = 0,2 mM) ja raud(III)ioonidega ([Fe(III)] = 0,2 mM) kompleksimoodustajate ning pindaktiivsete ainete juuresolekul, [Trilon M] = [Baypure] = 14 mg/L, [Propetal] = [Leunapon] = 18 mg/L

3.4 Kommertstooted

Katseseeriad kommertstootetega viidi läbi, et hinnata, missugune on konkurentide toodete vesinikperoksiidi aktiveerimisvõime ja hüdroksüülradikaalide teke (Joonis 3.15). Valmistootetest tehti lahjendused, nii et vesinikperoksiidi kontsentratsioon reaktsiooniseigus oleks 2,0 mM nagu kõikides varasemates katseseeriates. Antud süsteemi reaktsiooniseigu sisaldas vaid kahte komponenti – deoksüriboosi lahust ning kommertstootet, mis sisaldas vesinikperoksiidi ja selle aktiveerijat. Jooniselt 3.15 on näha, et kuigi hüdroksüülradikaalide teke ei ole väga järsk, kasv on pikaajaline, siis erinevate lisaainete sisalduse tõttu ei ole radikaalide kontsentratsioon kuigi suur.

Et näha, kuidas toimivad kommertstooted kontsentratsioonina, teostati katsed ka lahjendamata proovidega, kuid tulemused ei olnud usaldusväärsed reaktiivide suure kontsentratsiooni ning toodetes sisalduvate lisaainete tõttu. Segu muutus häguseks, tekkis sade ning spektrofotomeetriliselt tulemust määrata ei olnud võimalik.



Joonis 3.15 Vesinikperoksiidi aktiveerimine kommertstootetega, $[H_2O_2] = 2 \text{ mM}$

3.5 Edasised arendusetapid

Antud magistritöö raames mikrobioloogilise efektiivsuse määramiseni ning testimiseni ei jõutud, kuid tootearenduse täistsükli seisukohast on planeeritud arendusetapid asjakohased ka käesoleva töö kontekstis.

Deoksüriboosi meetodiga oli võimalik hinnata vesinikperoksiidi aktiveerimise protsessi, kuid puudus piisav tundlikkus. Meetodi kõikumine ei võimaldanud vaadelda tulemusi madalatel kontsentratsioonidel. Tootearendusprojekti „Vesinikperoksiidi aktiveerimismeetodite uuring desinfitseerimisvahendite arenduse eesmärgil“ järgmiseks

planeeritud sammuks on aktiivaine (ning lisaainete – aktivaator/inhibiitor kompleks) efektiivse kontsentratsiooni määramine läbi mikrobioloogilise efektiivsuse testimise.

Selleks on kavas kaheetapiline lähenemine. Esimese etapi käigus tehakse kiirelt korratavad katsed, mis võimaldavad testida piisavalt suurt kombinatsioonide valimit, pärast mida statistilise analüüsi põhjal valitakse välja efektiivseim/optimaalseim koostis. Lisaks viiakse läbi bakteritsiidse toime testid ühele valitud organismile (nt *Staphylococcus aureus*).

Teises etapis toimuvad testid kirjanduse põhjal valitud organismiga (nt *Mycobacterium terrae*), mis omaks piisavat resistentsust võrreldes teiste standardorganismidega.

Pärast efektiivse kontsentratsiooni määramist kuuluvad edasise tootearenduse alla ka järgnevad etapid: toote stabiilsuskatsed (kiirendatud tingimustel, terve toote planeeritud eluea jooksul), sobiva pakendi valik, tootmise tingimuste ja skaleerimisarendused, tootespetsiifilised testid (ohutuse, materjalisobivuse hindamine), toote kasutusvaldkonnapõhine mikrobioloogilise täisefektiivsuse määramine reaalsel kasutustingimustel ning tootele antimikroobsete omaduste (bakterite, hallitusseente, pärmseente, tuberkuloositekitajate, mükobakterite, spooride ja viiruste vastane) omistamine ning toote registreerimine.

KOKKUVÕTE

Pindade puhastamine ja desinfitseerimine on alati olnud tähtis, kuid tänapäeva maailma tervishoiukriisis on see nakkushaiguste ennetamise seisukohalt eriti oluline ning seega on asjakohane tegeleda ka uute desinfitseerijate arendusega. Sellest tulenevalt oli käesoleva töö eesmärgiks alustada vesinikperoksiidi sisaldava desinfitseerija tootearendusprotsessi.

Peamiseks ülesandeks oli uurida erinevaid vesinikperoksiidi aktiveerimismeetodeid. Paralleelselt alustati ka katsetega, et praktiliselt kindlaks teha, millised aktiveerimismeetodid on kõige efektiivsemad. Kõikide katsete käigus kasutati hüdroksüülradikaalide tootmise tuvastamiseks deoksüriboosi meetodit. Katsete kestvus oli erinev, varieerudes paarikümnest minutist kuni kahe nädalani. Tekkinud hüdroksüülradikaalide ekvivalendiks määrati maloondialdehüüdi kontsentratsioon.

Eesmärk oli leida võimalikult efektiivne ainete kombinatsioon, mis aktiveeriks vesinikperoksiidi tõhusalt, kuid omaks samas prolungeeritud efekti. Katsed viidi läbi erinevate aktiveerijatega: siirdemetallid, fenoolsed ühendid, karboksüülhapped. Tähtsaimateks uurimisobjektideks olid pürogallool, gaalhappe ja oblikhappe ning nende kombinatsioonid raud(III)ioonidega. Lisaks uuriti mõningate fenoolsete ühendite ja karboksüülhapete puhul ka lisaainete, kompleksimoodustajate ja pindaktiivsete ainete, mõju vesinikperoksiidi aktiveerimisele. Laborikatsete perioodi lõpuks valiti välja efektiivsemad kombinatsioonid, mida kasutada vesinikperoksiidi aktiveerimisel arendatavas tootes.

Käesoleva töö olulisemad järeldused:

1. Klassikaline Fentoni reaktsioon töötas vesinikperoksiidi aktiveerijana, kuid oma suure reaktsioonikiiruse tõttu pole tootearenduse vaatepunktist otstarbekas, kuna puudus pikaajaline efekt. Modifitseeritud Fentoni reaktsioonid vask(II)- ja hõbe(I)ioonidega valitud tingimustel soovitud tulemust ei andnud
2. Askorbiinhape aktiveeris vesinikperoksiidi, hüdroksüülradikaalide tekke kasv suurenes, kuid protsess kestis ligikaudu 2 tundi ning prolungeeritud efekt samuti puudus. Raud(III)ioonide lisamine süsteemi mitmekordistas hüdroksüülradikaalide teket
3. Pürogallool oli kõigist uuritud ainetest efektiivsem vesinikperoksiidi aktiveerija, raud(III)ioonide lisamine kahekordistas tekkinud hüdroksüülradikaalide koguse
4. Gaalhappe võime vesinikperoksiidi aktiveerida oli väiksem kui pürogalloolil, kuid võis märgata prolungeeritud efekti, raud(III)ioonide lisamine samuti muutis süsteemi efektiivsemaks

5. Karboksüülhapped (piim-, oblikhape) olid võimelised vesinikperoksiidi aktiveerima vaid raud(III)ioonide juuresolekul, kuid reaktsioon võis olla fotoindutseeritud
6. Kompleksimoodustajad omasid tugevamat inhibeerivat mõju vesinikperoksiidi aktiveerimisele kui pindaktiivsed ained, raud(III)ioonide lisamisel süsteemi erinevus kompleksimoodustajate ja pindaktiivsete ainete mõjude vahel kadus

Saadud tulemuste põhjal osutusid kõige efektiivsemaks vesinikperoksiidi aktiveerijaks kombinatsioonid pürogallooliga raud(III)ioonide juuresolekul. Tootearendusprojekti järgmiseks sammuks on seega efektiivse aktivaatori ehk pürogallooli ja raud(III)ioonide (ning lisaainete) optimaalsete kontsentratsioonide vahekorra määramine läbi mikrobioloogilise testimise. Plaanitakse testida ka teisi töös käsitletud toimivaid parema kemikaali ohutusprofiiliga aktivaatorkomplekse (nt gaalhape või karboksüülhapped raud(III)ioonide juuresolekul), mis on näidanud ka prolungeeritud efekti. Enne tootearendusprotsessi lõppu ja valmis toote registreerimist viiakse läbi veel mitmed uuringud: toote stabiilsuskatsed, sobiva pakendi valimine, materjalisobivuse hindamine.

ABSTRACT

Surface cleaning and disinfection have always been necessary, but in today's global health crisis, it is particularly essential for the prevention of infectious diseases, and therefore it is relevant to address the development of new disinfectants. Accordingly, the current study aimed to start the development of a disinfectant based on hydrogen peroxide.

The main task was to study different methods of hydrogen peroxide activation. The assessment of activation methods in terms of their efficacy was also among the general tasks. In all experiments, the deoxyribose method was used to detect the production of hydroxyl radicals, and the duration of the experiments varied from twenty minutes up to two weeks. The concentration of malondialdehyde was determined as the equivalent of hydroxyl radicals formed.

The aim was to find the most effective combination of substances that would effectively activate hydrogen peroxide, but at the same time, would have a prolonged effect. The experiments were performed with different activators: transition metals, phenolic compounds, carboxylic acids. The general emphasis was placed on pyrogallol, gallic acid, and oxalic acid and their combinations with iron(III)ions. In addition, the effects of additives, complexing agents, and surfactants on the activation of hydrogen peroxide were studied for some phenolic compounds and carboxylic acids. By the end of the laboratory testing period, the most effective hydrogen peroxide containing mixtures for further commercial product development were selected.

The main conclusions of this work:

1. The classical Fenton reaction acts as an activator of hydrogen peroxide, but its commercial application seems to be inexpedient due to its high reaction rate and the lack of long-term effect. Fenton-like process using Cu(II) and Ag(I) ions did not give the desired result under selected experimental conditions
2. Ascorbic acid activates hydrogen peroxide, increases the formation of hydroxyl radicals, but the process lasts about 2 hours, and there was no prolonged effect. The addition of iron(III)ions to the system multiplies the formation of hydroxyl radicals
3. Pyrogallol was the most effective activator of hydrogen peroxide of all the studied substances, the addition of iron(III)ions doubled the amount of hydroxyl radicals formed
4. The ability of gallic acid to activate hydrogen peroxide was lower than that of pyrogallol, but a prolonged effect could be observed. The addition of iron(III)ions also made the system more efficient

5. Carboxylic acids (lactic, oxalic acid) were able to activate hydrogen peroxide only in the presence of iron(III)ions, but the reaction may have been photoinduced
6. The complexing agents had a stronger inhibitory effect on the activation of hydrogen peroxide than the surfactants. The difference between the effects of the complexing agents and the surfactants disappeared when iron(III)ions were added to the system.

Based on the results obtained, combinations with pyrogallol in the presence of iron(III)ions proved to be the most effective activator of hydrogen peroxide. The next step in the product development is to determine the ratio of the optimal concentrations of the activator, i.e., pyrogallol or pyrogallol and iron (and additives), through microbiological testing. It is also planned to test other activator complexes with a better chemical safety profile (gallic acid or carboxylic acids in the presence of iron(III)ions) that also showed prolonged effect. Before the end of the product development process and registration of the finished product, several additional studies are to be carried out, e.g., product stability tests, selection of suitable packaging, assessment of material suitability.

KASUTATUD KIRJANDUS

99 Holding Sarl (2015). Activated hydrogen peroxide biocide compositions, WO2015104687.

99 Holding Sarl (2016). Disinfecting composition comprising silver ions and a quaternary salt, WO2016005922A1.

Abriouel, H., Lavilla Lerma, L., Pérez Montoro, B., Alonso, E., Knapp, C. W., Caballero Gómez, N., ... Benomar, N. (2018). Efficacy of "HLE"—a multidrug efflux-pump inhibitor—as a disinfectant against surface bacteria. *Environmental Research*, 165, 133–139.

Alakomi, H-L., Skyttä, E., Saarela, M., Mattila-Sandholm, T., Latva-Kala, K., & Helander, I. (2000). Lactic acid permeabilizes gram-negative bacteria by disrupting the outer membrane. *Applied and Environmental Microbiology*, 66(5), 2001 - 2005.

Antolovich, M., Prenzler, P. D., Patsalides, E., McDonald, S., & Robards, K. (2001). Methods for testing antioxidant activity. *The Analyst*, 127(1), 183–198.

Askenaizer, D. (2003). Drinking Water Quality and Treatment. Meyers, R. (Toim.), *Encyclopedia of Physical Science and Technology*, 651–671. Academic Press.

Barb, W.G., Baxendale, J.H., George, P., and Hargrave, K.R. (1949). Reactions of ferrous and ferric ions with hydrogen peroxide. *Nature*, 163, 692–694.

Block, S. S. (2001). Peroxygen compounds. Block, S. S., (Toim.), *Disinfection, Sterilization, and Preservation, 5th Edition*. Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins.

Bolobajev, J., Trapido, M., & Goi, A. (2015). Improvement in iron activation ability ofalachlor Fenton-like oxidation by ascorbic acid. *Chemical Engineering Journal*, 281, 566–574.

Brown, M. R. W. & Richards, R. M. E. (1965) Effect of ethylenediamine tetraacetate on the resistance of *Pseudomonas aeruginosa* to antibacterial agents. *Nature*, 20, 1391–1393.

Budavari, S. (1996). *The Merck Index - An Encyclopedia of Chemicals, Drugs, and Biologicals*. Whitehouse Station, NJ: Merck.

Cairo, G., Bernuzzi, F., & Recalcati, S. (2006). A precious metal: Iron, an essential nutrient for all cells. *Genes & Nutrition*, 1(1), 25–39.

Cheeseman, K. H., Beavis, A., & Esterbauer, H. (1988). Hydroxyl-radical-induced iron-catalysed degradation of 2-deoxyribose. Quantitative determination of malondialdehyde. *The Biochemical journal*, 252(3), 649–653.

Chen, R., & Pignatello, J. J. (1997). Role of Quinone Intermediates as Electron Shuttles in Fenton and Photoassisted Fenton Oxidations of Aromatic Compounds. *Environmental Science & Technology*, 31(8), 2399–2406.

Council of the European Union (2009). Council Recommendation of 9 June 2009 on patient safety, including the prevention and control of healthcare associated infections. *Official Journal of the European Union*, 151(1), 1–6.

Dai, C-M., Zhou, X-F., Zhang, Y-L., Duan, Y-P., Qiang, Z-M., Zhang, T. C. (2012). Comparative study of the degradation of carbamazepine in water by advanced oxidation processes. *Environmental Technology*, 33, 1101–1109.

DeBono, R., & Laitung, G. (1997). Phenolic household disinfectants — further precautions required. *Burns*, 23(2), 182–185.

Deshmukh, S. P., Patil, S. M., Mullani, S. B., & Delekar, S. D. (2018). Silver nanoparticles as an effective disinfectant: A review. *Materials Science and Engineering: C*, 97, 954-965

Digol International LTD (2003). Disinfecting compositions based on H₂O₂, acids and metal ions. US006660289B1

Elmagirbi, A., Sulistyarti, H., & Atikah, A. (2012). Study of Ascorbic Acid as Iron(III) Reducing Agent for Spectrophotometric Iron Speciation. *The Journal of Pure and Applied Chemistry Research*, 1(1), 11-17.

Euroopa Liidu Teataja (2012). Euroopa parlamendi ja nõukogu määrus nr 528/2012, [WWW] <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/ET/TXT/HTML/?uri=CELEX:02012R0528-20140425&rid=1> (09.12.20)

Falk, N. A. (2019). Surfactants as Antimicrobials: A Brief Overview of Microbial Interfacial Chemistry and Surfactant Antimicrobial Activity. *Journal of Surfactants and Detergents*, 22(5), 1119–1127.

Fenton, H. J. H. (1894). Oxidation of tartaric acid in presence of iron. *Journal of the Chemical Society*, 65, 899-910.

Freeman, D. E., & Auer, J. A. (2012). Instrument Preparation, Sterilization, and Antiseptics. *Equine Surgery*, 98–111.

Gottardi W. (2001). Iodine and iodine compounds. Block, S. S., (Toim.), *Disinfection, Sterilization, and Preservation, 5th Edition*. Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins.

Halliwell, B., Gutteridge, J. M. C., & Aruoma, O. I. (1987). The deoxyribose method: A simple "test-tube" assay for determination of rate constants for reactions of hydroxyl radicals. *Analytical Biochemistry*, 165(1), 215–219.

Han, Y. H., & Park, W. H. (2010). Pyrogallol-induced calf pulmonary arterial endothelial cell death via caspase-dependent apoptosis and GSH depletion. *Food and chemical toxicology: an international journal published for the British Industrial Biological Research Association*, 48(2), 558–563.

Hussain, S., Aneggi, E. & Goi, D. (2021). Catalytic activity of metals in heterogeneous Fenton-like oxidation of wastewater contaminants: a review. *Environ Chem Lett*, 19, 2405–2424.

Katzung, B. G., Masters, S. B., & Trevor, A. J. (2012). *Basic & clinical pharmacology*. New York: McGraw-Hill Medical.

Kelly, F., Mckay, C., Steed, B. H. (1991). Solutions for stabilizing hydrogen peroxide containing solutions, WO1991008981A2.

Kim, K., Lee, K., So, S., Cho, S., Lee, M., You, K., Moon, J., & Song, T. (2018). Fenton-like reaction between copper ions and hydrogen peroxide for high removal rate of tungsten in chemical mechanical planarization. *ECS Journal of Solid State Science and Technology*, 7(3), 91-95.

Kontoghiorghes, G. J., Kolnagou, A., Skiada, A., & Petrikkos, G. (2010). The Role of Iron and Chelators on Infections in Iron Overload and Non Iron Loaded Conditions: Prospects for the Design of New Antimicrobial Therapies. *Hemoglobin*, 34(3), 227–239.

Lambert, R. J., Hanlon, G. W., & Denyer, S. P. (2004). The synergistic effect of EDTA/antimicrobial combinations on *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of applied microbiology*, 96(2), 244–253.

Larson, E. L., Morton, H. E. (1991) Alcohols. Block, S. S., (Toim.), *Disinfection, Sterilization, and Preservation, 4th Edition*, 191-203. Philadelphia, Lea & Febiger.

Latimer, W. M. (1952). *Oxidation Potentials. 2nd Edition*. New York, Prentice-Hall.

- Li, W., & Wang, C. (2015). Biodegradation of gallic acid to prepare pyrogallol by *Enterobacter aerogenes* through substrate induction. *BioResources*, 10(2), 3027-3044.
- Li, X. (2013). Solvent effects and improvements in the deoxyribose degradation assay for hydroxyl radical-scavenging. *Food Chemistry*, 141(3), 2083–2088.
- Liang, T., Yue, W., & Li, Q. (2010). Comparison of the Phenolic Content and Antioxidant Activities of *Apocynum venetum* L. (Luo-Bu-Ma) and Two of Its Alternative Species. *International Journal of Molecular Sciences*, 11(11), 4452–4464.
- Linley, E., Denyer, S. P., McDonnell, G., Simons, C., & Maillard, J.-Y. (2012). Use of hydrogen peroxide as a biocide: new consideration of its mechanisms of biocidal action. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 67(7), 1589–1596.
- Lonza Inc. (2016). Activated disinfectant hydrogen peroxide compositions, US20160074549A1.
- McDonnell, G. E. (2007). Antisepsis, Disinfection, and Sterilization - Types, Action, and Resistance. *American Society for Microbiology (ASM)*.
- McDonnell, G. E., & Russell, A. D. (1999). Antiseptics and disinfectants: Activity, Action, and Resistance. *Clinical microbiology reviews*, 12(1), 147–179.
- McDonnell, G. E., & Russell, A. D. (2001). Antiseptics and Disinfectants: Activity, Action, and Resistance. *Clinical Microbiology Reviews*, 14(1), 227.
- Merritt, K., Hitchins, V. M., & Brown, S. A. (2000). Safety and cleaning of medical materials and devices. *Journal of biomedical materials research*, 53(2), 131–136.
- Moore, D. E. (1976). Antioxidant Efficiency of Polyhydric Phenols in Photooxidation of Benzaldehyde. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 65(10), 1447–1451.
- Nappi, A. J., & Vass, E. (2000). Hydroxyl radical production by ascorbate and hydrogen peroxide. *Neurotoxicity Research*, 2(4), 343–355.
- Navi, F., Motamedi, M., Fayaz, F., Shabani, M., Shams, A. (2014). Can 2% Hydrogen Peroxide-Silver be an Effective Natural Disinfectant in the Dental Office? *Journal of Oral Hygiene & Health*.
- Otter, J. A., Yezli, S., Perl, T. M., Barbut, F., & French, G. L. (2013). The role of “no-touch” automated room disinfection systems in infection prevention and control. *Journal of Hospital Infection*, 83(1), 1–13.

Oturan, M. A., Oturan, N., Edelahia, M. C., Podvoricac, F. I., El Kacemi, K. (2011). Oxidative degradation of herbicide diuron in aqueous medium by Fenton's reaction based advanced oxidation processes. *Chemical Engineering Journal*, 171, 127 –135.

Pavithra, K. & Vadivukkarasi, S. (2015). Evaluation of free radical scavenging activity of various extracts of leaves from *Kedrostis foetidissima* (Jacq.) Cogn., *Food Science and Human Wellness*.

Pham, A. (2012). Activation of Hydrogen Peroxide by Iron-Containing Minerals and Catalysts in Circumneutral pH Solutions: Implications for ex situ and in situ Treatment of Contaminated Water and Soil. *UC Berkeley*.

Pignatello, J., Oliveros, E. & MacKay, A. (2006) Advanced Oxidation Processes for Organic Contaminant Destruction Based on the Fenton Reaction and Related Chemistry, *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 36(1), 1-84.

Pozdnyakov, I. P., Wu, F., Melnikov, A. A., Grivin, V. P., Bazhin, N. M., Chekalin, S. V., & Plyusnin, V. F. (2013). Photochemistry of iron(III)-lactic acid complex in aqueous solutions. *Russian Chemical Bulletin*, 62(7), 1579–1585.

Prabu, S. L., Suriyaprakash, T. N. K., & Thirumurugan, R. (2013). Impact of Microbial Surface Contamination and Effective Environment Monitoring System in Pharmaceutical Manufacturing. *Developments in Surface Contamination and Cleaning*, 165–190.

Querido, M. M., Aguiar, L., Neves, P., Pereira, C. C., & Teixeira, J. P. (2019). Self-Disinfecting Surfaces and Infection Control. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 178, 8-21.

Ray, B., Sandine, W. E., (1992). Acetic, propionic, and lactic acids of starter culture bacteria as biopreservatives. Ray, B., Daeschel, M. (Toim.), *Food preservatives of microbial origin*, 103–136. Boca Raton, CRC Press.

Rice-Evans, C. A., Diplock, A. T. & Symons, M. C. R. (1991). Techniques in free radical research. Burdon, R. H., Knippenberg, P. H., (Toim.), *Laboratory techniques in biochemistry and molecular biology, volume 22*. Amsterdam, Elsevier.

Riebel, M., Sabel, A., Claus, H., Xia, N., Li, H., König, H., Decker, H., & Fronk, P. (2017). Antioxidant capacity of phenolic compounds on human cell lines as affected by grape-tyrosinase and Botrytis-laccase oxidation. *Food chemistry*, 229, 779–789.

Rutala, W. A., & Weber, D. J. (2013). Disinfectants used for environmental disinfection and new room decontamination technology. *American Journal of Infection Control*, 41(5), S36–S41.

Rutala, W. A., & Weber, D. J. (2014). Selection of the Ideal Disinfectant. *Infection Control & Hospital Epidemiology*, 35(07), 855–865.

Rutala, W. A., & Weber, D. J. (2019). Best practices for disinfection of noncritical environmental surfaces and equipment in health care facilities: A bundle approach. *American Journal of Infection Control*, 47, A96–A105.

Santos, A. L., Sodre, C. L., Valle, R. S., Silva, B. A., Abi-Chacra, E. A., Silva, L. V., Souza-Goncalves, A. L., Sangenito, L. S., Goncalves, D. S., Souza, L. O., Palmeira, V. F., d'Avila-Levy, C. M., Kneipp, L. F., Kellett, A., McCann, M., & Branquinha, M. H. (2012). *Antimicrobial Action of Chelating Agents: Repercussions on the Microorganism Development, Virulence and Pathogenesis*. *Current Medicinal Chemistry*, 19(17), 2715–2737.

Terviseamet (2020). Haiglanakkused, [WWW]
<https://www.terviseamet.ee/et/nakkushaigused-menuu/tervishoiutootajale/haiglanakkus> (08.12.20)

Tofant, A., Vučemilo, M., Pavičić, Ž., & Milić, D. (2006). The hydrogen peroxide, as a potentially useful slurry disinfectant. *Livestock Science*, 102(3), 243–247.

Toté, K., Vanden Berghe, D., Levecque, S., Bénéré, E., Maes, L., & Cos, P. (2009). Evaluation of hydrogen peroxide-based disinfectants in a new resazurin microplate method for rapid efficacy testing of biocides. *Journal of Applied Microbiology*, 107(2), 606–615.

Traverse, M., & Aceto, H. (2015). Environmental Cleaning and Disinfection. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 45(2), 299–330.

Van Lith, R., & Ameer, G. A. (2016). Antioxidant Polymers as Biomaterial. *Oxidative Stress and Biomaterials*, 251–296.

Virox Technologies Inc. (2004). Hydrogen peroxide disinfectant with increased activity, US006803057B2.

Virox Technologies Inc. (2015). Enhanced activity hydrogen peroxide disinfectant, US008999400B2.

- Virox Technologies Inc. (2015). Hydrogen peroxide-based skin disinfectant, US9198935B2.
- Virox Technologies Inc. (2016). Hydrogen peroxide disinfectant containing a cyclic carboxylic acid and/or aromatic alcohol, US009233180B2.
- Virox Technologies Inc. (2019). Shelf-stable hydrogen peroxide antimicrobial compositions, US010450535B2.
- Weber, D. J., Anderson, D., & Rutala, W. A. (2013). The role of the surface environment in healthcare-associated infections. *Current Opinion in Infectious Diseases*, 26(4), 338–344.
- WHO, (2009). WHO Guidelines on Hand Hygiene in Health Care, [WWW] https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/44102/9789241597906_eng.pdf;jsessionid=B8CB54F1C6C051571D7E7E82A56154EF?sequence=1 (08.12.20)
- Wickstrom, M. L. (2015). Overview of Antiseptics and Disinfectants, [WWW] <https://www.merckvetmanual.com/pharmacology/antiseptics-and-disinfectants/overview-of-antiseptics-and-disinfectants?redirectid=380> (12.12.20)
- Winterbourn, C. C. (1995). Toxicity of iron and hydrogen peroxide: the Fenton reaction. *Toxicology Letters*, 82-83, 969–974.
- Zhang, C., Brown, P. J. B., & Hu, Z. (2018). Thermodynamic properties of an emerging chemical disinfectant, peracetic acid. *Science of The Total Environment*, 621, 948–959.

LISAD

Lisa 1 Patenteeritud tehnoloogiad

Patent	Koostisaine	Sisaldus
HYDROGEN PEROXDE DISINFECTANT WITH INCREASED ACTIVITY US6803057B2 (Virox Technologies Inc., 2004)	Vesinikperoksiid	0,01-20 % w/w
	Fosforhape	0,05-8 % w/w
	Pindaktiivne aine	0,02-5 % w/w
	Korrosiooni inhibiitor	0,05-10 % w/w
	Alkohol, mis sisaldab ühte kuni kuut süsinikuaatomit	0,1-10 % w/w
SHELF - STABLE HYDROGEN PEROXIDE ANTIMICROBIAL COMPOSITIONS US10450535B2 (Virox Technologies Inc., 2019)	Vesinikperoksiid	1,5-8 % w/w
	Biogunenev anioonne pindaktiivne aine (alküülsulfoonhapped, alküül-arüülsulfoonhapped, alküülväävelhapped, sulfoonitunud karboksüülhapped ja sulfo-merevaikhapete alküül- või alkenüülestrid või diestrid ning nende leelismetalli, ammooniumi, kaltsiumi ja magneesiumi soolad)	10-25 % w/w
	Salitsüülhape või selle sool	1-8 % w/w
	Kelaativ aine (fosforhape, naatriumstanaat, EDTA, HEDTA, tertsiaarsed amiinipõhised kelaativad ained, fosfonaadil põhinevad kelaativad ained ja nende soolad)	0,005-10 %
	Sulfoonhape	1-15 % w/w
	Mitteioonne pindaktiivne aine	1-15 % w/w
	Glükokoleeter	10-30 % w/w
	Vesi	
ENHANCED ACTIVITY HYDROGEN PEROXDE DISINFECTANT US8999400B2 (Virox Technologies Inc., 2015)	Vesinikperoksiid	1,5-3 % w/w
	Anioonsed pindaktiivsed ained	0,02-2 % w/w
	Sidrunhape või äädikhape	0,05-1,5 % w/w
	Stabilisaator (1-hüdroksüetülideen-1,1-difosfoonhape, fosforhape, naatriumtripolüfosfaat)	
	Emulgaator	0,04-2 % w/w
	Vesi	

Patent	Koostisaine	Sisaldus
<p>HYDROGEN PEROXIDE DISINFECTANT CONTAINING A CYCLIC CARBOXYLIC ACID AND/OR AROMATIC ALCOHOL</p> <p>US9233180B2 (Virox Technologies Inc., 2016)</p>	Vesinikperoksiid	0,01-6 % w/w
	Bensüülalkohol	1,5-4 % w/w
	Anioonne pindaktiivne aine (alküülbenseensulfoonhape, C ₆ -C ₁₂ alküüldifenüülsulfonaat)	0,01-10 % w/w
	2-furaankarboksüülhape, salitsüülhape või bensoehape	0,01-8 % w/w
	Mitteioonne pindaktiivne aine (etoksüleeritud alkoholid, alküülglükosiidid)	0,005-3 % w/w
	Korrosiooni inhibiitor (1,2,3-benso- triasool, naatriummolübdaat, naatriumnitrit, naatriumvesinik- sulfaat, kromaadid, boraadid, fosfaadid)	0,001-15 % w/w
	Hüdrotroop (naatriumksüleen- sulfonaat, naatriumkumeensulfonaat või naatrium toluuensulfonaat)	0,01-15 % w/w
	Solvent (glükoolid, glükooleetrid, n- butanool, n-butüülatsetaat, diiso- butüülketoon, isobutanool, iso- butüülatsetaat, veevaba isopropa- nool, isopropüülatsetaat, metüül- isobutüül ketoon, n-propanool, n- propüülatsetaat, etanool, glütseriin)	0,1-20 % w/w
	Katioone eraldav aine (nt 1- hüdroksüetülideen-1,1- difosfoonhape)	0,01-6 % w/w
Vesi		
<p>ACTIVATED HYDROGEN PEROXIDE BIOCIDIC COMPOSITION</p> <p>WO2015104687 (99 Holding Sarl, 2015)</p>	Kvaternaarsed ammoniumsoolad C ₁ -C ₂₂ alküül- ja/või arüülrühmadega	0,05-2 g/kg
	Vesinikperoksiid	10-79 g/kg
	Fosfaat- ja/või vesinikfosfaat- ja/või fosfonaatioonid	0,04-0,8 g/kg
	C ₁₀ -C ₁₈ etoksüülitud ja/või propoksüleeritud alkoholid	0,05-2,0 g/kg
	Vesi	kuni 1 kg
	Fosforhape	kuni pH 2-3

Patent	Koostisaine	Sisaldus
HYDROGEN PEROXIDE-BASED SKIN DISINFECTANT US9198935B2 (Virox Technologies Inc., 2015)	Vesinikperoksiid	0,01-4 % w/w
	Pindaktiivne aine (alküülbetaiin, alküülamidopropüülbetaiin, alküülamidopropüülbetainamiid, alküülsulfobetain)	0,01-15 % w/w
	Stabilisaator (fosforhape, fosfoohape, EDTA, HEDTA, bensoehape, sidrunhape)	0,01-4 % w/w
	Tsükliline karboksüülhape või nende sool	0,01-4 % w/w
	Glütseriin, glütseriidid, sorbitool, katioonsed polümeerid, lanoliin või tsetüülalkohol	0,01-10 % w/w
	Vesi	
DISINFECTING COMPOSITION COMPRISING SILVER IONS AND A QUATERNARY SALT WO2016005922A1 (99 Holding Sarl, 2016)	Hõbeioonid (nt hõbenitrat)	20-200 mg/kg
	Kvaternaarsed ammooniumsoolad	0,1-5 g/kg
	Vesinikperoksiid	20-100 g/kg
	Alkohol C ₁ -C ₄ (nt isopropüülalkohol)	1-50 g/kg
	Alifaatsed ja/või aromaatsed orgaanilised happed (nt sidrunhape)	0-500 mg/kg
	Kompleksimoodustajad (nt EDTA)	100-500 mg/kg
	Etoksüülitud ja/või propoksüleeritud alkoholid	100-600 mg/kg
	Deioniseeritud vesi	Kuni 1 kg
	Fosforhape	Kuni pH 1-5
DISINFECTING COMPOSITION BASED ON H ₂ O ₂ , ACIDS AND METAL IONS US006660289B1 (Digol International LTD, 2003)	Vesinikperoksiid	7,5-7,9 % w/w
	CH ₃ -CO ₃ H + CH ₃ CO ₂ H segu	4,5-4,8 % w/w
	Kombinatsioon Ag ⁺ ionidest koos Ag ^{II} , Ag ^{III} , V ^V , Nb ^V , Ta ^V , Mo ^{VI} , W ^{VI} , Co ^{III} , In ^{III} või Tl ^{III} ionidega	0,005-0,01 % w/w
	H ₃ PO ₄ või püridiinkarboksüülhape	0,0005-0,01 % w/w
	Pindaktiivne aine	0,0075-0,04 % w/w
	Korrosiooni inhibiitor	0,003-0,04 % w/w
	Vesi	

Patent	Koostisaine	Sisaldus
<p>ACTIVATED DISINFECTANT HYDROGEN PEROXDE COMPOSITIONS</p> <p>US20160074549A1</p> <p>(Lonza Inc., 2016)</p>	Vesinikperoksiid	2-7 % w/w (kontsentraadis) 0,1-1, 5% w/w (kasutusvalmis lahuses)
	Mittepindaktiivne orgaaniline sulfoonhape või selle sool	3-15 % w/w (kontsentraadis) 0,5-3 % w/w (kasutusvalmis lahuses)
	Mitteioonine pindaktiivne aine	2-5 % w/w (kontsentraadis) 0,06-1 % w/w (kasutusvalmis lahuses)
	Karboksüülhape (nt äädik-, propioon-, või-, pentaan-, heksaan-, oktaan-, merevaik-, sidrun-, oblik-, viin-, glutaar-, adipiin-, bensoe-, ftaalhape ja nende segud) või mineraalhape (nt fosfor-, väävel-, vesinikkloriidhape)	Karboksüülhape: 1-5 % w/w (kontsentraadis), 0,1-5 % w/w (kasutusvalmis lahuses) Mineraalhape: 0,2-5 % w/w (kontsentraadis), 0,01–0,3 % w/w (kasutusvalmis lahuses)
	Kvaternaarne ammooniumsool (nt didetsüüldimetüülammooniumkloriid (DDAC) ja alküüldimetüülbensüülammooniumkloriid)	0,1-10 % w/w (kontsentraadis) 0,01-2 % w/w (kasutusvalmis lahuses)
	Stabilisaatorid ja kelaatijad (nt fosforhape, HEDP, NaH ₂ PO ₄ , hõbevesiniktsitrat, difosfoonhape, EDTA, HEDTA, sidrunhape, NTA, HEIDA, DTPA, tsitratsoolad, HEDP)	0,1-1 % w/w (kontsentraadis)
	Pindaktiivne aine (nt naatriumdodetsüülsulfaat)	0,5-5 % w/w (kontsentraadis)
	Korrosiooni inhibiitor (nt boraadid, fosfaadid, polüfosfaadid, naatriumbensoaat, -glükonaat, -silikaat, -molübdaat, -vesiniksulfaat, benso-triasool või nende segud)	0,1-1 % w/w