

Herrn
Prof. Dr. Laatsch
Institut für Organische Chemie
Tammannstr. 2

37077 Göttingen

Ihre Zeichen	Ihre Nachricht	Unsere Zeichen	Hausruf	Telefax	Datum
		94 175 PV PAT/Dr.Bi-gs	2969	4304	03.06.1996

**Patentanmeldung in Deutschland P 44 30 327.0-41
„Enzymatische, aktiven Sauerstoff liefernde Mischung sowie Verfahren zur
enzymatischen Herstellung von Persäuren“**

Sehr geehrter Herr Prof. Laatsch,

wir bitten Sie, davon Kenntnis zu nehmen, daß auf die obengenannte
Patentanmeldung am

09.05.1996

ein Patent unter der Nr.

44 30 327

erteilt worden ist.

Mit freundlichen Grüßen

D e g u s s a A G

i. V. 

Dr. Binder

Anlage

Degussa AG Zweigniederlassung Wolfgang	 Postfach 13 45 D-63403 Hanau	 Rodenbacher Chaussee 4 D-63457 Hanau-Wolfgang	Telefon (0 61 81) 59-0	Telefax (0 61 81) 59-30 30	Telex 4 15 200-0 dw d	Telegramme Degussawolfgang Hanau	Degussa Bank, Frankfurt am Main (BLZ 500 107 00) 390 000 SWIFT: DEGU DE FF
--	--	---	------------------------------	----------------------------------	-----------------------------	--	--



19 BUNDESREPUBLIK
DEUTSCHLAND



DEUTSCHES
PATENTAMT

12 Patentschrift
10 DE 44 30 327 C 1

51 Int. Cl.⁶:
C 12 P 7/40
C 12 N 9/08
C 07 C 407/00
C 07 C 409/24
// (C12N 9/08, C12R
1:485) (C12N 9/08,
C12R 1:38) C11D
3/395, C07C 409/26

21 Aktenzeichen: P 44 30 327.0-41
22 Anmeldetag: 27. 8. 94
43 Offenlegungstag: —
45 Veröffentlichungstag
der Patenterteilung: 9. 5. 96

DE 44 30 327 C 1

Innerhalb von 3 Monaten nach Veröffentlichung der Erteilung kann Einspruch erhoben werden

73 Patentinhaber:
Degussa AG, 60311 Frankfurt, DE

72 Erfinder:
Pée, Karl-Heinz, van, 01309 Dresden, DE; Hecht,
Hans-Jürgen, 38726 Braunschweig, DE; Berkessel,
Albrecht, 68535 Edingen, DE; Schrapel, Thomas,
37120 Bovenden, DE; Laatsch, Hartmut, 37077
Göttingen, DE

56 Für die Beurteilung der Patentfähigkeit
in Betracht gezogene Druckschriften:

US 53 58 860
US 52 96 161
EP 4 23 890 A2

HAAG, T., et. al., Angew. Chemie 103, 1991,
S. 1550-2;

54 Enzymatische, aktiven Sauerstoff liefernde Mischung sowie Verfahren zur enzymatischen Herstellung von Persäuren

57 Die Erfindung betrifft eine enzymatische, aktiven Sauerstoff liefernde Mischung sowie ein Verfahren zur enzymatischen Herstellung von Persäuren.
Erfindungsgemäß besteht die Mischung aus bakterieller Nicht-Häm-Haloperoxidase, einer Peroxidquelle und einer organischen Säure oder deren Salz und wird in wäßriger Lösung angewandt. Bevorzugte Mischungen enthalten Chlorperoxidase oder Bromperoxidase, Essigsäure oder Propionsäure und Wasserstoffperoxid.
Die Herstellung organischer Persäuren erfolgt erfindungsgemäß derart, daß in Anwesenheit einer Nicht-Häm-Haloperoxidase und Wasserstoffperoxid oder Peroxidverbindungen organische Säuren oder deren Salze in wäßriger Lösung bei einem pH-Wert von 3,5 bis 6,0 und bei Temperaturen zwischen 15 und 80°C zu organischen Persäuren umgewandelt werden.
Erfindungsgemäße Mischungen können Anwendung als Oxidationsmittel zur Herstellung chemischer Verbindungen sowie in Bleich- und Waschmitteln finden.

DE 44 30 327 C 1

Beschreibung

Die Erfindung betrifft eine enzymatische, aktiven Sauerstoff liefernde Mischung sowie ein Verfahren zur enzymatischen Herstellung von Persäuren. Enzymatische, aktiven Sauerstoff liefernde Mischungen finden Anwendung bei Oxidationsreaktionen zur Herstellung chemischer Verbindungen. Derartige Mischungen sind aber auch als oxidative Bleichmittel in Waschmittelzusammensetzungen wirksam. Das erfindungsgemäße Verfahren ist insbesondere bei der Synthese organischer Verbindungen anwendbar, bei denen die in situ gebildete Persäure als oxidierender Reaktionspartner teilnimmt.

Bekannt ist die chemische Persäureherstellung, die über die Umsetzung von Säureanhydriden und Säurehalogeniden mit Wasserstoffperoxid erfolgt. Technisch lassen sich Persäuren aus Carbonsäuren und Wasserstoffperoxid in Gegenwart von Mineralsäuren herstellen. Die Persäuren sind außerordentlich instabil. Bei Erhitzen können derartige Verbindungen ohne Vorwarnung explodieren.

Auch wenn die hohe Reaktivität organischer Persäuren bekannt und für viele chemische Reaktionen von Vorteil ist, fanden bislang im wesentlichen Natriumperborate als Bleichmittel in Waschmitteln Anwendung. Aus der US-PS 52 96 161 ist ein Verfahren bekannt, das ausgehend von der enzymatischen Aktivität von Esterasen — katalytisch Ester zu verseifen — diese Wirkung nutzt, um organische Persäuren in Lösung herzustellen und deren sauerstoffbildende Aktivität beispielsweise für Bleichprozesse zu nutzen. Dabei werden in Gegenwart von Esterasen und Lipasen Fettsäureester definierter Struktur enzymatisch unter Bildung von Persäuren gespalten. Aufgrund der Anwendung von Fettsäureestern erfordern derartige Systeme jedoch zusätzliche Emulgatoren, um das System in Lösung bzw. Suspension zu halten und dadurch die enzymatische Reaktion zu ermöglichen. Unabhängig dessen, daß bei diesem System nach Verbrauch bzw. Reaktion der Reaktionskomponenten ökologisch schwer abbaubare Produkte entstehen können, setzt dieses System zunächst eine aufwendige Synthese definierter Verbindungen — hier Glyceridverbindungen — voraus. Zum anderen entwickeln sich hier längerkettenige Persäuren, deren Reaktivität gegenüber niederkettigen organischen Persäuren vermindert ist. Eingeschränkt ist auch der Temperaturbereich derartiger enzymatischer Systeme, was deren Anwendung als Bleichmittel, beispielsweise bei Voll- und Kaltwaschmitteln begrenzt.

Bedingt durch die hohe Reaktivität niederkettiger organischer Persäuren, sind solche Verbindungen bevorzugt Reaktionspartner in der Synthese organischer Verbindungen. Die Anwendung von Persäuren war aufgrund der Reaktivität bislang aber auf die laborchemische Synthese beschränkt. Auch die enzymatische Synthese nach US-PS 52 96 161 erlaubt nicht die gezielte Herstellung reaktiver, niederkettiger organischer Persäuren und ist aufgrund der beteiligten, spezifischen Reaktionspartner in ihrem Einsatzbereich bei der Synthese organischer Verbindungen eingeschränkt.

Aufgabe der Erfindung ist es, in einfacher Weise enzymatisch organische Persäuren herzustellen und eine Mischung als Lieferant aktiven Sauerstoffs für die unterschiedlichsten Anwendungen bereitzustellen.

Erfindungsgemäß besteht die enzymatische, aktiven Sauerstoff liefernde Mischung aus

- bakterieller Nicht-Häm-Haloperoxidase
- einer Peroxidquelle und
- einer organischen Säure oder deren Salz,

wobei die Mischung in wäßriger Lösung angewandt wird.

Bei flüssiger Form der Mischungskomponenten wird die Peroxidquelle getrennt von den anderen Komponenten aufbewahrt.

Dadurch, daß sich das erfindungsgemäße Enzym gefriertrocknen und bei Raumtemperatur auch über längere Zeiten aufbewahren läßt, kann das Enzym z. B. in Verbindung mit Natriumacetat und Natriumperborat in einer Feststoffmischung angewandt werden.

Bei Anwendung der erfindungsgemäßen Mischung in wäßriger Lösung katalysiert die bakterielle Nicht-Häm-Haloperoxidase die Umwandlung der organischen Säure in Persäure unter Beteiligung der Peroxidquelle.

Als bakterielle Nicht-Häm-Haloperoxidasen werden Chlorperoxidase oder Bromperoxidase und als organische Säure Essigsäure, Propionsäure oder Milchsäure bzw. deren Salze eingesetzt. Als Peroxidquelle wird vorzugsweise Wasserstoffperoxid oder Natriumperborat genutzt.

Die angewandte Enzymmenge ist abhängig vom Volumen des Gesamtsystems und beträgt vorzugsweise pro 0,15 bis 50 μmol Wasserstoffperoxid und pro 100 μmol Säure oder Salz 8 bis 16 μU Enzym. Wird statt Wasserstoffperoxid eine andere Peroxidquelle eingesetzt, beispielsweise Natriumperborat, bezieht sich die einzusetzende Menge auf das daraus freigesetzte Wasserstoffperoxid. Die Enzymeinheit U bezeichnet die Enzymmenge, die ein μmol Substrat pro Minute umsetzt.

Der pH-Bereich der erfindungsgemäßen Mischung wird durch die beteiligte organische Säure oder deren Salze im Bereich 3,5 bis 6 gepuffert. Die Anwendungstemperatur der erfindungsgemäßen Mischung kann je nach verwendetem Enzym zwischen 20 und 80° C liegen.

Bei den erfindungsgemäßen bakteriellen Nicht-Häm-Haloperoxidasen handelt es sich um eine Klasse von Enzymen, die weder Metallionen noch andere Co-Faktoren enthalten. Überraschend hat sich gezeigt, daß derartige Enzyme, bislang als Oxidoreduktasen bezeichnet, selbst keine Oxidationsreaktion katalysieren, sondern durch Hydrolyse eines Serinesters in Verbindung mit Wasserstoffperoxid Persäuren bilden, die dann als oxidierendes Agens wirken. Der Serinester entsteht dabei durch Reaktion der organischen Säure mit einem Serinrest im aktiven Zentrum des Enzyms.

Die erfindungsgemäß verwendeten bakteriellen Haloperoxidasen sind durch Klonierung der Gene und Überexpression leicht in großen Mengen darstellbar. Sie gehören zu den Haloperoxidasen, die in Gegenwart von Wasserstoffperoxid und Halogenidionen die Halogenierung geeigneter organischer Substrate katalysieren.

Die erfindungsgemäßen bakteriellen Nicht-Häm-Haloperoxidasen sind dadurch charakterisiert, daß sie im Gegensatz zu den hämhaltigen Haloperoxidasen keine Häm-Gruppe als prosthetische Gruppe und im Gegensatz zu den eukaryontischen Nicht-Häm-Haloperoxidasen auch keine Metallionen enthalten.

Als organische Säuren werden vorzugsweise leicht und wirtschaftlich herstellbare organische Säuren oder deren Salze, wie z. B. Essigsäure oder Propionsäure oder Milchsäuren oder deren Salze eingesetzt.

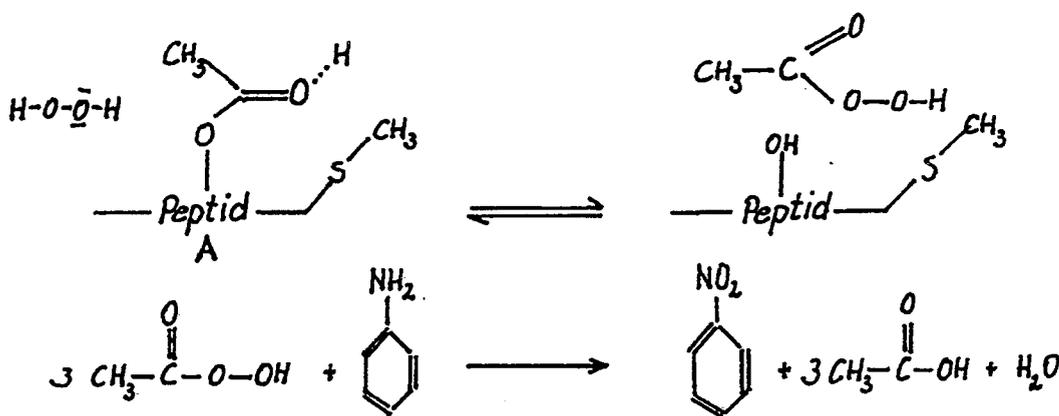
Die erfindungsgemäße Mischung läßt sich aufgrund ihrer oxidativen Wirkung verschiedentlich anwenden, z. B. in der Synthese organischer Verbindungen, oder generell als Oxidationsreagenz, beispielsweise als Bleichmittel.

Erfindungsgemäß wird das Verfahren zur enzymatischen Herstellung organischer Persäuren so geführt, daß bakterielle Nicht-Häm-Haloperoxidasen verschiedenen Ursprungs in Gegenwart von Wasserstoffperoxid, einer organischen Säure oder deren Salze bei einem pH-Wert von 3,5 bis 6,0 und bei Temperaturen zwischen 15 und 80°C die Bildung der organischen Persäure katalysieren. Verwendet man in diesem Prozeß Essigsäure, bildet sich in situ als Reaktionsprodukt Peressigsäure, bei Verwendung von Propionsäure oder Milchsäure analog Perpropionsäure oder Permilchsäure.

Als bakterielle Nicht-Häm-Haloperoxidase werden Chlorperoxidase oder Bromperoxidase, als Peroxidverbindung Wasserstoffperoxid oder Natriumperborat und als organische Säure Essigsäure oder Propionsäure oder Milchsäure oder deren Salze eingesetzt. Der Anteil Nicht-Häm-Haloperoxidase beträgt vorzugsweise pro 0,15 bis 50 µmol Wasserstoffperoxid und pro 100 µmol Säure oder Salz 8 bis 16 µU Nicht-Häm-Haloperoxidase. Wird statt Wasserstoffperoxid Natriumperborat eingesetzt, bezieht sich die einzusetzende Menge auf das daraus freigesetzte Wasserstoffperoxid.

Die nach dem erfindungsgemäßen Verfahren hergestellte Persäure ist außerordentlich reaktiv. Sie oxidiert Verbindungen oder zersetzt sich unter Bildung von aktivem Sauerstoff und freier Säure. Der aktive Sauerstoff kann damit als Reaktionspartner genutzt werden. Über derartige Oxidationsreaktionen läßt sich auch die in situ gebildete Persäure nachweisen, beispielsweise durch Oxidation von Anilin zu Nitrobenzol. In Gegenwart von Halogenidionen werden diese in situ oxidiert und bei Anwesenheit von für die elektrophile Substitution geeigneten Substraten kommt es zu Halogenierungsreaktionen. Unabhängig dessen, daß sich über die vorgenannten Oxidationsreaktionen die in situ gebildeten Persäuren nachweisen lassen, zeigen diese Beispiele ein vorteilhaftes Anwendungsgebiet des erfindungsgemäßen Verfahrens bei der Synthese organischer Verbindungen.

Die enzymatische Bildung der organischen Persäure durch die an der erfindungsgemäßen Lösung beteiligten bakteriellen Nicht-Häm-Haloperoxidasen erklärt sich auch aus dem nachfolgend aufgeführten Reaktionsmechanismus:



Essigsäure wird enzymatisch über Esterbindung an das Enzym A gebunden. Dabei spaltet das an der Reaktion beteiligte Wasserstoffperoxid die Esterbindung und unter Einlagerung von Sauerstoff entsteht freie Peressigsäure. Diese freie Peressigsäure kann dann wie oben angeführt, beispielsweise Anilin zu Nitrobenzol oxidieren.

Als Bleichmittelzusatz, beispielsweise in Waschmitteln angewendet, reagieren die in situ gebildeten Persäuren durch Oxidation mit Farb- bzw. Schmutzstoffen.

Anhand nachfolgender Ausführungsbeispiele soll die Erfindung näher erläutert werden.

Das Gen der Bromperoxidase A2 aus *Streptomyces aureofaciens* ATCC 10762 sowie auch die Überexpression mit anschließender Reinigung ist im J. Gen. Microbiol. 138, S. 1123 bis 1131 (1992) beschrieben. Die Reinigungen der beiden Bromperoxidasen A1 und A2 aus *S. aureofaciens* ATCC 10762 sind in J. Gen. Microbiol. 137, S. 2539 bis 2546 (1992) veröffentlicht.

Die Reinigungen der Chlorperoxidasen von *Streptomyces aureofaciens* Tü 24 und *Pseudomonas pyrocinia* finden sich im Biol. Chem. Hoppe-Seyler 368, S. 1225 bis 1232 (1987) bzw. J. Biol. Chem. 263, S. 13725 bis 13732 (1988). Die Klonierung der Gene, die Überexpression und die neuen, vereinfachten Reinigungsverfahren sind in J. Bacteriol. 170, S. 5890 bis 5894 (1988) bzw. Gene 130, S. 131 bis 135 (1993) beschrieben.

Die dreidimensionale Struktur der Bromperoxidase A2 ist aufgeklärt (siehe Hecht et al., 1994).

Ausführungsbeispiel 1

Enzymatische, aktiven Sauerstoff liefernde Mischung unter Beteiligung von Chlorperoxidase

Die Mischung besteht aus

- 0,5 mg Chlorperoxidase aus *Streptomyces aureofaciens* TÛ 24 gelöst in Wasser
- 4 ml 1 M Natriumacetat-Puffer pH 4,0 und
- 15,7 µl (152 µmol) H₂O₂ (30%ig).

Vor Reaktion wird die Wasserstoffperoxidlösung getrennt von den anderen Komponenten gelagert. Diese Mischung soll nachfolgend für die Oxidation von Thioanisol zum entsprechenden Sulfoxid verwendet werden.

Dazu werden zu 4 ml 1 M Natriumacetat-Puffer pH 4,0 und 1 ml 1,4-Dioxan 11,8 µl Thioanisol und 15,7 µl H₂O₂ 30%ig gegeben. Dieser Lösung werden 0,5 mg Chlorperoxidase aus *Streptomyces aureofaciens* TÛ 24 zugefügt und die Reaktion für 78 min bei 22 °C inkubiert. Als alleiniges Produkt wurde zu 100% das Sulfoxid erhalten.

Ausführungsbeispiel 2

Enzymatische, aktiven Sauerstoff liefernde Mischung unter Beteiligung von Bromperoxidase

Die Mischung besteht aus

- 1 ml 0,1 M Natriumacetat, pH 5,5
- 100 µl 0,03% H₂O₂-Lösung
- 0,3 µg Bromperoxidase aus *Streptomyces aureofaciens* ATCC 10762.

Bis zur Reaktion wird die Wasserstoffperoxidlösung getrennt von den anderen Mischungskomponenten gelagert. Anhand einer Bromierungsreaktion von Monochlordimedonlösung soll die Anwendung der vorbenannten Mischung beschrieben werden:

Dazu werden zu 1 ml 0,1 M Natriumacetat pH 5,5 10 µl 4,8 mM Monochlordimedonlösung in Ethanol und 100 µl 0,03% H₂O₂-Lösung gegeben. Dieser Lösung werden 0,3 µg Bromperoxidase aus *Streptomyces aureofaciens* ATCC 10762 sowie 100 µl 1 M Natriumbromidlösung zugefügt.

In dieser Lösung katalysiert die Bromperoxidase die Umwandlung von Natriumacetat in Peressigsäure. Die gebildete Peressigsäure reagiert dann weiter mit dem Natriumbromid. Dadurch wird das Bromidion oxidiert und es kommt zur vollständigen Bromierung des eingesetzten Monochlordimedons innerhalb von 10 min.

Ausführungsbeispiel 3

Enzymatisch, aktiven Sauerstoff liefernde Mischung unter Beteiligung von Chlorperoxidase

Die Mischung besteht analog Ausführungsbeispiel 2 aus

- 1 ml 0,1 M Natriumacetat, pH 5,5
- 100 µl 0,03% H₂O₂-Lösung
- 0,3 µg Chlorperoxidase aus *Pseudomonas pyrocinia*.

Bis zur Reaktion werden die Mischungskomponenten getrennt voneinander gelagert. Analog Ausführungsbeispiel 2 wird diese Mischung zur Bromierung einer Monochlordimedonlösung angewandt.

In der nachfolgenden Tabelle ist die Abhängigkeit der bromierenden Aktivität der Chlorperoxidase aus *Pseudomonas pyrocinia* von der Temperatur aufgeführt:

Tabelle 1

°C	% Aktivität
20	30
30	50
40	70
50	90
60	100
70	50

Tabelle 1 zeigt die Enzymaktivität über einen weiten Temperaturbereich, wobei bei 40 bis 70°C gute und bei 60°C die besten Ergebnisse erzielt werden.

Ausführungsbeispiel 4

Verfahren zur Herstellung von Peressigsäure

19 µg Chlorperoxidase werden in 1 ml 1M Natriumacetat, pH 4,0 gelöst und mit 5 µl 30% H₂O₂-Lösung

versetzt und für 50 min. bei 30°C inkubiert. Die dabei entstehende Peressigsäure wird anhand der Oxidationsreaktion von 2-Chloranilin zu 2-Nitrochlorbenzol nachgewiesen.

Nachfolgende Tabellen geben Reaktionsergebnisse bei unterschiedlichen Mengen der Reaktionspartner Acetat und Wasserstoffperoxid wieder.

Tabelle 2

2-Nitrochlorbenzolbildung in Abhängigkeit unterschiedlicher H₂O₂-Konzentrationen

H ₂ O ₂ -Anteil	Reaktionsprodukt
110 mM H ₂ O ₂	95 mg 2-Nitrochlorbenzol
176 mM H ₂ O ₂	160 mg 2-Nitrochlorbenzol
220 mM H ₂ O ₂	200 mg 2-Nitrochlorbenzol
330 mM H ₂ O ₂	230 mg 2-Nitrochlorbenzol
440 mM H ₂ O ₂	240 mg 2-Nitrochlorbenzol

Tabelle 3

2-Nitrochlorbenzolbildung in Abhängigkeit unterschiedlicher Acetatkonzentrationen

Acetat-Konzentration	Reaktionsprodukt
20 mM Acetat	30 mg 2-Nitrochlorbenzol
100 mM Acetat	120 mg 2-Nitrochlorbenzol
200 mM Acetat	180 mg 2-Nitrochlorbenzol
500 mM Acetat	240 mg 2-Nitrochlorbenzol
1000 mM Acetat	240 mg 2-Nitrochlorbenzol

Tabellen 2 und 3 zeigen eine Abhängigkeit sowohl von der Konzentration von Wasserstoffperoxid als auch von Acetat. Acetatgehalte bis zu 500 mM führen zu erhöhter Persäureproduktion.

Patentansprüche

1. Enzymatische, aktiven Sauerstoff bildende Mischung in trockener oder flüssiger Form, dadurch gekennzeichnet, daß die Mischung aus

- bakterieller Nicht-Häm-Haloperoxidase,
- einer Peroxidquelle und
- einer organischen Säure oder deren Salz besteht,

und in wäßriger Lösung angewandt wird.

2. Mischung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die Mischung aus

- in Wasser gelöster bakterieller Nicht-Häm-Haloperoxidase
- Wasserstoffperoxidlösung
- einer wäßrigen Lösung einer organischen Säure oder deren Salz besteht,

wobei bis zur Anwendung dieser Mischung die Wasserstoffperoxidlösung getrennt von den anderen Komponenten aufbewahrt wird.

3. Mischung nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, daß als bakterielle Nicht-Häm-Haloperoxidase Chlorperoxidase oder Bromperoxidase als organische Säure Essigsäure oder Propionsäure oder Milchsäure oder deren Salze und als Peroxidquelle Wasserstoffperoxid oder Natriumperborat eingesetzt werden.

4. Mischung nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, daß der Anteil bakterieller Nicht-Häm-Haloperoxidase pro 0,15 bis 50 µmol Wasserstoffperoxid und pro 100 µmol Säure oder deren Salz 8 bis 16 µU beträgt.

5. Mischung nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, daß der Anteil bakterieller Nicht-Häm-Haloperoxidase bei Einsatz von Natriumperborat 8 bis 16 µU pro 0,15 bis 50 µmol in Lösung freigesetztem Wasserstoffperoxid beträgt.

6. Verfahren zur Herstellung von organischen Persäuren, dadurch gekennzeichnet, daß in Anwesenheit bakterieller Nicht-Häm-Haloperoxidase und Wasserstoffperoxid oder Peroxidverbindungen organische Säuren oder deren Salzen in wäßriger Lösung bei einem pH-Wert von 3,5 bis 6,0 und bei Temperaturen zwischen 15 und 80°C zu organischen Persäuren umgewandelt werden.

7. Verfahren nach Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, daß als bakterielle Nicht-Häm-Haloperoxidase Chlorperoxidase oder Bromperoxidase, als Peroxidverbindung Natriumperborat und als organische Säure Essigsäure oder Propionsäure oder Milchsäure oder deren Salze eingesetzt werden.

8. Verfahren nach Anspruch 6 oder 7, dadurch gekennzeichnet, daß pro 0,15 bis 50 µmol Wasserstoffperoxid und pro 100 µmol Säure oder Salz 8 bis 16 µU Nicht-Häm-Haloperoxidase eingesetzt werden.

9. Verfahren nach Anspruch 6 oder 7, dadurch gekennzeichnet, daß bei Einsatz von Natriumperborat 8 bis 16 μ U Nicht-Häm-Haloperoxidase pro 0,15 bis 50 μ mol in Lösung freigesetztem Wasserstoffperoxid eingesetzt werden.

5

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65