

**Hygienisierung  
von aufbereitetem Prozesswasser  
aus der Lebensmittelherstellung**

Von der Fakultät für Naturwissenschaften  
Department Chemie  
der Universität Paderborn

zur Erlangung des Grades  
eines Doktors der Naturwissenschaften

**-Dr. rer. nat.-**

genehmigte Dissertation

**von  
Martin Droll**

aus  
Schlangen

Paderborn, 2008



1. Referent: Prof. Dr.-Ing. H.-J. Warnecke
2. Referent: Prof. Dr. M. Grote

Eingereicht am 19.08.2008

Tag der mündlichen Prüfung: 19.09.2008



Herrn Prof. Dr.-Ing. H.-J. Warnecke danke ich für die interessante Themenstellung, das große Vertrauen in meine Arbeit, die vielen anregenden Herausforderungen sowie die finanzielle und personelle Unterstützung, die den Erfolg dieser Arbeit erst ermöglichte.

Herrn Prof. Dr. M. Grote danke ich für die freundliche Übernahme des Korreferats.

Bei Dr. Andrea Vockel und Dr. Mike Bobert möchte ich mich für die vielen interessanten Anregungen, Diskussionen und die sehr hilfreichen Anmerkungen zu meiner Arbeit bedanken.

Markus Voigt gilt mein Dank für die Unterstützung im Bereich Rechnerwesen und Datenbearbeitung sowie für die vielen intensiven Fachgespräche am Freitagabend nach Dienstschluss.

Marlies Daniels danke ich für die schnelle Einweisung in die Probenaufarbeitung für die mikrobiologische- und die FT-IR-Analytik.

Ich möchte mich auch bei allen anderen Kollegen und Kolleginnen in der Technischen Chemie und chemischen Verfahrenstechnik an der Universität Paderborn bedanken, die mich in irgendeiner Form unterstützt haben.

Herrn Prof. Dr.-Ing. N. Rübiger und den Mitarbeitern des Institutes für Umweltverfahrenstechnik der Universität Bremen danke ich für die zuverlässige Zusammenarbeit. Ganz besonders möchte ich mich bei Sandra Manske bedanken. Ich konnte mich immer auf ihre Unterstützung, Freundlichkeit und ihre Probensendungen verlassen.

Meinen Eltern möchte ich abschließend für die Unterstützung und das Vertrauen den größten Dank aussprechen.



---

# INHALTSVERZEICHNIS

<b>1</b>	<b>EINLEITUNG, PROBLEMSTELLUNG UND ZIELSETZUNG.....</b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>THEORETISCHE GRUNDLAGEN.....</b>	<b>5</b>
<b>2.1</b>	<b>Mikroorganismen .....</b>	<b>5</b>
2.1.1	Definition von Mikroorganismen .....	5
2.1.2	Klassifizierung und Eigenschaften von Mikroorganismen.....	6
2.1.3	Osmotischer Druck und Osmoregulation.....	9
2.1.4	Endotoxine und Exotoxine.....	10
2.1.5	Biofilme .....	10
<b>2.2</b>	<b>Identifikation von biogenem Potenzial.....</b>	<b>12</b>
2.2.1	Mikrobiologische Identifizierungsmethoden nach der TVO .....	12
2.2.2	Alternativverfahren zur Detektion von Mikroorganismen.....	15
<b>2.3</b>	<b>Rechtliche Aspekte - Trinkwasserverordnung (TVO).....</b>	<b>19</b>
2.3.1	Definition von Desinfektion und Sterilisation .....	19
2.3.2	Vorgaben der Trinkwasserverordnung.....	19
<b>2.4</b>	<b>Chemische und physikalische Trinkwasseraufbereitungsverfahren.....</b>	<b>21</b>
2.4.1	Reinigung durch druckgetriebene Membranverfahren .....	21
2.4.2	Hygienische Stabilität des aufbereiteten Wassers.....	22
2.4.2.1	Maßnahmen zur Reduzierung des Biofilmwachstums.....	24
2.4.2.2	AOC- und DOC-Gehalt.....	25
2.4.3	Desinfektion durch Ozon .....	26
2.4.3.1	Eigenschaften .....	26
2.4.3.2	Technische Herstellung von Ozon .....	27
2.4.3.3	Lösen von Ozon in wässrigen Medien .....	28
2.4.3.4	Inaktivierung von Mikroorganismen mit Ozon.....	28
2.4.3.5	Inaktivierungskinetik von Mikroorganismen mit Ozon .....	29
2.4.4	Desinfektion durch UV-Licht .....	32
<b>3</b>	<b>VERFAHRENTWICKLUNG.....</b>	<b>34</b>
<b>3.1</b>	<b>Auswahl der Testkeime.....</b>	<b>34</b>
3.1.1	Risikogruppen .....	34

---

---

3.1.2	Micrococcus luteus.....	34
3.1.3	Escherichia coli .....	34
3.1.4	Bacillus atrophaeus.....	35
<b>3.2</b>	<b>Detektion biogenen Potenzials in membranfiltriertem Prozesswasser .....</b>	<b>37</b>
3.2.1	Keimidentifizierung durch FT-IR Spektroskopie.....	37
3.2.1.1	Grundlagen und Gerätebeschreibung.....	37
3.2.1.2	Auswahl der Wellenzahlbereiche und Messmodi.....	38
3.2.1.3	Einflussfaktoren bei der Kultivierung .....	39
3.2.1.4	Probenpräparation und Messung der FT-IR Spektren .....	40
3.2.2	Keimidentifizierung nach dem DIN-Verfahren der TVO .....	41
3.2.3	Endotoxinnachweis .....	42
<b>3.3</b>	<b>Beschreibung des gesamten Kooperationsprojektes.....</b>	<b>44</b>
<b>3.4</b>	<b>Anlagenkomponenten und Betrieb der Pilotanlage.....</b>	<b>46</b>
<b>3.5</b>	<b>Anlagenaufbau zur Reinigung und Desinfektion .....</b>	<b>48</b>
3.5.1	Desinfektion durch UV-Behandlung .....	48
3.5.1.1	Aufbau des UV-Reaktors.....	48
3.5.1.2	Berechnung der Bestrahlungsdosis .....	49
3.5.1.3	Dosis-Wirkungsbeziehung.....	52
3.5.2	Anlage zur Desinfektion durch Ozon .....	53
3.5.2.1	Wahl eines geeigneten Reaktors für die Ozondesinfektion .....	53
3.5.2.2	5 L-Laboranlage zur Desinfektion mit Ozon und UV-Licht.....	55
3.5.2.3	100 L-Technikumsanlage zur Desinfektion mit Ozon und UV-Licht .....	56
3.5.2.4	Das DWA-Modul und der Ozongenerator.....	58
3.5.2.5	Ozonnmessgerät für Ozon in der Luft .....	60
3.5.2.6	Flüssigphasenmessgerät für Ozon .....	60
3.5.3	Membranfiltrationsanlage zur Untersuchung der Modellwässer.....	62
<b>4</b>	<b>ERGEBNISSE UND DISKUSSION .....</b>	<b>64</b>
<b>4.1</b>	<b>Keimidentifizierung mittels FT-IR Analytik.....</b>	<b>64</b>
4.1.1	Qualitätsprüfung von Spektren.....	64
4.1.2	Aufnahme von Referenzspektren .....	65
4.1.3	Identitätstest.....	66
4.1.4	Optimierung der Kultivierungsbedingungen .....	67
4.1.4.1	Kulturdauer .....	68
4.1.4.2	Wahl des Nährmediums.....	71
4.1.4.3	Fazit .....	73

---

---

4.1.5	Differenzierung Gram positiver und Gram negativer Keime .....	74
4.1.6	Ozon-Resistenzneigung in Abhängigkeit von Grameigenschaften.....	75
4.1.7	Untersuchung der Barriereigenschaften von Membranstufen.....	76
<b>4.2</b>	<b>Endotoxine .....</b>	<b>78</b>
<b>4.3</b>	<b>Reinigung und Desinfektion von Realwasserproben .....</b>	<b>80</b>
4.3.1	Ergebnisse der chemischen Analysen der Realwasserproben.....	80
4.3.2	Verlauf der organischen Belastung nach der Membranfiltration.....	80
4.3.3	Temperatur- und pH-Wert-Verläufe der Filtrate und Permeate.....	82
4.3.4	Keimbelastung von Realproben aus der UF- und UO-Stufe.....	82
4.3.5	Untersuchung von Modellwasser mit einer Umkehrosmostufe.....	85
<b>4.4</b>	<b>Zusammensetzung des Modellwassers und Versuchsplanung.....</b>	<b>89</b>
<b>4.5</b>	<b>UV-Desinfektion .....</b>	<b>91</b>
4.5.1	Ermittlung des Transmissionsgrades .....	91
4.5.2	Eisen- und Mangangehalt.....	93
4.5.3	Desinfektion von Realwasserproben im UV-Reaktor.....	93
4.5.3.1	Ermittlung der Durchsatzvolumina und der Bestrahlungsdosen.....	93
4.5.3.2	UV-Reaktor ohne Rückfluss .....	94
4.5.3.3	UV-Reaktor mit Rückfluss.....	96
4.5.4	Störfallsimulation - Desinfektion von UF-Proben.....	97
4.5.5	UV-Desinfektionsbehandlung unterschiedlicher Keime.....	98
4.5.6	UV-Desinfektionsbehandlung von <i>Bacillus atrophaeus</i> -Keimen.....	100
4.5.7	Zusammenfassung der Ergebnisse .....	102
<b>4.6</b>	<b>Desinfektion durch oxidative Verfahren.....</b>	<b>102</b>
4.6.1	Desinfektion durch Wasserstoffperoxid im Batchreaktor.....	104
4.6.2	Mischverhalten in einem Semibatch-Reaktor (Blasensäule) .....	105
4.6.3	Ozonbehandlung eines UF-Filtrates im 5 L-Semibatchreaktor .....	105
4.6.4	Ozonbehandlung von UO-Permeaten im 5 L-Semibatchreaktor .....	107
4.6.5	Ozonbehandlung von Modellkeimen im 100 L-Semibatchreaktor.....	108
4.6.6	Ozonungsversuche während der instationären Startphase der Blasensäule im Semibatchbetrieb.....	113
4.6.7	Ozonungsversuche während des stationären und kontinuierlichen Betriebs der Blasensäule .....	116

---

<b>4.7</b>	<b>Desinfektion durch eine kombinierte Ozon- und UV-Behandlung.....</b>	<b>122</b>
<b>4.8</b>	<b>Rückverkeimung.....</b>	<b>128</b>
4.8.1	Rückverkeimung von Realproben.....	129
4.8.2	Untersuchung der Resistenzbildung durch wiederholte Ozonbehandlung von Realwasser.....	131
4.8.3	Rückverkeimung von Modellwasserproben.....	133
<b>4.9</b>	<b>Diskussion des mehrfachen Barrierekonzeptes.....</b>	<b>138</b>
<b>5</b>	<b>KOSTENKALKULATION.....</b>	<b>140</b>
<b>5.1</b>	<b>Ozonanlage.....</b>	<b>140</b>
<b>5.2</b>	<b>UV-Anlage.....</b>	<b>141</b>
<b>5.3</b>	<b>Fazit.....</b>	<b>142</b>
<b>6</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG UND AUSBLICK.....</b>	<b>143</b>
<b>7</b>	<b>ABKÜRZUNGS - UND SYMBOLVERZEICHNIS.....</b>	<b>149</b>
<b>7.1</b>	<b>Symbolverzeichnis.....</b>	<b>149</b>
<b>7.2</b>	<b>Abkürzungsverzeichnis.....</b>	<b>149</b>
<b>8</b>	<b>LITERATUR.....</b>	<b>151</b>

---

# 1 Einleitung, Problemstellung und Zielsetzung

Die ausreichende Versorgung der Menschen mit einwandfreiem Trinkwasser stellt auch im 21. Jahrhundert eine gewaltige Herausforderung dar<sup>1,2</sup>. Trotz erheblicher Wasservorkommen in den Meeren, an Nord- und Südpol, in Form von Grundwasser, in Bächen, Flüssen und Seen sind nur geringe Mengen tatsächlich für die Menschen zur Nutzung als Trinkwasser geeignet. Unterschiedliche Verteilung von Niederschlagsmengen, intensive Verwendung in industriellen und landwirtschaftlichen Prozessen z.B. bei der Energiegewinnung und Bewässerung sowie der unterschiedliche Verbrauch der Ressource Trinkwasser auf den Kontinenten führen teilweise zur dramatischen Verknappung dieses Gutes. Ungenügendes Wassermanagement sowie wirtschaftliche Zwänge führen trotz ausreichender Wasserangebote in einigen Regionen zu temporären Mangelsituationen. Wasserreservoir in Form von Gletschereis, das in den letzten Jahrzehnten immer stärker abgeschmolzen<sup>3</sup> ist und somit die Speicher- und jahreszeitliche Verteilungsfunktion einbüßt<sup>4</sup>, kann zur zeitweisen Verknappung der Wassermengen auch in europäischen Regionen führen. Doch selbst in den wasserreichen und gleichzeitig stark industrialisierten Regionen Mittel- und Nordeuropas kann durch intensive Nutzungsprozesse „Wasserstress“ entstehen. Ein Teil der Trinkwasseraufbereitungsanlagen in Deutschland wird direkt aus Flüssen bzw. Uferfiltraten gespeist. Daraus ergibt sich eine Mehrfachnutzung von Flusswasser, die sowohl bei der Abwasseraufbereitung als auch bei der Trinkwasserneugewinnung sorgfältig berücksichtigt werden muss. Es sind also verstärkt Konzepte erforderlich, die in den Bereichen hoher Wassernutzung einen produktionsintegrierten Umweltschutz gewährleisten oder ein Recycling der gebrauchten Ressource Wasser vor Ort ermöglichen. Solche Methoden sind für Kühlkreisläufe und andere Reinigungsprozesse<sup>5</sup> in der Industrie seit Jahren Stand der Technik und tragen schon jetzt zu einer deutlichen Reduktion des Frischwasserbedarfes bei. Für den Bereich der Lebensmittelherstellung und/oder -verarbeitung konzentriert sich diese Anwendung auf die Getränkeindustrie. Abwasserteilströme können bereits nach dem Stand der Technik mit Hilfe verschiedener Verfahren bis zu einer hohen Wasserqualität gereinigt werden. Die Wiederverwendung des Prozesswassers ist dabei beschränkt auf Spül- und Reinigungsvorgänge, bei denen es zu keiner Produktberührung kommt<sup>6</sup>. Allerdings sind in den meisten Fällen die Anforderungen an die hygienische und chemische Qualität des Wassers nicht annähernd so hoch wie die für Trinkwasser. Auf Grundlage der momentan gültigen Trinkwasserverordnung ist eine erneute Nutzung von aufbereitetem Abwasser in Prozessschritten, bei welchen es zum direkten Kontakt mit dem Produkt kommen kann, nicht und bei indirektem Kontakt (Reinigungswässer) nur unter Einhaltung hoher Qualitäts- und Sicherheitsstandards erlaubt.

Die IPP (Integrierte Produktpolitik)-Initiative der EU-Umweltminister sieht die nachhaltige Entwicklung der kommenden Umweltgesetzgebung vor, so dass eine Minimierung des Ressourceneinsatzes bei gleichzeitig hohen Umweltstandards vorrangig verfolgt wird. Gleichzeitig gilt es, den weltweit ansteigenden Bedarf an Lebensmitteln und Trinkwasser sowie abnehmenden Trinkwasserressourcen zu berücksichtigen. Technologien zur Wassereinsparung

bei wasserintensiven Produktionsprozessen, z.B. in der Lebensmittelverarbeitung sind daher besonders bedeutungsvoll. Ziel dieses Vorhabens ist es, durch nachhaltige Bewirtschaftung von Wasserressourcen eine Erhöhung der umweltrelevanten Produktbewertung und Wirtschaftlichkeit der Produktion in der Lebensmittelverarbeitung zu erreichen. Für diese Branche kann die Einführung von Prozesswasserrecycling erhebliche Einsparungen an Trinkwasser bedeuten, wobei große Mengen für Blanchier- sowie Reinigungsprozesse eingesetzt werden. Als zentrales Kriterium steht hierbei eine sicher zu gewährleistende Wasserqualität nach neuer EU-Verordnung<sup>7</sup> „Wasser für den menschlichen Gebrauch“ im Vordergrund. Somit handelt es sich um ein Projekt mit Demonstrationscharakter der Kreislaufschließung in der Lebensmittelindustrie.

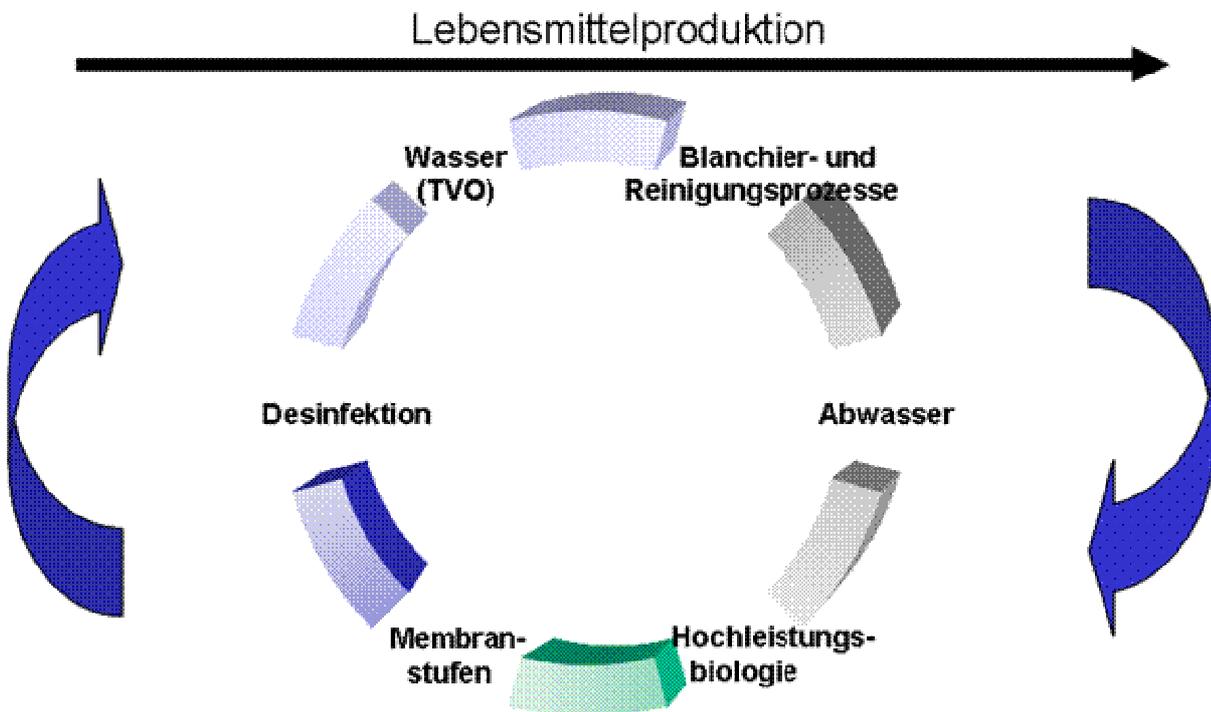


Abbildung 1: Brauchwasserherstellung mit Trinkwasserqualität aus Blancheurabwasser der Fertiggerichteherstellung.

Abbildung 1 zeigt das vorgesehene Recyclingkonzept. Im vorliegenden Anwendungsfall besteht das Interesse, eine Brauchwasserherstellung mit Trinkwasserqualität aus Blancheurabwasser der Fertiggerichteherstellung zu realisieren. Dieser Recyclingprozess soll durch den Einsatz einer neu entwickelten Biomembranreakorteknik erreicht werden, die durch eine Kombination mit Membranmodulen zur Sicherung der notwendigen hohen Wasserqualität beiträgt. Besondere Vorteile dieses Biomembranreaktors sind die hohe Raumzeitausbeute bei geringem Platzbedarf und ein reduzierter Energiebedarf. Zusätzlich wird die Notwendigkeit des Einsatzes einer Desinfektionsstufe geprüft. Der gesamte Aufbereitungsprozess dient zur produktionsintegrierten Wasserkreislaufschließung.

Ein besonderes hohes Einsparpotential in der Nahrungsmittelindustrie kann beim Blanchier-

---

prozess von Gemüse und Hülsenfrüchten realisiert werden. Dieser Prozess wird zur Hygienisierung des Produktes und zur Verkürzung der Garzeit benötigt.

Dabei werden häufig Erbsen sowie weiße und rote Bohnen mit einem hohen Anteil an Stärke verarbeitet. Wenn die Stärke zu einem großen Teil in das Prozesswasser übergeht, führt sie zur Ausbildung einer zeitabhängigen, komplexen Rheologie. Durch biochemische Prozesse wie Hydrolyse und/oder enzymatischen Abbau bzw. Umbau kann die Stärke im Wesentlichen nach der Blanchierung über höhermolekulare Abbauprodukte (Dextrine) bis zur Glucose abgebaut werden (Stärkeverzuckerung). Das rheologische Verhalten ändert sich dadurch jeweils stark. Hinzu kommt, dass bei diesem Blanchierprozess auch eine große Menge an feinsten Faserstoffen entsteht. Ein Abwasseraufbereitungsprozess ist somit den komplexen Anforderungen unter Berücksichtigung hoher Mengen feinsten Faserstoffe, schleimiger und gelartiger Abbauprodukte und wechselnden rheologischen Verhaltens auszulegen.

Hierbei stellen insbesondere die bei Naturprodukten der Nahrungsmittelindustrie stark schwankenden Abwassereigenschaften (z.B. variable Fracht, Viskosität bzw. komplexe Rheologie) eine Problematik dar, über deren Auswirkungen auf die Effizienz selektiver Trennverfahren sehr wenig bekannt ist. Während z.B. die Deckschichtbildung und Hydrodynamik sowohl bei Membranverfahren als auch Verdampfungsanlagen relevante Einflussfaktoren für die Wirtschaftlichkeit sind, muss der mögliche Bruch einer Barriere gegen Krankheitserreger völlig ausgeschlossen werden können. Hinzu kommt, dass noch erheblicher Forschungsbedarf über die Membrangängigkeit von Zellbestandteilen besteht.

Die notwendigen Auslegungsparameter zum sicheren Betrieb der neuen Technologie sollen an einer Pilotanlage erarbeitet sowie die Leistungsfähigkeit aufgezeigt werden. Darüber hinaus wird geprüft, ob bei diesem mehrstufigem Membranbarrierekonzept weitere Schritte zur Hygienisierung und Einhaltung der mikrobiologischen Hygieneparameter erforderlich sind. Dazu ist eine Erfassung von Eintragungswegen, Verkeimungsquellen, Rückverkeimungstendenzen als auch deren Ursachen zu untersuchen. Falls weitere Maßnahmen zur Einhaltung der hygienischen Qualität erforderlich sind, gilt es zu prüfen, mit welchen zusätzlichen Desinfektionsmethoden eine ökonomisch sinnvolle Realisierung dieser Ziele erreicht werden kann. Zu berücksichtigen sind dabei sowohl die Rahmenbedingungen, die durch die Trinkwasserverordnung vorgegeben sind als auch die Praxistauglichkeit einer solchen effektiven Anlagentechnik innerhalb des Produktionsbetriebes. Die Funktionalität und Effektivität dieser Technik muss für den ungünstigsten Fall erprobt werden, der mit Hilfe von hohen Modellbelastungen nachgestellt werden kann.

Die Erprobung neuer Methoden zur schnelleren Bestimmung hygienischer Leitparameter auf ihre Anwendbarkeit stellt ein weiteres Ziel dieser Arbeit dar. Es stellt sich auch die Frage, ob weitere bisher nicht untersuchte Hygieneparameter eine sinnvolle Ergänzung zur Überwachung der hygienischen Qualität des Recyclingwassers darstellen, die eine Aussage innerhalb kürzerer Nachweiszeiten erlauben. Die nach der TVO beschriebenen klassischen mikrobiologischen Untersuchungsmethoden benötigen teilweise mehrere Tage bis zur eindeutigen Identifizierung einer hygienischen Belastung. Es sollen mehrere alternative Methoden bezüg-

---

lich zeitnahe Analytik bei gleichzeitiger Genauigkeit und Praktikabilität getestet werden, die den Anforderungen eines modernen Produktionsbetriebes entsprechen. Ein Optimum stellt in diesem Zusammenhang eine einfach zu handhabende Echtzeitdetektion dar, alternativ dazu eine sichere Prognose, dass eine ausreichende Desinfektionssicherheit gewährleistet werden kann.

Aufgrund der angeführten Problemstellungen stehen für den betrachteten Anwendungsfall derzeit noch keine geeigneten Systemlösungen zur Verfügung, um einen wesentlich über die Erfüllung der gesetzlichen Pflichtaufgaben hinausgehenden Beitrag zur Umweltentlastung bzw. Ressourcenschonung durch Kreislaufschließung leisten zu können.

---

## 2 Theoretische Grundlagen

### 2.1 Mikroorganismen

#### 2.1.1 Definition von Mikroorganismen

Unter dem Begriff „Mikroorganismen“ werden außer Mikroorganismen im engeren Sinn auch andere aktive, vermehrungsfähige oder gentransferierende biologische Agenzien zusammengefasst<sup>9</sup>.

*Tabelle 1: Übersicht unterschiedlicher Formen von pathogenen Mikroorganismen<sup>10</sup>*

	Eigenschaften	Verursachen u. a. folgende Krankheiten
<b>Bakterien</b>	Zellen ohne Zellkern	Bakterielle Infektionen wie Darm-Infektionen, Legionärs-Krankheit, Tuberkulose, Wundinfektionen.
<b>Einzeller</b>	Zellen mit Zellkern	Malaria, Schlafkrankheit
<b>Pilze</b>	Zellen mit Zellkern	Pilzbefall
<b>Prionen</b>	Proteine	BSE, Creutzfeld-Jakob, Scrapie
<b>Viren</b>	Hülle mit DNA oder RNA	AIDS, Grippe, Hepatitis, Masern, SARS, Tollwut
<b>Viroide</b>	Minivirus	Nur Pflanzenkrankheiten

Tabelle 1 gibt einen Überblick über die unterschiedlichen Formen von Mikroorganismen, ihren Eigenschaften und den Krankheiten, die durch sie verursacht werden können.

In der Norm EN 12740<sup>8</sup> werden zusätzlich biologische Agenzien aufgeführt, die Infektionen, Allergien oder toxische Wirkungen hervorrufen können. Endo- und Exotoxine, Parasiten, Plasmide, Prionen, Viren, Viroide und Zellen aus pflanzlichen und tierischen Organismen werden danach auch als Mikroorganismen definiert<sup>9</sup>.

Angesichts häufiger Krankheitsausbrüche durch Mikroorganismen, ist die vollständige Eliminierung von Krankheitserregern das oberste Ziel bei der Hygienisierung während des Recyclingprozesses von Abwasser. Umfangreiche physikalische und chemische Maßnahmen sind dazu geeignet, Zellen abzutrennen oder chemisch zu modifizieren, so dass keine Gefahr mehr für den Verbraucher durch die verbleibende organische Matrix zu befürchten sein sollte.

## 2.1.2 Klassifizierung und Eigenschaften von Mikroorganismen

Die Unterscheidung unterschiedlicher Lebensformen kann systematisch in mehrere Reiche erfolgen<sup>10</sup>. Ursprünglich bestand die Auftrennung lediglich in der Differenzierung von Pflanzen und Tieren. Mittlerweile wurde das Klassifizierungssystem auf fünf bis acht Reiche erweitert, die eine stärkere Differenzierung einzelner Teilbereiche bewirkt.

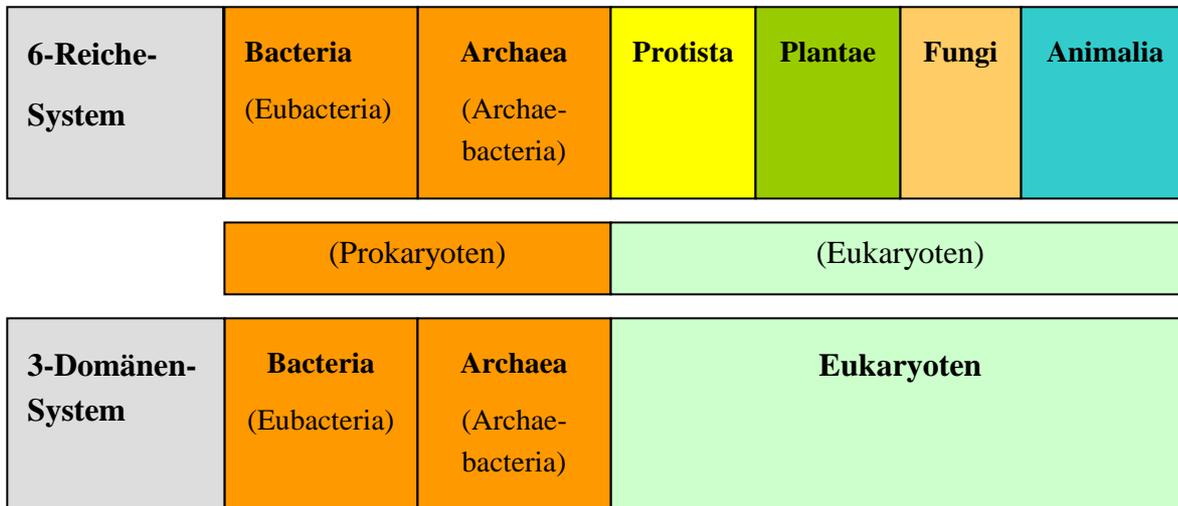


Abbildung 2: Unterschiedliche Systematiken zur Einordnung von Organismen<sup>10</sup>

Das Modell der sechs Reiche, hier dargestellt in der Abbildung 2, sieht z.B. die Unterteilung der vier Reiche Protista, Plantae, Fungi und Animalia vor. Diese vier Reiche stellen die Eukaryoten dar. Die zusätzlichen zwei Reiche Bacteria (Eubacteria) und Archaea (Archaeobacteria), im fünf Reiche System zu Monera zusammengefasst, sind Prokaryoten. Im 8 Reiche System werden die Protista zusätzlich in drei weitere Reiche aufgetrennt. Das 3-Domänensystem stellt ein übergeordnetes Taxon dar, das über dem der Reiche angesiedelt ist. Dabei wird in diesem Schema der Aufspaltung von Eubakterien und Archaeobakterien (beides Prokaryoten) ein größeres Gewicht beigemessen. Alle anderen Organismen gehören zur Gruppe der Eukaryoten.

Die Bezeichnung „Bakterien“ wird in der Mikrobiologie für alle mikroskopisch kleinen, meistens einzelligen Organismen gebraucht, die keinen echten Zellkern besitzen und deshalb zu den Prokaryoten gezählt werden.

Prokaryoten können folgendermaßen eingeteilt werden:

1. Bakterien mit starrer und dünner Zellwand (Gram-negative Bakterien)
2. Bakterien mit starrer und dicker Zellwand (Gram-positive Bakterien)
3. Bakterien ohne Zellwand (Mykoplasmen)
4. Bakterien mit einer Zellwand, die nicht aus Murein besteht (Archaeobakterien)

Die folgende Abbildung 3 zeigt den schematischen Aufbau einer Bakterienzelle. Bakterien (Bacteria) vom altgriechischen Wort *bakterion* – Stäbchen abgeleitet, bilden somit neben

Eukaryoten und Archaeen eine der drei grundlegenden Domänen, in die heute eine Unterteilung aller Lebewesen erfolgt<sup>10</sup>.

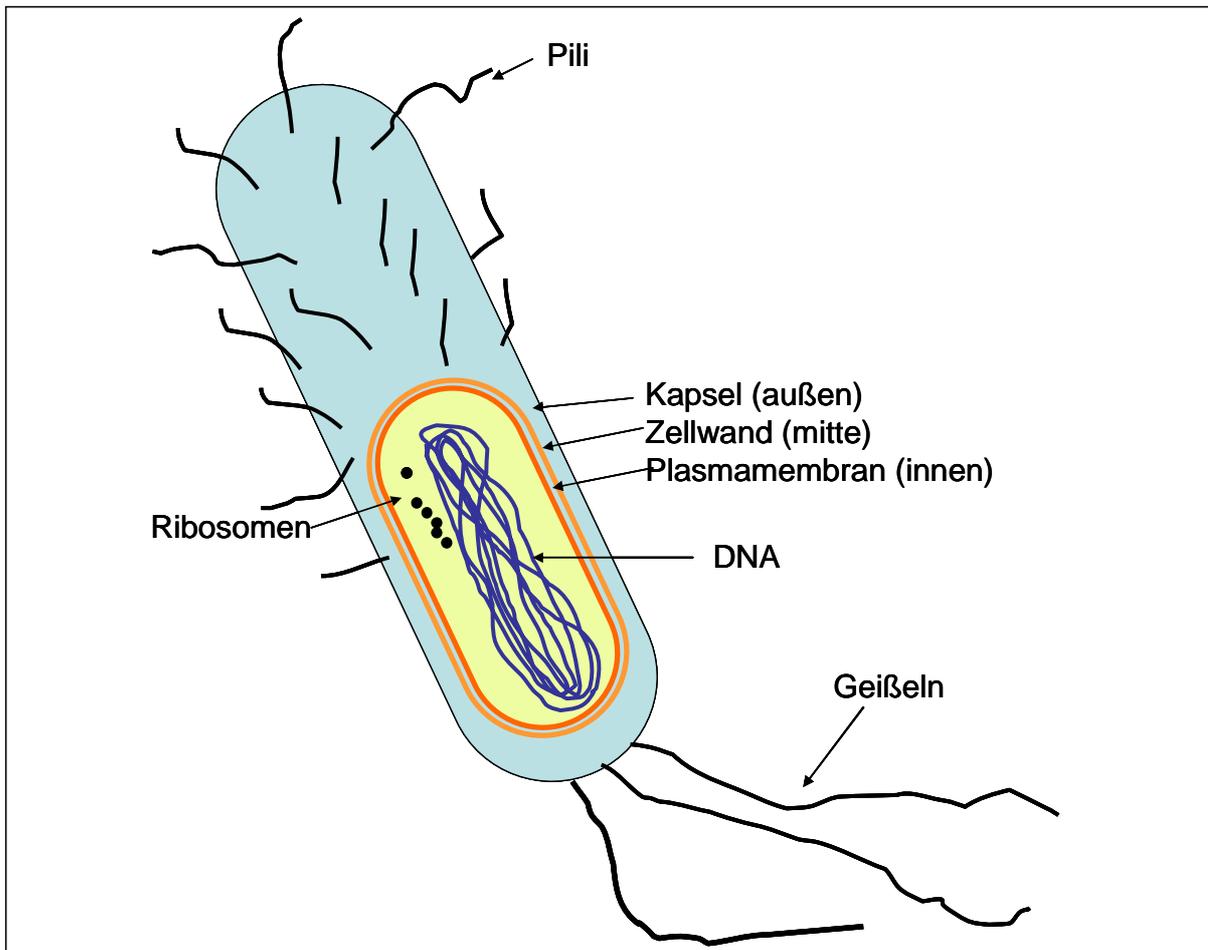


Abbildung 3: Schematische Darstellung einer stäbchenförmigen Bakterienzelle<sup>11</sup>

Die meisten Bakterien sind Eubakterien. Pflanzenzellen, Bakterien und Pilze unterscheiden sich von tierischen Zellen durch die Ummantelung der Zellwand außerhalb der Plasmamembran. Viele Prokaryoten scheiden darüber hinaus klebrige Substanzen ab, die eine weitere schützende Hülle (Kapsel) um die Zellwand bilden<sup>10</sup>.

Die Zellwände der meisten Eubakterien sind aus einem Peptidoglycan aufgebaut, dem sogenannten Murein. Es besteht aus einer Glyco-Protein-Schicht aus Zuckermolekülen, die mit Aminosäuren vernetzt ist. In diesen Polysaccharidketten alternieren zwei besondere Zucker und zwar N-Acetylglucosamin und N-Acetylmuraminsäure. Das Murein spielt auch beim Gram-Test eine entscheidende Rolle. Der Gram-Test kann zur Unterscheidung von zwei verschiedenen Zellwandtypen der Bakterien verwendet werden. Die Zellen werden dazu mit Kristallviolett und Iod gefärbt und dann mit Alkohol gespült. Anschließend wird eine Gegenfärbung mit dem roten Farbstoff Safranin durchgeführt. Gram positive Zellen besitzen innen eine Plasmamembran und außen eine Zellwand mit einem großen Anteil an Peptidglycan (Murein), welches das Kristallviolett nicht durchtreten lässt. Im Gegensatz dazu enthalten Gram negative Bakterien wenig Peptidglycan zwischen den beiden Membranschichten. Diese geringe Menge Peptidglycan befindet sich in dem periplasmatischen Gel zwischen innerer Plasma-

membran und äußerer Membran. Die äußere Membran enthält Lipopolysaccharide, die meist toxisch sind. Sie dienen dazu, dass sie sich gegen die Abwehrmechanismen anderer Organismen schützen können, in die sie eingedrungen sind. Die eingesetzte violette Farbe, die zur Färbung verwendet wird, kann aus den Gram negativen Zellen leicht ausgewaschen werden. Zurückgehalten wird jedoch die rote Farbe des Farbstoffs Safranin. Sie erscheinen also rot und nicht kristallviolett<sup>10</sup>.

Die Membran besitzt eine Struktur, die aus Lipid- und Proteinmolekülen aufgebaut ist. Die Lipidmoleküle setzen sich aus Glycerin zusammen, das mit zwei Fettsäuren verbunden ist. Die Länge der Fettsäuren variiert von 14 bis 24 Kohlenstoffatome. Sie besteht in der Regel aus einer oder mehreren cis-Doppelbindungen. Die dritte Bindungsstelle des Glycerins wird durch eine Phosphat-Gruppe besetzt, die ihrerseits wiederum mit einem hydrophilen Molekül, wie z.B. Ethanolamin, Cholin oder Serin verbunden ist<sup>89</sup>. Die Lipidmoleküle haben ein hydrophiles und ein hydrophobes Ende, so dass sie in wässriger Lösung Doppelschichten ausbilden. Proteinmoleküle sind „gelöst“ und frei beweglich in dieser Lipid-Doppelschicht. Die Zellmembran ist somit ein dynamisches, fluides Gebilde<sup>12</sup>. Abbildung 4 zeigt das Flüssig-Mosaikmodell zur Beschreibung der Membran, die grundsätzlich jede Bakterienzelle umhüllt.

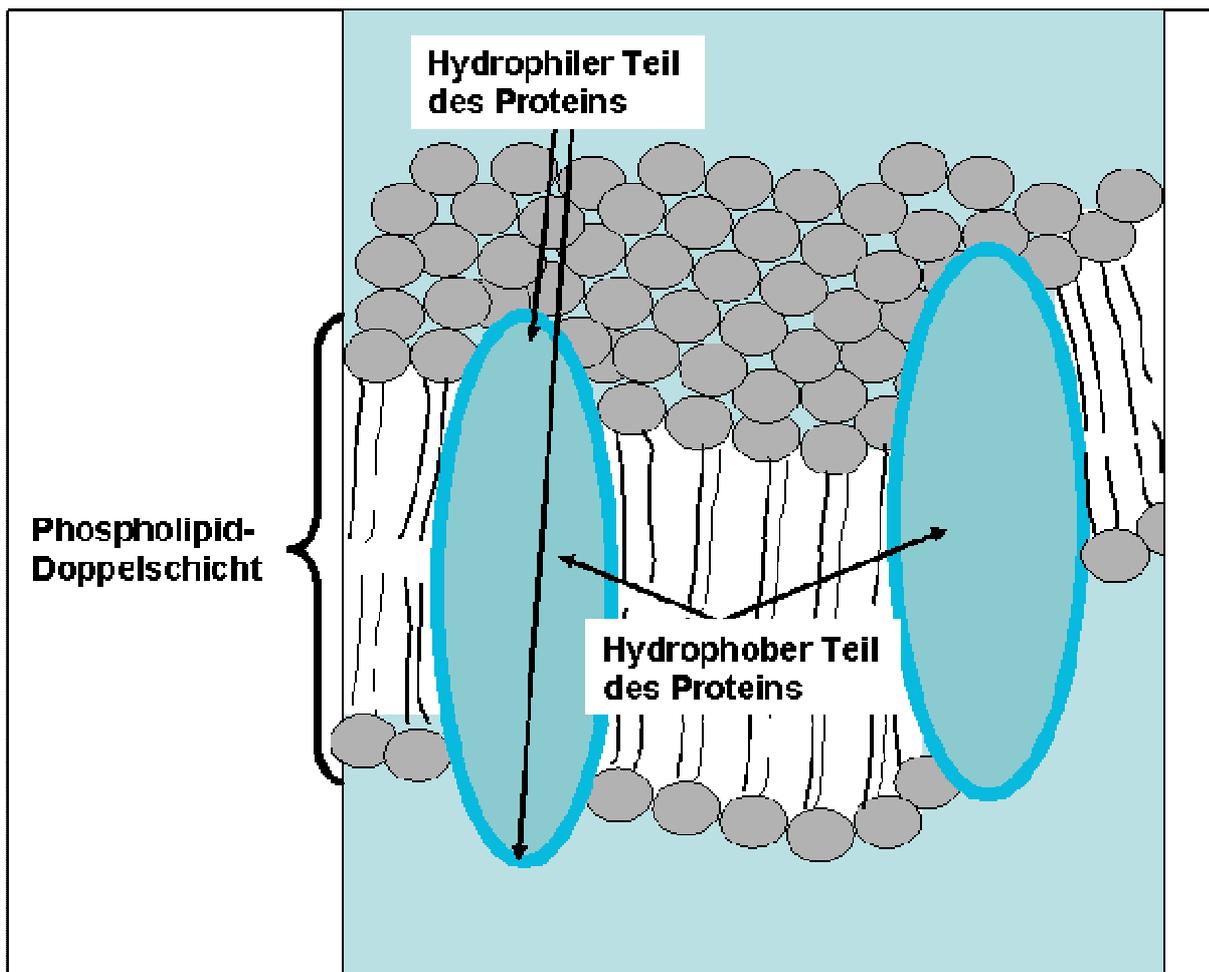


Abbildung 4: Vereinfachte schematische Darstellung des Flüssig-Mosaikmodells<sup>11</sup>

Insgesamt dient diese Barriere zum Erhalt der lebensnotwendigen physiologischen Unterschiede zwischen dem Zellinneren und der Umgebung. Die Zellwand hat darüber hinaus die Funktion, die Zelle zu stabilisieren. Außer der Stabilisierungs- und Schutzfunktion wirkt die Membran auch als ein Filter, der unterschiedliche Ionenkonzentrationen selektiv auf beiden Seiten aufrecht halten kann<sup>89</sup>. Nährstoffe können durch die Membran in die Zelle transportiert und Abbauprodukte können hinausgeschleust werden.

### 2.1.3 Osmotischer Druck und Osmoregulation

Nach der Behandlung von Wasser durch eine Umkehrosmoseanlage liegt im Permeat gegenüber dem Feedstrom und dem Retentat eine hypotonische Lösung vor, weil im Retentat eine große Menge der Ionen zurückgehalten wird. Das bedeutet für Mikroorganismen, die möglicherweise die Membranbarriere überwinden, dass sie plötzlich unter deutlich veränderten Bedingungen existieren müssen. Im Gegensatz zu tierischen Zellen sind sie aber durch ihre Zellwand erheblich unempfindlicher gegenüber Schwankungen des Salzgehaltes ihrer Umgebung<sup>10</sup>. In tierischen Zellen diffundieren Wassermoleküle in isotonischen Lösungen in beide Richtungen mit gleicher Geschwindigkeit. Erhöht sich der Salzgehalt in der Umgebung (hypertonische Lösung) schrumpfen die Zellen bis sie zerstört werden. Umgekehrt findet bei sehr niedrigem Salzgehalt in der Umgebung (hypotonische Lösung) zum Konzentrationsausgleich eine intensive Diffusion von Wassermolekülen in die Zelle statt bis sie aufgrund der Volumenerhöhung platzt (lysiert). Einige Organismen ohne Zellwand, die außerhalb isotonischer Umgebungen existieren, besitzen ein Osmoregulationssystem durch verminderten Wasserdurchtritt oder kontraktile Vakuolen.

Fast alle prokaryoten Zellen (Bakterien) besitzen eine Zellwand. Die Aufnahme von Wassermolekülen durch die Zellwand (siehe Abbildung 3, Kap. 2.1.2) in einer hypotonischen Lösung erfolgt nur solange bis der Gegendruck der elastischen Zellwand den osmotischen Druck ausgleicht. Bakterien besitzen einen hohen osmotischen Druck von bis zu ca. 20 bar. Das Murein (siehe Kap. 2.1.2) in der Zellwand dient als Stützgerüst, damit die Bakterien durch die Osmose nicht platzen. Es stellt aber keine Diffusionssperre dar. Prokaryoten reagieren auf solche Stressfaktoren der Umgebung relativ unempfindlich, da sogar in bidestilliertem Wasser ein Mikroorganismenwachstum beobachtet werden konnte<sup>13</sup>. Der umgekehrte Vorgang, das Schrumpfen der Zelle (Plasmolyse) in einer hypertonischen Lösung ist reversibel und verläuft nicht tödlich für eine Zelle mit Zellwand<sup>10</sup>. Erst unter sehr extremen Bedingungen sterben die Zellen dabei ab. Genutzt wird dieser Effekt zur Konservierung von Fleisch durch Pökeln.

### 2.1.4 Endotoxine und Exotoxine

Die meisten pathogenen Bakterien verursachen durch die Bildung von Toxinen auf zwei unterschiedliche Arten Krankheiten. In Tierversuchen konnte Richard Pfeiffer neben einem hitzeempfindlichen Exotoxin, verursacht durch Choleraerkrankungen (*Vibrio cholerae*), auch ein hitzestabiles weiteres Toxin isolieren, das beim Absterben der Bakterien freigesetzt wurde<sup>14</sup>. Dieses bezeichnete er als Endotoxin.

Exotoxine sind Ausscheidungsprodukte von Bakterien und biochemisch betrachtet Proteine. Sie können Symptome auslösen, ohne dass ein Bakterium tatsächlich anwesend ist. Der in der Trinkwasserverordnung aufgeführte Keim *Clostridium perfringens* bildet zum Beispiel in schlecht konservierten Lebensmitteln unter anaeroben Bedingungen ein Toxin, das die Symptome des Botulismus hervorruft. Exotoxine sind starke Gifte und rufen spezifische Symptome hervor. *Vibrio cholerae* (Choleraerkrankung) oder bestimmte Stämme von *E. coli* („Reisedurchfall“)<sup>15</sup> sind weitere Beispiele für Exotoxinbildner.

Liebers<sup>14</sup> weist darauf hin, dass Endotoxine Bestandteile der äußeren Membran bestimmter Gram negativer Bakterien und Blaualgen sind. Sie verursachen unabhängig von der Bakterienart immer die gleichen allgemeinen Symptome wie Fieber, Schmerzen bis hin zum Multiorganversagen. Die Begriffe Endotoxin und Lipopolysaccharid (LPS) werden häufig gleichbedeutend angewendet. Biochemisch setzt sich LPS aus unterschiedlichen speziesspezifischen Polysaccharidketten und aus einem relativ ähnlichen Lipid (Lipid A) zusammen, das die Toxizität bewirkt. Der Polysaccharid-Anteil bestimmt die Aktivität. Da Endotoxine thermostabil sind, eignen sich Maßnahmen, die eine kurze Erhitzung der zu desinfizierenden Produkte bei 60-70°C vorsehen, nicht für ihre Zerstörung.

Der Nachweis von Endotoxinen kann auf unterschiedliche Weise mit hoher Empfindlichkeit erfolgen. Mehrere Nachweismethoden werden in Kap. 3.2.3 vorgestellt. Damit können Kontaminationsquellen untersucht und bei Bedarf Maßnahmen zur Reduzierung der Belastung ergriffen werden.

Ein Endotoxintest kann ergänzend zur Keimzahlbestimmung angewendet werden, da er nicht nur lebende und frei bewegliche Keime erfasst, sondern auch Zerfallsprodukte von Keimen anzeigt, die sich im Rohrleitungssystem oder an den Wandungen von Reaktionsbehältern in Form von Biofilmen befinden.

### 2.1.5 Biofilme

Mikroorganismen bilden in Biofilmen stabile und synergetische Gemeinschaften<sup>16</sup>. 99 % Prozent aller Mikroorganismen leben in solchen Mikrokonsortien und können dort komplexe Nährstoffe verwerten und mit Hilfe von Plasmiden Gene austauschen. Sie übernehmen den Abbau von organischen und anorganischen Stoffen in Gewässern und Sedimenten. Dieser Effekt wird auch in der biologischen Abwasserreinigung genutzt, nicht nur mit immobilisierten, sondern auch mit mobilisierten Biofilmen, den so genannten Flocken. Wenn sie sich zu-

---

sammenlagern, entsteht Schlamm. Diese mikrobiellen Agglomerate werden von Flämmling etwas unpräzise, unter dem Begriff „Biofilme“ zusammengefasst. Die Gemeinsamkeit besteht in der Matrix aus Biopolymeren, die sie zusammenhält und an Oberflächen haften lässt. Produziert werden diese extrazellulären polymeren Substanzen (EPS), die ein hoch hydratisiertes Gel bilden, durch die Mikroorganismen selber. Biochemisch betrachtet, besteht EPS überwiegend aus Polysacchariden, also Kohlenhydraten, Proteinen sowie aus geringeren Anteilen von anderen Biopolymeren<sup>17</sup>.

Die Bildung von Biofilmen stellt aber häufig auch ein großes Problem dar, nämlich an solchen Stellen, an denen sie als permanente Eintragsquelle für Mikroorganismen fungieren. Wärmetauscher, Membranoberflächen, Wasserfilter und Trinkwasserversorgungsleitungen sind optimale Besiedlungsflächen. Teilweise greifen sie sogar die Oberflächen an und bewirken „mikrobiell beeinflusste Korrosion“ (MIC) von Metallen, mineralischen Werkstoffen oder Kunststoffen und lösen großen wirtschaftlichen Schaden aus. Es ist darüber hinaus zu berücksichtigen, dass Biofilme auch nach der Abtrennung durch Membranverfahren neu entstehen können und ausreichend Möglichkeit haben, sich auf Materialien anzusiedeln.

Innerhalb des Films sind Mikroorganismen teilweise gegen Hemmstoffe und toxische Substanzen (v. a. auch Desinfektionsmittel und Antibiotika) geschützt. Die Biofilm bildenden Bakterien sind meistens nicht pathogen, aber es können sich dort krankheitserregende Bakterien und Viren einnisten, um sich so vor Desinfektionsmitteln zu schützen. Das bewirkt dann eine deutlich höhere Resistenz gegenüber diesen Maßnahmen. Eine erhöhte mechanische und chemische Stabilität trägt dazu bei, dass Desinfektionsmittel nur sehr schwer bis tief in den Film vordringen können<sup>16</sup>. Daher sollte im Bereich der Trinkwasseraufbereitung durch die Wahl eines geeigneten Desinfektionsverfahrens und durch andere Maßnahmen die Biofilmbildung unterdrückt werden oder schon entstandene Filme z.B. auf Rohrleitungen durch ausreichende Desinfektionsmittelmengen wieder abgelöst werden.

## 2.2 Identifikation von biogenem Potenzial

### 2.2.1 Mikrobiologische Identifizierungsmethoden nach der TVO

Die klassischen Untersuchungsmethoden der Mikrobiologie, die auch in der novellierten TVO (2003) Anwendung finden, beruhen auf der Kultivierung von Mikroorganismen. Allerdings werden mit diesen Methoden für die standardmäßig zu bestimmenden Keime zum Teil bis zu fünf Tage benötigt. Einige Nachweise (wie z.B. der Nachweis von Legionellen) beanspruchen sogar noch deutlich mehr Zeit.

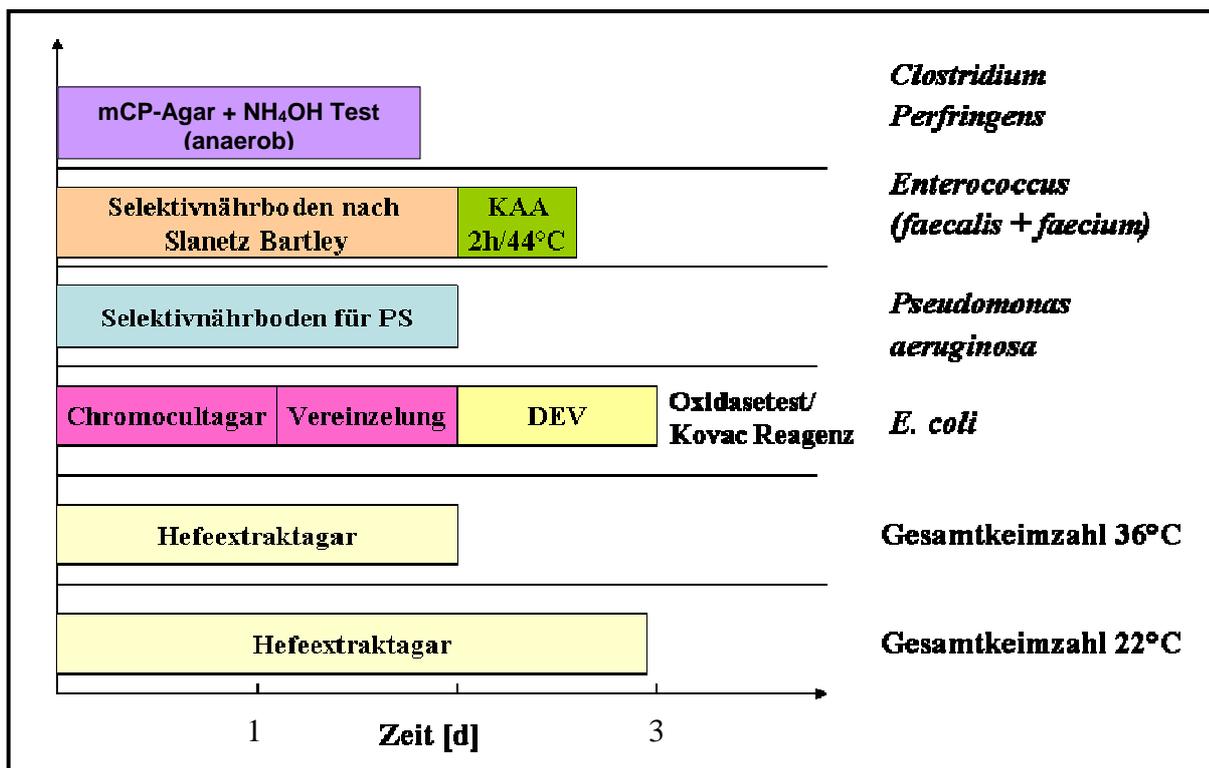


Abbildung 5: Übersicht über den Analysenablauf zum Nachweis von einigen pathogenen bzw. TVO-Keimen

In der Abbildung 5 ist der Zeitverlauf der Nachweismethode von einigen in dieser Arbeit häufig untersuchten Keimen in einer Übersicht dargestellt. Es zeigt sich bei den hier aufgeführten Nachweisen, dass teilweise mehr als 3 Tage für einen Nachweis erforderlich sind. Die Kriterien für heutige Methoden sind, dass die Tests schnell, einfach und spezifisch sind. Für den Nachweis von *E. coli*/coliformen Bakterien ist z.B. in der TVO (2003) eine Membranfiltrationsmethode unter Verwendung von Lactose TTC-Agar (ISO 9308-1) als Referenzmethode genannt. Diese Methode weist nur eine geringe Selektivität auf, so dass sie definitionsgemäß nur bei desinfizierten oder sehr keimarmen Wässern eingesetzt werden sollte. Bei anderen Wässern sind Störungen durch die Begleitflora zu erwarten. Darüber hinaus ist auf Grund des Verzichts auf das Kriterium „Gasbildung“ eine erhöhte Anzahl auffälliger Befunde mit coliformen Bakterien (anaerogene coliforme Bakterien) zu erwarten<sup>18</sup>.

Für Untersuchungen mit stark keimbelastetem Ausgangsmaterial, eignen sich, abweichend von der TVO, auch Nährboden der Firma Merck mit der Bezeichnung Chromocult® Coliform Agar. Abbildung 6 zeigt einen solchen Nährboden.

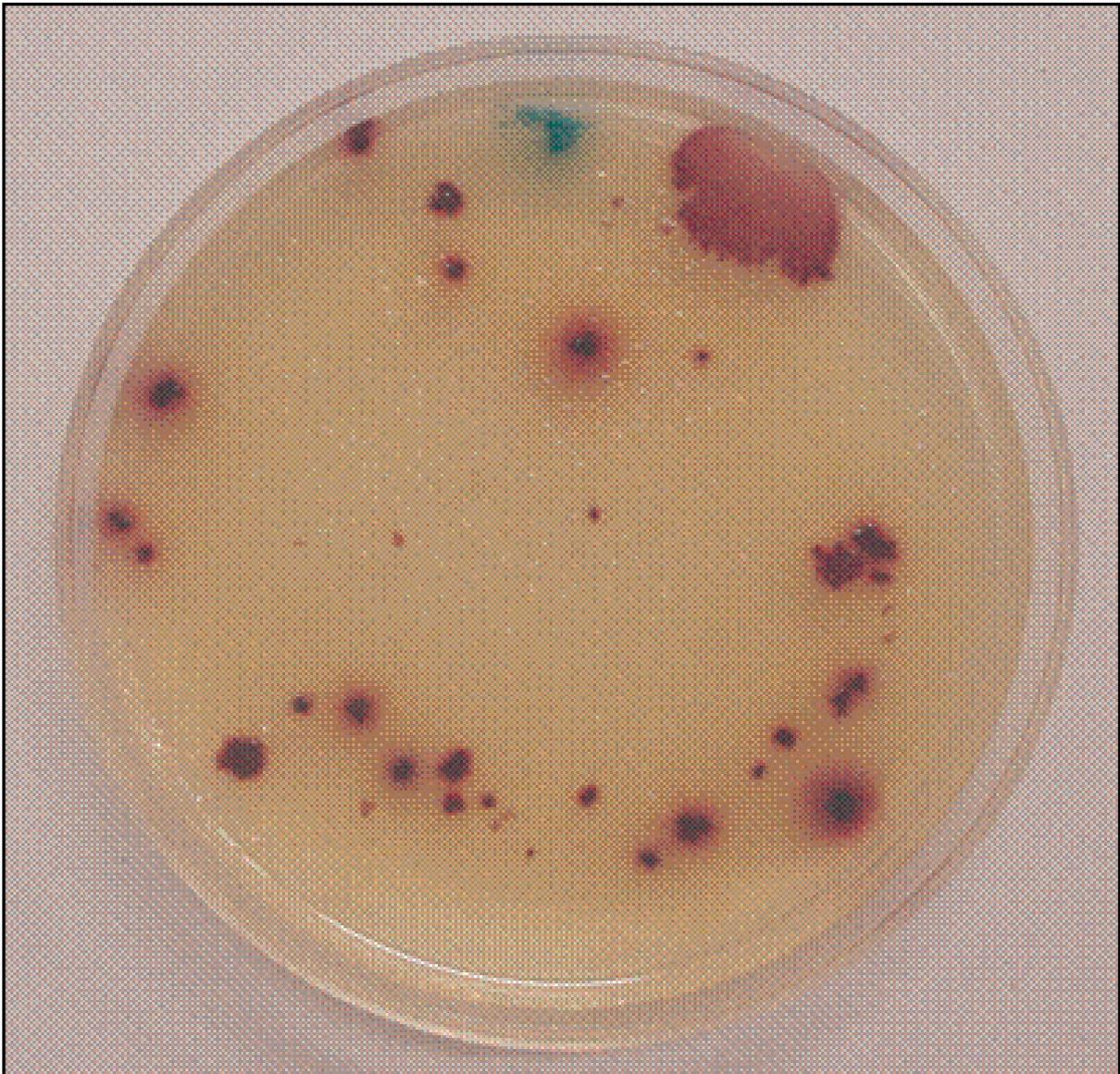


Abbildung 6: Chromocult® Coliform Agar mit *E. coli* Kolonien (blau-violett)

Dieser hat den Vorteil, dass neben *E. coli* auch coliforme Keime durch einen eindeutigen Farbunterschied gleichzeitig erfasst werden können. Der Nachweis mit Hilfe dieser chromogenen Medien basiert darauf, dass coliforme Keime das Enzym  $\beta$ -D-Galactosidase enthalten. Daraus entsteht in Verbindung mit dem Substrat Salmon-GAL eine lachsfarbene bis rote Färbung der Kolonie. *E. coli* besitzt neben diesem Enzym auch noch zusätzlich das Enzym  $\beta$ -D-Glucuronidase. Dieses erzeugt durch die Kombination mit dem Substrat X-Glucuronid eine zusätzliche Färbung<sup>19</sup>. Durch die Kombination der beiden Enzym-Substrat Komplexe entsteht dann gemeinsam ein blau-violetter Farbton, der auf der Abbildung 6 gezeigt wird. Obwohl die Enzymaktivität nach einer Desinfektionsmaßnahme durch UV-Licht weiterhin vorhanden ist, kann diese Nachweismethode trotzdem erfolgreich angewendet werden. Lediglich bei hohen

Konzentrationen an nicht vermehrungsfähigen *E. coli*-Keimen färbt sich aufgrund der Enzym-Substratreaktion die komplette Platte leicht violett ein. Im Gegensatz dazu sind die neu gebildeten Kolonien von vermehrungsfähigen *E. coli*-Keimen durch die typischen großen, kräftigen, violetten Farbpunkte weiterhin zu erkennen. Somit stört diese leichte Farbänderung der Platte die Auszählung von vermehrungsfähigen koloniebildenden Einheiten nicht. Dieser Effekt tritt bei anderen Desinfektionsmaßnahmen gar nicht auf.

Beispielhaft für die Identifizierung von Keimen in der TVO wird der Zeitaufwand des Nachweises von *E. coli* in Abbildung 7 detailliert beschrieben.

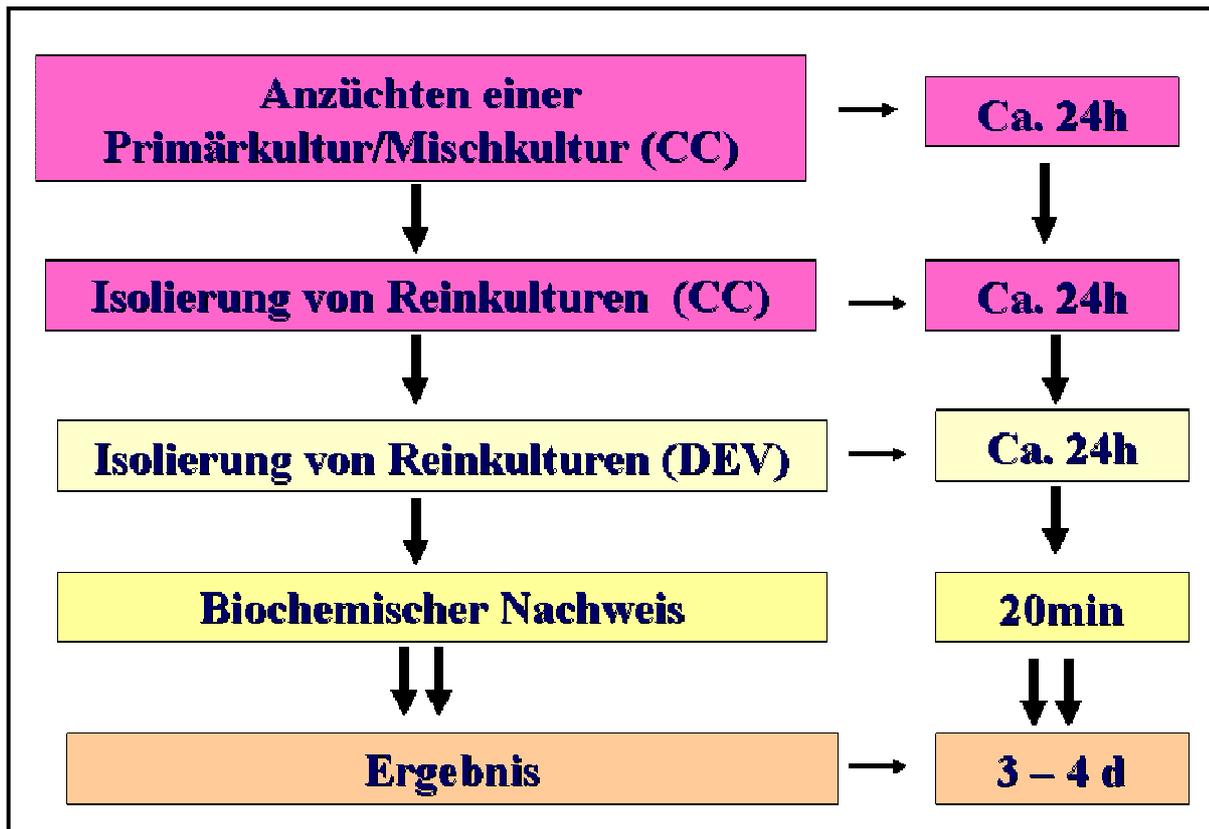


Abbildung 7: Dauer des Nachweises von *E. coli*

Durch Animpfung eines Chromocult-Nährbodens (CC) mit einer verunreinigten Wasserprobe wird eine Primärkultur herangezüchtet. Nach ca. 24 h können dann in Frage kommende Kolonien isoliert werden und als Reinkulturen überimpft werden. Die Reinkulturen werden dann auf DEV-Nährboden kultiviert und nach weiteren 24 h Inkubationszeit durch einen biochemischen Nachweis eindeutig nachgewiesen. Im Fall des Chromocult® Coliform Agar kann aber somit schon nach 24 Stunden ein potenzieller Befund angezeigt werden und entsprechende Vorsichtsmaßnahmen eingeleitet werden. Finney et al.<sup>20</sup> fand in seiner Arbeit über den Einsatz von Chromocult® Coliform Agar bei der Untersuchung von humanen Fäkalproben, dass eine über 88 %ige Wahrscheinlichkeit existiert, dass die durch eine blau-violette Farbe identifizierten potenziellen *E. coli*-Kolonien auch tatsächlich einen *E. coli* Befund darstellen. Für einen eindeutigen Nachweis, muss der Befund auf einem Chromocult® Coliform Agar auf jeden Fall durch einen biochemischen Test zusätzlich eindeutig bestätigt werden. Das gilt al-

lerdings auch für den Nachweis auf dem anfangs erwähnten TTC Agar.

### 2.2.2 Alternativverfahren zur Detektion von Mikroorganismen

Die folgende Übersicht über neuartige Untersuchungsverfahren für Mikroorganismen gibt einen kurzen Überblick über sehr unterschiedliche Ansätze zur Identifizierung von MO und der Möglichkeit der Quantifizierung. Darüber hinaus findet eine Diskussion über den sinnvollen Einsatz für die vorliegende Arbeit statt.

Bei enzymatischen Methoden werden den Medien synthetische Substrate zugesetzt, die von bestimmten Enzymen eines Mikroorganismus umgesetzt werden<sup>21</sup>. Die Auswertung erfolgt durch die Registrierung eines an den Enzym-Substrat-Komplex gekoppelten Farbstoffes oder Fluorogens. Ein Beispiel ist der Nachweis von *E. coli* mit Hilfe der Wirkung des eigenen Enzyms  $\beta$ -D-Glucuronidase<sup>22,23</sup>. Die Identifizierung mit dem Colilert®-Test erfolgt durch den Nachweis der  $\beta$ -Galactosidase, ein Enzym zur Laktoseverwertung, das üblicherweise von coliformen Bakterien gebildet wird. Die Bearbeitungszeit zur Testdurchführung beträgt laut Hersteller weniger als zehn Minuten, während die gesamte Nachweiszeit max. 24 Stunden beträgt. Das unter dem Namen Colilert® bekannte Testverfahren ist mittlerweile als Alternativverfahren in der novellierten TVO zugelassen. Durch den Colilert®-Test werden statt ursprünglich vier (TVO 1990) bzw. neun (Iso-Verfahren), mittlerweile ca. 15 Gattungen erfasst. Die zusätzlich erfassten Gattungen sind überwiegend solche Keime, die in der Umwelt (Boden und Wasser) vorkommen und nicht aus Fäkalieintrag entstanden sind<sup>24</sup>.

Immunologische Verfahren basieren auf dem Prinzip, dass sog. Antikörper meistens mit spezifischen Oberflächenstrukturen eines Mikroorganismus reagieren. Beispiele dafür sind der ELISA-Test für den Nachweis von Enterobacteriaceen mittels ECA (mikrobiologisch-immunologischer Nachweis eines Polysaccharid-Antigens<sup>25</sup>) und z.B. der Nachweis eines Hitzeschockproteins von Legionellen<sup>26</sup>. Bei diesem Test kann allerdings nicht zwischen lebenden, nicht vermehrungsfähigen oder abgestorbenen Keimen unterschieden werden.

Schalch<sup>27</sup> weist darauf hin, dass bei den modernen molekularbiologischen Methoden das genetische Material, das für den jeweiligen Organismus unveränderlich und spezifisch ist, zur Reaktion gebracht wird. Der Nachweis erfolgt mit Hilfe von kurzen, synthetisch hergestellten Erkennungssequenzen, sog. Gensonden, die an das komplementäre Genmaterial spezifisch andocken. Diese Andock- oder Hybridisierungsreaktion wird bei Abweichung einer einzigen Nukleotidbase verhindert. Es können zwei Verfahren zur Hybridisierung unterschieden werden. Die Hybridisierung bei der sog. Polymerase Chain Reaction (PCR) findet im Anschluss einer Vervielfältigung des genetischen Materials statt, das direkte Vereinigen in der Zelle mit der Sonde wird als „Fluoreszenz in-situ-Hybridisierung“ (FisH) bezeichnet. Um eine erfolgreiche Hybridisierung kenntlich zu machen, werden die Sonden mit fluoreszierenden Farbstoffen markiert. Es können sowohl DNA- als auch die häufigeren RNA-Sequenzen nachgewiesen werden. Die Detektion erfolgt dann mit unterschiedlichsten Systemen. Bei der VIT-Gensonden-Technik<sup>27</sup> wird mit einem Epifluoreszenzmikroskop die Auswertung durchge-

führt, während bei der Realtime-PCR durch eine Laseranregung des Reaktionsgefäßes und anschließender Detektion der Intensität der Fluoreszenzwellenlänge eine quantitative Aussage über die Anzahl der schon hybridisierten Sonden gemacht werden kann<sup>28</sup>. Häufig eignen sich für das sequenzspezifische Realtime-PCR-System das Zielgen 16S rRNA oder 16S rDNA zur Detektion von Eubakterien<sup>29</sup>, da es in fast allen prokaryotischen Zellen vorkommt. Bei den untersuchten TVO-Keimen handelt es sich ausschließlich um Eubakterien.

Ein System der Fa. Chemunex basiert darauf, dass auf einem verwendeten Anreicherungsfilter mit Hilfe eines Laserscans über die gesamte Oberfläche des Filters alle mit einem speziellen Fluoreszenzfarbstoff markierten Keime erfasst werden. Das Prinzip des Flow-Cytometers (Chemunex) basiert ebenfalls auf fluoreszenzmarkierten Keimen, die durch eine Fließzelle/Durchflusszelle gepumpt werden und dabei durch Laseranregung und Detektion quantifiziert werden können. Dabei kommen neben genetischen auch andere schon vorab genannte enzymatische und Antikörper basierte Markierungssysteme je nach Bedarf zum Einsatz. Der Vorteil liegt laut Hersteller in der Schnelligkeit der kompletten Analyse, die innerhalb von zwei Stunden ein Ergebnis liefert. Allerdings können mit diesem System bisher erst einige Keime untersucht werden<sup>30</sup>.

Alle molekularbiologischen Fluoreszenzsonden haben das gemeinsame Merkmal, dass an den untersuchten Gensequenzen oder anderen Andockstellen nicht mehr erkennbar ist, ob der zu ihnen gehörende Organismus noch längerfristig lebensfähig oder vermehrungsfähig ist. Bei der in dieser Arbeit verwendeten UV-Desinfektion ist die Vitalität der Keime nach der Behandlung auch weiterhin vorhanden, aber sie können sich nicht weiter vermehren und sterben erst nach Tagen ab. Dadurch sind aber auch solche PCR-Methoden (genauer Reverse Transkriptase-PCR), die einen schnellen Vitalitätstest mit Hilfe der mRNA beinhalten, für die hier durchgeführten Untersuchungen nicht Ziel führend. Zur Erklärung: Die m-RNA wird in abgestorbenen Zellen deutlich schneller als rRNA durch die RNasen abgebaut und kann somit schnell zum Nachweis der Vitalfunktionen einer Zelle dienen<sup>31,32</sup>. Für ozongeschädigte, abgestorbene Bakterienzellen könnte diese Methode eine Alternative darstellen, um einen DNA- oder rRNA-Positivbefund nachträglich auch als lebensfähigen Keimbefund auszuweisen. Bei einer Untersuchung, bei der nur DNA- oder rRNA-Material mit Hilfe der PCR-Technik nachgewiesen wird, kann nämlich nicht ausgeschlossen werden, dass noch DNA- oder rRNA-Material kurz nach der oxidativen Behandlung vorliegt, aber der Rest der Zelle schon durch Oxidationsprozesse teilweise zerstört wurde. Es ist also auch die Detektion von zerstörten oder lysierten Keimen möglich, wenn nur noch die entsprechende Gensequenz vorhanden ist. Außerdem liegt die Nachweisgrenze des PCR-Verfahrens im Bereich von wenigen Keimen pro Milliliter. Die nach der novellierten TVO (2003) geforderten Grenzwerte und auch die Grenzwerte der alten TVO beziehen sich aber auf Proben, die durch Membranfiltration von 100 ml Probevolumen auf einem Filter angereichert werden. Somit sind die geforderten Grenzwerte mehrere Logarithmus-Stufen kleiner. Biologische Anreicherungsschritte dauern 24-96 Stunden und bieten nicht die absolute Sicherheit, dass sich auch wirklich der gesuchte Keim durchsetzt und vermehrt. Deutlich häufiger liegt rRNA in den meisten Bakterienzellen vor<sup>33</sup>, dadurch kann eine höhere Sensitivität eines Nachweisverfahrens erzielt werden, aller-

dings mit der gleichen Aussageproblematik. Insgesamt sind durch diese Methoden Grenzen gesetzt, die eine schnelle Kontrolle des Erfolges der Desinfektionsmaßnahme nicht sicher ermöglicht.

Daher können bei diesen genetischen Methoden nur durch physikalische und mikrobiologische Anreicherungsverfahren, die mindestens 24 Stunden in Anspruch nehmen, ausreichend genaue Daten erzeugt werden, die die Anwesenheit bzw. Abwesenheit einer Spezies belegen aber nicht deren ursprüngliches quantitatives Vorkommen. Darüber hinaus besteht bei einer Anreicherung durch Vermehrung der MO immer die Gefahr, dass sich möglicherweise nicht die zu untersuchenden Keime vermehren und durchsetzen, sondern andere Keime. Aber es kann ein Rückschluss auf die Vermehrungsfähigkeit der Keime durchgeführt werden.

Allerdings bedeutet diese erzielbare Zeitersparnis einen sehr großen Vorteil gegenüber konventionellen Verfahren. Nachteilig erweist sich aber, dass der Nachweis mit Hilfe der Real-time-PCR-Technik relativ aufwändig ist. Im Vergleich dazu bietet z.B. der Colilert-Test bei einfachster Handhabbarkeit einen ähnlichen Zeitbedarf und lässt darüber hinaus noch quantitative Aussagen zu. Eine weitere Möglichkeit zur quantitativen Bestimmung der Keimzahl sind Transmissionsmessungen im Bereich des sichtbaren Lichts. Dabei ist darauf zu achten, dass durch die Eigenfärbung der Nährlösung die Transmissionsmessung nicht beeinträchtigt wird. Diese Messungen werden meistens nur zur Überwachung der Keimzahlen in Nährlösungen verwendet, um eine Abschätzung der Wachstumsphase vorzunehmen. Einschränkend wirkt sich bei diesem Verfahren aus, dass keine Unterscheidung der MO und keine Aussage zu deren Vermehrungsfähigkeit möglich sind. Die Methode bietet kaum Möglichkeiten zur Beurteilung der Desinfektionsleistung chemischer oder physikalischer Verfahren.

Bei der Fourier Transformierten-Infrarotspektroskopie (FT-IR) werden Isolate von kultivierten MO vermessen<sup>109</sup>, daher ist also sicher, dass die Keime tatsächlich noch vermehrungsfähig sind. Die suspendierten Isolate werden vakuumgetrocknet und dadurch bildet sich ein Film. Dieser wird dann auf einem Probenrad vermessen und es entstehen charakteristische Schwingungsmuster von Molekülen im Bereich des mittleren Infrarotbereiches ( $4000\text{ cm}^{-1}$ - $500\text{ cm}^{-1}$ ). Aufgrund der chemischen Informationen, die durch ein FT-IR-Spektrum gewonnen werden können, ist eine Identifizierung der Keime möglich, die bis auf die Stamm-Ebene reicht. Für die Unterscheidung von sehr pathogenen und wenig pathogenen *E. coli*-Stämmen reichen die Unterscheidungsmerkmale aus. Die Kultivierung und Vermessung der Isolate muss unter Standardbedingungen erfolgen, um die geringen Differenzen in den Spektren zu erfassen. Daraus gewonnene Datenbanken und Spektrenbibliotheken können als Vergleichsspektren zur Identifizierung von unbekanntem Keimen herangezogen werden. Die Kultivierungszeit beträgt je nach MO 24-48 Stunden. Zusätzlich wird ca. eine Stunde Bearbeitungszeit für die Probenvermessung von bis zu 15 Proben in einem Lauf aufgewendet. Tabelle 2 fasst die Eigenschaften von drei aufgeführten Methoden zusammen.

Tabelle 2: Eigenschaften von unterschiedlichen Nachweismethoden: Klassische mikrobiolog. Kultivierungsmethoden (TVO), FT-IR Analytik und Realtime-PCR

Eigenschaften	Klassische mikrobiol. Kultivierung (TVO)	FT-IR Analytik	Realtime-PCR
Zeitaufwand [d]	ca. 3-7	ca. 1-2	ca. 0,25-1 (Originalprobe) ca. 1-4 (nach biolog. Anreicherung)
Durchführung	Kultivierung + biochemische Tests	Kultivierung + FT-IR Spektrenauswertung	DNA- oder RNA-Nachweis
Aussage	Qualitativ/ Quantitativ	Qualitativ/ Quantitativ	(Qualit/Quant.) (nur An-/Abwesenheit)
Sicherheit des qualitativen Ergebnisses	Hoch	Hoch	Hoch
Quantitative Genauigkeit	Hoch	Hoch	Gering
Aufwand für quantitative Aussage	Visuelle Überprüfung auf Selektivnährböden	Abhängig von Anzahl d. Spektrenaufnahmen	Nur sehr eingeschränkt möglich
Nachweisgrenze	Mit Membranfiltration: ca. 1 [KBE/1000mL]	Mit Membranfiltration: ca. 1 [KBE/1000mL]	Originalprobe ca. 20000 Keime pro 100 mL
Vermehrungsfähigkeit der Keime	Nachweis möglich	Nachweis möglich	Kein Nachweis möglich
Arbeitsaufwand pro Identifikation	Mittel	Mittel-Hoch	Hoch
Kosten der gesamten Analytik	Niedrig (Nährböden und Analysekosten)	Mittel (Geräteanschaffungs- und Analysekosten)	Hoch (Geräteanschaffungs- und Analysekosten)

Fazit: Nur zwei der drei Untersuchungsmethoden eignen sich für die quantitative Untersuchung von Proben nach Desinfektionsversuchen bzw. für die Untersuchung von Proben mit geringen Mengen vermehrungsfähiger Keime. Die Realtime-PCR stellt zwar eine hervorragende Methode zur eindeutigen qualitativen Bestimmung von Keimen dar, fällt aber schon aufgrund der zu hohen Nachweisgrenze und fehlender Aussagekraft über die Vermehrungsfähigkeit der Keime für die in dieser Arbeit durchgeführten Untersuchungen aus. Ist der Nachweis der Vermehrungsfähigkeit der Keime auf Nährböden oder in entsprechenden Nährlösungen erbracht, können für die qualitative Untersuchung, also der Identifikation der Keime, sowohl die klassischen Untersuchungsmethoden, als auch die FT-IR Analyse und auch die Un-

tersuchung mit Hilfe der Realtime-PCR und andere biochemische Methoden angewendet werden.

## **2.3 Rechtliche Aspekte - Trinkwasserverordnung (TVO)**

### **2.3.1 Definition von Desinfektion und Sterilisation**

Eine absichtlich herbeigeführte Verminderung der Keimzahl (Reduzierung der Keimzahl)<sup>9</sup> wird als Desinfektion bezeichnet.

Sterilisation ist definiert als Elimination aller Mikroorganismen durch Abtrennung bzw. Abtötung. Es werden dabei alle biogenen Organismen (wie Keime, Plasmide, Viren, aktive Zellfragmente etc.), die sich in oder an einem Gegenstand oder Material befinden, inaktiviert<sup>8</sup>.

### **2.3.2 Vorgaben der Trinkwasserverordnung**

Die TVO gibt vor: „Wasser für den menschlichen Gebrauch muss frei von Krankheitserregern, genusstauglich und rein sein“. Dazu muss bei der Wassergewinnung, der Wasseraufbereitung und der Verteilung die allgemein anerkannten Regeln der Technik eingehalten werden und das Wasser für den menschlichen Gebrauch den in den folgenden Kapiteln formulierten Anforderungen entsprechen sowie die vorgegebenen Grenzwerte einhalten. Die Novellierung der Trinkwasserverordnung, die am 1. Januar 2003 in Kraft getreten ist, stellt in §5 Absatz 1 für mikrobiologische Parameter fest, dass im Wasser für den menschlichen Gebrauch keine Krankheitserreger im Sinne des §2 Nr. 1 des Infektionsschutzgesetzes in Konzentrationen enthalten sein dürfen, die eine Schädigung der menschlichen Gesundheit bewirken. Eine detailliertere Darstellung der Vorgaben befindet sich im Anhang unter Punkt A.3<sup>34</sup>.

Die Anforderungen an die Trinkwasseraufbereitungsanlagen schreiben in §5 Absatz 4 der TVO dem Betreiber einer Wasserversorgungs- oder Wasseraufbereitungsanlage beim Nachweis von mikrobiologischen Belastungen, die zum Auftreten einer übertragbaren Krankheit führen, den Einbau einer Desinfektionsanlage bei der Wasseraufbereitung vor. Darüber hinaus gilt für Leitungsnetze oder Teile davon, in denen die Anforderungen bezüglich der mikrobiologischen Parameter nicht eingehalten werden können, dass der Betreiber einer Wasserversorgungsanlage verpflichtet ist, eine hinreichende Desinfektionskapazität in Form von Chlor oder Chlordioxid vorzuhalten.

Zur Aufbereitung von Wasser für den menschlichen Gebrauch dürfen nur solche Aufbereitungsstoffe verwendet werden, die vom Bundesministerium für Gesundheit in einer Liste im Bundesgesundheitsblatt bekannt gemacht worden sind. Diese Liste wird von der Abteilung „Trink- und Badebeckenwasserhygiene“ des Umweltbundesamtes erstellt und fortgeführt. In der jeweils aktuellen Fassung der Liste sind in tabellarischer Form im Teil 1-2 Aufbereitungs-

stoffe und Desinfektionsverfahren aufgeführt<sup>34</sup>.

Die Teile 1a und 1b führen alle gelösten, gasförmigen und festen Stoffe auf, die Wasser zugeführt werden dürfen. Teil 1c listet alle Aufbereitungsstoffe auf, die zur Desinfektion des Wassers eingesetzt werden.

Teil 2 erfasst alle zugelassenen Desinfektionsverfahren. Zugelassen sind nach diesen Tabellen unter anderem die Erzeugung und Dosierung von Ozon und Ozonlösungen vor Ort mit einer definierten Maximaldosierung von 10 mg/L für die Trinkwasseraufbereitung und einer Endkonzentration von 50 µg/L, wenn es dem Verbraucher zur Verfügung gestellt wird. Für Ozonanlagen gelten die unter §5 Absatz 4 formulierten Anforderungen bezüglich des Verteilungsnetzes. Dieses Desinfektionsverfahren ist allerdings nicht anwendbar für die Aufrechterhaltung einer Desinfektionskapazität im Verteilungsnetz, da es nur über eine geringfügige Depotwirkung verfügt.

Weitere Verfahren sind die Dosierung von Chlorgaslösungen, Dosierung von Natrium- und Calciumhypochloritlösungen, elektrolytische Herstellung und Dosierung von Chlor vor Ort und eine Dosierung einer vor Ort hergestellten Chlordioxidlösung. Andere Chemikalien (z.B. Wasserstoffperoxid) sind nicht für Desinfektionszwecke sondern nur für die reine Oxidation von Wasserinhaltsstoffen vorgesehen. Für Wasserstoffperoxid gilt eine maximale Dosierung von 17 mg/L. Die Restkonzentration bei Abgabe in ein Leitungsnetz darf nicht höher sein als 100 µg/L. Der Einsatzzweck beschränkt sich aber auf die Oxidation von Wasserinhaltsstoffen und nicht auf eine Desinfektionswirkung.

In der Liste der Wasseraufbereitungsstoffe und Desinfektionsverfahren<sup>35</sup> sind nur solche UV-Anlagen zulässig, die gemäß technischer Regel geprüft sind und eine Desinfektionswirksamkeit entsprechend einer Bestrahlungsleistung von mindestens  $400 \text{ J/m}^2 = 40 \text{ mJ/cm}^2$  (bezogen auf die Wellenlänge von 254 nm) einhalten. Grundsätzlich ist die Behandlung mit UV-Licht zwischen 240 und 290 nm erlaubt. Eine maximale Dosis wird nicht vorgegeben, eine Begrenzung ist aber aus ökonomischen Gründen sinnvoll. Darüber hinaus gilt auch für UV-Anlagen, dass das Verfahren nicht anwendbar ist für die Erzeugung einer Depotwirkung in einem Verteilungsnetz. An dieser Stelle gelten wieder die unter §5 Absatz 4 erläuterten Vorgaben.

Die für dieses Projekt relevanten Verfahren, auf die in den nachfolgenden Kapiteln eingegangen wird, sind die Desinfektion durch Ozon, Wasserstoffperoxid und UV-Strahlung. Membranverfahren, die zur Reinigung und zur Abtrennung von Mikroorganismen eingesetzt werden, bewirken nach Definition ebenfalls eine Desinfektionswirkung.

---

## 2.4 Chemische und physikalische Trinkwasseraufbereitungsverfahren

### 2.4.1 Reinigung durch druckgetriebene Membranverfahren

Grundsätzlich kommen unterschiedliche Verfahren zur Trennung von Stoffgemischen in Frage<sup>37</sup>. Einerseits können thermische Verfahren angewandt werden, die eine Trennung unterschiedlicher Komponenten mit hohem Energieaufwand ermöglichen. Diese so genannten Verdampfer trennen leichter flüchtige Komponenten von schwerer flüchtigen Komponenten. Gleichzeitig kann bei entsprechender Prozessauslegung durch die Erhitzung des zu trennenden Mediums eine Desinfektion stattfinden. Ein solches Verfahren ist dann sinnvoll, wenn ausreichende Mengen ungenutzter Abwärme vorliegen oder das zu bearbeitende Medium schon eine große thermische Energie beinhaltet.

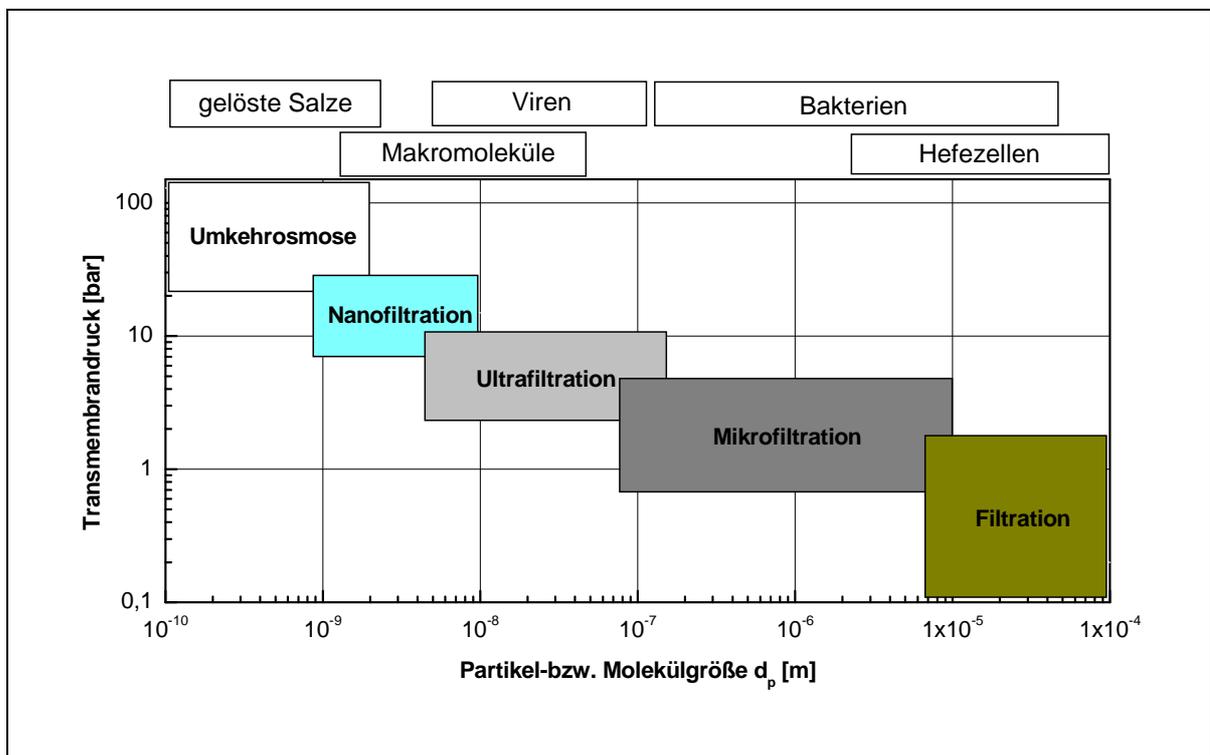


Abbildung 8: Einsatzbereiche druckgetriebener Membranverfahren<sup>36</sup>

Neben dieser klassischen Alternative stellen druckgetriebene Membranverfahren eine weitere Möglichkeit zur Stofftrennung dar. Abbildung 8 veranschaulicht die Einsatzbereiche der unterschiedlichen Membranverfahren. Die Ordinate zeigt die typischen Transmembrandrücke, die für eine Trennung aufgewendet werden müssen. Die Abszisse zeigt die abtrennbaren Partikelgrößen bzw. den Rückhalt des biogenen Materials des jeweiligen Filtrationsprozesses.

Membranverfahren sind rein physikalisch wirkende Trennverfahren. Für einen Stofftransport durch eine Membran ist eine entsprechend gerichtete Triebkraft erforderlich. Im Fall einer

konvektiv durchströmten Porenmembran ist die Triebkraft eine transmembrane Druckdifferenz<sup>37</sup>.

Bei sogenannten „dichten“ Membranen, in denen fast ausschließlich diffuse Transportprozesse ablaufen, stellt eine Differenz der chemischen Potentiale der einzelnen Komponenten zwischen Feed- und Permeatseite die Triebkraft der Permeation dar. Diese Potentialdifferenz kann durch einen Konzentrationsgradienten der gelösten Stoffe oder eine Druckdifferenz des Wassers erzeugt werden. Mit Hilfe des Lösungs-Diffusions-Modells kann der Mechanismus, der dem Stofftransport durch die Membran zu Grunde liegt, beschrieben werden. Bei diesem Modell wirkt die Membran als dichte Trennschicht. Der Feedstrom und seine gelösten Inhaltsstoffe lösen sich in der Membran und diffundieren durch sie hindurch. Eine Komponente mit hoher Affinität zum Membranpolymer weist eine gute Löslichkeit in dieser auf. Die Stoffe, die zurückgehalten werden sollen, sind in der verwendeten Membran nur schlecht löslich und/oder besitzen eine geringe Diffusionsgeschwindigkeit, so dass in der gleichen Zeit deutlich mehr der gewünschten Stoffe durch die Membran hindurchtreten. Bei anderen Verfahren, wie z.B. der Elektrodialyse (ED) oder der Elektrodeionisation (EDI), die z.B. zusätzlich für die Reinstwasserherstellung im Pharmabereich eingesetzt werden, wirkt hingegen ein orthogonal zur Membran anliegendes elektrisches Feld als Triebkraft<sup>37</sup>. Die rein druckgetriebenen Membranverfahren unterscheiden sich sowohl in der Trenngrenze, d.h. der Größe der abtrennbaren Teilchen sowie auch bezüglich der transmembranen Druckdifferenz. Die Mikrofiltration wird mit dem geringsten Transmembrandruck der hier aufgeführten Filtrationsmethoden betrieben. Neben der Entfernung von Schwebstoffen bzw. der Aufkonzentrierung von Suspensionen wird dieses Verfahren auch zur Abtrennung von Bakterien verwendet. Im Gegensatz zu Bakterien werden Viren aufgrund ihrer geringen Größe durch Mikrofiltrationsmembranen nicht vollständig zurückgehalten. Für eine quantitative Abtrennung viraler Komponenten wird eine Ultrafiltration benötigt. Nanofiltrationsmembranen stellen eine hohe Barriere für mehrwertige, anorganische Ionen dar. Für die Entfernung von einwertigen Ionen werden Umkehrosomemembranen eingesetzt. Der Rückhalt anorganischer Salze ist gegenüber den Nanofiltrationsmembranen unselektiv und beträgt üblicherweise über 95 %. Für den Rückhalt von Salzen, organischen Substanzen sowie von Mikroorganismen wie sie auch in biologisch aufbereiteten Abwässern vorkommen, können Membranverfahren daher als geeignetes mehrstufiges Barrierekonzept fungieren. Zu berücksichtigen ist aber, dass auch nach diesen Behandlungsmethoden weiterhin Lebensräume für Mikroorganismen entstehen.

## 2.4.2 Hygienische Stabilität des aufbereiteten Wassers

Desinfektionsmittel bewirken bei Mikroorganismen in Biofilmen sehr unterschiedliche Ergebnisse. Es sind mindestens ein bis dreifach höhere Konzentrationen und deutlich längere Einwirkzeiten notwendig für den gleichen Desinfektionseffekt als für frei suspendierte Keime<sup>38</sup>. Keime in Biofilmen werden häufig unvollständig abgetötet und verbleiben im System. Daraus entwickelt sich eine mehr oder weniger schnelle Wiederverkeimung. Die Ermittlung der erforderlichen Desinfektionsmittelmengen für die Zerstörung von Biofilmen ist aufgrund

---

der komplexen und schwer reproduzierbaren Matrix nur bedingt möglich.

Chlor durchdringt Biofilme nur unvollständig<sup>39</sup>. Bei der Untersuchung der Zusammensetzung von Biofilm-Populationen in Trinkwasser und in den Korrosionsprodukten in Trinkwasserleitungen<sup>40</sup> zeigte sich, dass in gechlortem Wasser erheblich weniger positive Befunde auftraten als in ungechlortem. Viele der Keime fanden sich aber in den Korrosionsprodukten wieder. Die Matrix aus Biofilm und Korrosionsprodukt schützt sie offensichtlich sehr wirkungsvoll gegen das Chlor.

Pseudomonaden-Isolate, die in Biofilmen technischer Wassersysteme gefunden wurden, wiesen aufgrund von EPS (Extrazelluläre Polymere Substanz) eine höhere Resistenz auf<sup>41</sup>. EPS wird jedoch durch Wasserstoffperoxid oder Silber angegriffen. Die Wirksamkeit von Ozon, Cl<sub>2</sub> und H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> zur Desinfektion von Biofilmen weist gravierende Unterschiede bei den erforderlichen Dosierungen auf. Ozon erzielte im Vergleich zu Cl<sub>2</sub> und H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> schon mit Dosen, die geringer als 10 % der Chlordosierung und weniger als 1 % der H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-Dosierung betragen, in kürzerer Zeit bessere Ergebnisse<sup>42</sup>. Ähnliche Ergebnisse konnten mit Pseudomonaden und Enterobacter erzielt werden<sup>43</sup>.

Zur Entfernung von Biofilmen sind relativ hohe Chlor-Dosen notwendig. Konzentration von ca. 4 mg/L freiem Chlor und eine Einwirkungszeit von acht Stunden konnten den Biofilm auf der Oberfläche nur um 80 % reduzieren<sup>44</sup>. Biofilme konnten sogar an Innenflächen von Desinfektionsmittelrohrleitungen isoliert werden<sup>45</sup>.

Einige Pathogenkeime im Wasser sind gegen Chlorung des Wassers teilweise resistent. Als Beispiel kann hier *Cryptosporidium oocysts*<sup>46</sup> angeführt werden. *Cryptosporidium* ist ein Protozoen, ein einzelliger Parasit, der manchmal in Trinkwasserverteilungsnetzen vorkommt. Er hat keine Zellwand, aber im Gegensatz zu Bakterien einen Zellkern.

Effektiv dagegen erweist sich die Behandlung mit Ozon im Rahmen der in der TVO maximal anwendbaren Dosis. Mit Hilfe der PCR-Analytik konnte bei Ozonanwendung sogar die Zerstörung von DNA-Material nachgewiesen werden<sup>47</sup>, woraus unter anderem auch Plasmide bestehen. In technischen Systemen wird aus diesem Grund Ozon zur Ablösung und Vermeidung von Biofilmen eingesetzt<sup>48</sup>. Ozon führt kaum zur Bildung unerwünschter Nebenprodukte und erweist sich meistens effektiver als Chlor. Ozon weist gegenüber chlorhaltigen Oxidationsmitteln sogar eine THM-reduzierende Wirkung bei der Anwendung auf Trinkwässer auf<sup>49,50</sup>. Ozon trägt zur Schwächung der Matrix eines Biofilms in ähnlicher Weise wie Chlor bei und wird durch Reaktion mit den EPS gezehrt. Die Stabilität des Biofilms wird durch Zerstörung der matrixbildenden Makromoleküle zerstört. Sie werden dann durch zunehmende Scherkräfte besser ausgetragen<sup>51</sup>. In Rohrleitungssystemen kann zusätzlich noch Ozon eingespeist werden, so dass das Biofilmwachstum unterdrückt oder gebildeter Biofilm entfernt wird<sup>52</sup>. Letztlich relevant an der Wasserentnahmestelle ist aber, dass die durch Oxidationsprozesse und Scherkräfte remobilisierte Matrix und die darin befindlichen Mikroorganismen effektiv inaktiviert werden. Besonders geeignet für die Überprüfung der Desinfektionsleistung sind daher Keime, die eine hohe Resistenz gegenüber Desinfektionsmaßnahmen aufweisen.

Diese Resistenz kann unter anderem aufgrund von EPS- und Sporenbildung zustande kommen. Mit Hilfe von mobilisiertem EPS in Form von Flocken kann dann die eigentlich relevante Desinfektionsleistungsfähigkeit des verwendeten Biozids untersucht werden. Dazu wird in der Industrie häufig der Keim *Bacillus subtilis* verwendet<sup>53</sup>.

#### 2.4.2.1 Maßnahmen zur Reduzierung des Biofilmwachstums

Um eine Reduzierung des Biofilmwachstums in Trinkwasserversorgungssystemen zu erzielen, wird in der Literatur auf unterschiedliche Maßnahmen verwiesen. Am Wichtigsten ist die Entfernung biologisch abbaubarer Inhaltstoffe (verwertbare Substrate) aus dem in das Trinkwasserverteilungssystem eingeleiteten Wasser. Das Wachstum der Keimzahlen steht in direktem Zusammenhang mit dem Substratangebot<sup>54,55</sup>. Daher sollte bei der Gewinnung des Wassers auf einen möglichst geringen Gehalt an organischer Matrix geachtet werden. Durch die Anwendung oxidativer Verfahren wird die Bioverfügbarkeit von organischen Substanzen tendenziell wieder erhöht. In jedem Fall sollte bei der Installation von Trinkwasserleitungen, Behältern etc. darauf Wert gelegt werden, dass es sich um biologisch stabiles Material handelt, damit nicht schon an dieser Stelle eine Kohlenstoffquelle zur Verfügung gestellt wird. Allerdings ist Biofilmwachstum auf den unterschiedlichsten Materialien bekannt.

Um<sup>56</sup> die Unterstützung des Biofilmwachstums durch abbaubare Substanzen zu erfassen, die aus den verwendeten Werkstoffen herausdiffundieren können, wird in Deutschland das DVGW-Arbeitsblatt W 270 angewendet. Die Population und die Besiedlungsdichte auf verschiedenen im Trinkwasser-Bereich eingesetzter Werkstoffe wurde in zahlreichen Untersuchungen geprüft. Dabei wurden im Wesentlichen Edelstahl, Polyvinylchlorid, Polyethylen, Kupfer und Vergleichsmaterialien wie Glas und Paraffin untersucht. Während bei Versuchszeiten von Tagen bis Wochen signifikante Unterschiede in der Besiedlungsdichte gefunden wurden<sup>57</sup>, glichen sich diese bei längerer Expositionszeit wieder aus. Nach maximal neunmonatigem Betrieb zeigten sich flächendeckende Biofilme auf PE-Rohren sowie auf bitumenbeschichteten Stahlrohren<sup>58</sup>. Selbst Kupfer, dessen frische Oberfläche zunächst signifikant geringer besiedelt wird, zeigt nach Monaten bis Jahren ebenfalls einen Biofilmbewuchs<sup>59</sup>.

Darüber hinaus ist die erfolgreiche anfängliche Keimzahlreduzierung (Primärdesinfektion) relevant für die anschließende Rückverkeimungstendenz. Eine effektive Primärdesinfektion vermindert den Eintrag von pathogenen Keimen in das Rohrleitungsnetz. Biofouling auf Membranoberflächen oder anderen Flächen kann z.B. durch eine schwache Ozonbehandlung erfolgreich unterdrückt werden<sup>60</sup>.

Des Weiteren kann die Vermeidung von strömungsfreien- oder armen Rohrleitungsabschnitten in einem Leitungssystem auch zu einer Verminderung des Wachstums beitragen. Ringleitungssysteme, die einen permanenten Fluss des Wassers gewährleisten, sind vorteilhaft<sup>140</sup>.

### 2.4.2.2 AOC- und DOC-Gehalt

Der AOC-Gehalt (assimilierbare organische Verbindungen) beschreibt organische Verbindungen, die biologisch leicht verfügbar sind. Während der DOC alle gelösten organischen Verbindungen erfasst, werden durch den AOC nur solche Verbindungen erfasst, die von Mikroorganismen leicht abgebaut werden können. Der AOC-Gehalt hat somit einen entscheidenden Anteil bei der Wiederverkeimung von Trinkwasser<sup>61</sup>, da sich mit einem steigenden Substratangebot ein beschleunigtes Mikroorganismenwachstum einstellt. Die Anwendung oxidierender Desinfektionsmittel kann nachteilige Wirkungen erzielen. Sowohl die Einwirkung von Chlor<sup>62</sup> als auch von Ozon<sup>63,64</sup> auf eine organische Matrix kann zur Freisetzung biologisch verwertbarer Abbauprodukte auch aus refraktären Stoffen führen und damit das mikrobielle Wachstum begünstigen<sup>65</sup>. Organische Moleküle mit Doppelbindungen können zu Carbonsäuren und Aldehyden oxidiert werden, oder es können komplette Ringsysteme gespalten werden, und es entstehen daraus Dicarbonsäuren. Bei der Anwendung von Ozon auf einen DOC-Gehalt wird von Maier et al.<sup>66</sup> eine Menge von 0,5 g bis 1,5 g Ozon je g DOC als optimale Dosis empfohlen, da der größte Teil der bisher untersuchten verschiedenen Wirkungen des Ozons auf die natürlichen organischen Wasserinhaltsstoffe bereits bei diesen Konzentrationen weitgehend abgelaufen ist.

Auch in weiteren Arbeiten von van der Kooij<sup>67,68</sup> konnte nachgewiesen werden, dass die AOC-Konzentration linear mit der Ozondosis anstieg. Es werden unterschiedliche Maßnahmen diskutiert, um eine möglichst geringe Menge an AOC im zu behandelnden Trinkwasser zu erzielen. Eine Variante stellt der zusätzliche Einbau einer biologischen Aufbereitungsstufe in Form einer Aktivkohlefiltration dar<sup>69</sup>. Durch die Aktivkohlefiltration kann im ersten Teil eines solchen Filters überschüssiges Oxidationsmittel adsorbiert werden. Nach Abtrennung des Oxidationsmittels, wird dann im zweiten Teil des Filters ein ausreichender Bewuchs mit Mikroorganismen auf der Aktivkohle immobilisiert. Durch den dort stattfindenden biologischen Abbau kann eine Verringerung des AOC-Gehaltes und des Wiederverkeimungspotenzials erzielt werden. Der durch Ozonung gebildete eher polare AOC-Gehalt lässt sich durch eine rein adsorptive Aktivkohlenachbehandlung nicht ausreichend reduzieren, da tendenziell unpolare Verbindungen auf der A-Kohle adsorbiert werden. Eine nachgeschaltete Maßnahme zur Reduzierung des AOC-Gehaltes durch mikrobiologischen Abbau (Aktivkohlebiofilter) käme in diesem Fall allerdings nur dann in Frage, wenn anschließend durch eine UV-Behandlung remobilisierte Mikroorganismen effektiv inaktiviert werden könnten. Im vorliegenden Anlagenkonzept ist eine Senkung des Wiederverkeimungspotential möglicherweise auch zwischen zwei UO-Membranstufen mit einem Aktivkohlebiofilter erfolgreich einsetzbar, so dass eine zweite UO-Stufe zur erneuten Abtrennung der erhöhten Mikroorganismenpopulation dienen kann.

## 2.4.3 Desinfektion durch Ozon

### 2.4.3.1 Eigenschaften

Ozon stellt eine dreiatomige, allotrope Modifikation des Sauerstoffs dar<sup>70</sup>. Es ist ein blaues, thermodynamisch instabiles Gas mit einem Schmelzpunkt von  $-192,5\text{ °C}$  und einem Siedepunkt von  $-110,5\text{ °C}$ <sup>78</sup>.

Als stark endotherme und daher thermodynamisch instabile (kinetisch metastabile) Verbindung neigt Ozon dazu, unter Bildung von Sauerstoff zu zerfallen. Daher ist flüssiges Ozon selbst bei sehr niedrigen Temperaturen von  $-120\text{ °C}$  noch sehr explosiv.

Die Bildung von Ozon kann durch Bestrahlung von  $\text{O}_2$  mit UV-Licht ( $\lambda < 242\text{ nm}$ ) erzielt werden und wird z.B. technisch in UV-Breitbandstrahlern genutzt. Die Photolyse, also der durch Licht hervorgerufene Zerfall von Ozon, führt bei Wellenlängen  $\lambda > 310\text{ nm}$  zu O-Atomen im Grundzustand ( $^3\text{P}$ ), mit Strahlen der Wellenlänge  $\lambda < 310\text{ nm}$  zu O-Atomen im angeregten Zustand ( $^1\text{D}$ )<sup>70</sup>. Ozon absorbiert in der so genannten Hartley Bande und zeigt somit bei  $\lambda = 220 - 320\text{ nm}$  starke Absorption. Die Hartley-Bande besitzt in der Nähe der Wellenlänge  $\lambda = 256\text{ nm}$  ein Maximum<sup>78</sup>.

In verdünntem Zustand erfolgt der Zerfall bei gewöhnlicher Temperatur nur sehr langsam. Die Zersetzungsgeschwindigkeit in Lösung nimmt bei zunehmender Alkalität zu. Die Zersetzungsgeschwindigkeit wird durch Bestrahlen mit längerwelligem Ultraviolett-Licht erhöht. Diese Eigenschaft, durch die die energiereiche UV-Strahlung der Sonne in der Stratosphäre absorbiert wird, ist lebensnotwendig für das Leben auf der Erde<sup>70</sup>. Diese Eigenschaft ermöglicht es aber auch in wässrigen Systemen, einen Zerfall des Ozons (Photolyse) in besonders reaktive Intermediate, z.B. OH-Radikale durch UV-Quecksilberniederdruckstrahler bei einer Wellenlänge von  $\lambda = 254\text{ nm}$ , zu bewirken. Diese kurzlebigen Zwischenprodukte sind in der Lage, auch schwer oxidierbare organische Verbindungen anzugreifen. Darüber hinaus kann diese Eigenschaft erfolgreich bei der Restozonreduzierung mit UV-Licht eingesetzt werden, da durch die TVO eine Maximalkonzentration an gelöstem Ozon vor Abgabe an einen Verbraucher in Höhe von  $50\text{ }\mu\text{g/L}$  vorgeschrieben ist.

Aufgrund des hohen Normalpotenzials ist Ozon neben Fluor das stärkste bekannte Oxidationsmittel und wird häufig für Desinfektionszwecke verwendet. Es oxidiert fast alle Metalle und greift die meisten anderen Stoffe an<sup>72</sup>, daher ist auf eine geeignete Materialwahl im Reaktionsbereich zu achten. Gasförmiges Ozon kann in Kontakt mit organischen Materialien z.B. Aktivkohle, Fette, Öle und Gummi zur Explosion führen<sup>71</sup>. Ozon selbst brennt nicht, fördert aber die Verbrennung anderer Substanzen. Ozon ist 1,5 mal so schwer wie Luft, aber die Gefahr, dass es sich am Boden oder in Vertiefungen ansammeln könnte, ist jedoch gering, da es im technischen Anwendungsbereich nicht als reines Gas, sondern nur im Gemisch mit Luft oder Sauerstoff vorkommt. Die Beständigkeit des Ozons in der Gasphase nimmt mit steigender Temperatur und Konzentration ab. Ozon ist in Wasser gering löslich, jedoch noch erheb-

lich besser als Sauerstoff. Bei 20 °C und einem Partialdruck von 1,013 bar beträgt die Löslichkeit von Sauerstoff  $c = 1,38 \cdot 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$  und von Ozon  $c = 1,2 \cdot 10^{-2} \text{ mol dm}^{-3}$ , das entspricht in etwa einer 8,6 fach höheren Löslichkeit<sup>72</sup>.

Für die Wasseraufbereitung ist Ozon das stärkste zugelassene Oxidationsmittel. Die Zerfallsgeschwindigkeit von im Wasser gelöstem Ozon wird außer von der Temperatur, Konzentration und dem pH-Wert auch von den organischen und anorganischen Wasserinhaltsstoffen beeinflusst. Sie ist wesentlich größer als in der Gasphase. Hierbei ist die zerfallende absolute Ozonmenge innerhalb eines Zeitintervalls umso größer, je höher die Ozonausgangskonzentration ist. Die Zerfallsgeschwindigkeit des Ozons ist proportional der Ozonkonzentration. Für natürliches Wasser sind Halbwertszeiten bei 13 °C von ca. 9 Minuten gemessen worden und bei 44 °C von 0,5 Minuten<sup>72</sup>. In der Praxis sollte daher aus energetischen Gründen eine übermäßige Ozondosierung vermieden werden, um nicht unnötig große Ozonmengen zerfallen zu lassen. Allerdings steigert eine erhöhte Ozonkonzentration die Reaktionsgeschwindigkeit von Wasserinhaltsstoffen und es kommt insgesamt zu einer besseren Raum-Zeitausbeute im Reaktor.

### 2.4.3.2 Technische Herstellung von Ozon

Die Darstellung des Ozons erfolgt im technischen Maßstab aus molekularem Disauerstoff<sup>70</sup>. Im ersten Schritt wird durch eine endotherme Reaktion molekularer Sauerstoff in einzelne Sauerstoffatome gespalten. Im zweiten Schritt reagiert ein Sauerstoffatom mit molekularem Sauerstoff exotherm zu Ozon. Insgesamt gilt für die endotherme Reaktion:



Das kinetisch metastabile Ozon kann technisch nach dem Prinzip des Ozonisators von W. von Siemens (1857) durch stille elektrische Entladung gewonnen werden. Dazu wird in einem Gasraum zwischen zwei Elektroden, die durch ein Dielektrikum getrennt sind, ein Hochspannungsfeld angelegt. Beim Durchleiten eines sauerstoffhaltigen Gases kommt es zur stillen elektrischen Entladung, die zur Ozonbildung führt.

Heute verfügbare Ozonerzeuger können nach Herstellerangaben aus technischem Sauerstoff Ozon in einer Konzentration von bis zu 16 % (Gewichtsprozent) mit einem spezifischen Energieaufwand zwischen 6-10 kWh pro kg erzeugen<sup>73</sup>. Die Anlagen werden sowohl mit vorgeschalteten Sauerstoffflaschen als auch mit Anreicherungsverfahren betrieben. Bei der Anreicherung können Sauerstoffgehalte von 95 % erzielt werden. Durch diese Methode kann auf einen häufigen Wechsel von Flaschen bzw. die Einrichtung einer Sauerstoffinfrastruktur verzichtet werden und die Anlage kann deutlich mobiler für Versuchsanwendungen eingesetzt werden. Unter Sicherheitsaspekten ist die Verwendung von Anreicherungsgeräten, die direkt im Umfeld des Ozonerzeugers installiert werden können, für Versuchsanlagen vorteilhaft. Nicht nur von Ozon, sondern auch von reinem Sauerstoff geht ein deutliches Sicherheitsrisiko in Bezug auf eine Brandgefahr aus.

### 2.4.3.3 Lösen von Ozon in wässrigen Medien

Der effektive Ozoneintrag in das wässrige Medium ist die Grundvoraussetzung für eine Reaktion des Ozons mit Wasserinhaltsstoffen<sup>74</sup>. Er kann durch Injektoren, Füllkörperkolonnen, Waschkammern, Kreislaufbelüfter oder Fritten etc. erfolgen. Der Ort der Ozoneinspeisung kann unabhängig vom Anwendungszweck an einer Stelle oder an mehreren Stellen im Aufbereitungsvorgang vorgenommen werden (z.B. auch Kaskadenartig im Gegenstrom). Auch die Ozonung unter erhöhten Druck findet Anwendung. Vorteilhaft wirkt sich die bessere Löslichkeit des Ozons im Wasser aus.

Der Stofftransport des Ozons in die Flüssigphase lässt sich mit Hilfe der Zweifilmtheorie nach Lewis und Whitman beschreiben<sup>74</sup>. Das Lösen von Ozon in Wasser ist ein Absorptionsvorgang, der in folgenden Teilschritten abläuft:

- Transport der absorbierenden Komponente (in diesem Fall Ozon) an die Grenzfläche zwischen Gas und Flüssigkeit
- Durchtritt durch die Grenzfläche (Gas/Flüssigkeit)
- Transport der absorbierten Komponente in die Hauptphase also dem Flüssigkeitsinneren (bulk-Phase).

Um eine optimale Desinfektion zu gewährleisten, sind neben der Dosiervorrichtung, dem Stoffübergang und der Reaktionszeit auch die hydrodynamischen Verhältnisse im Reaktor relevant. Durch Mischvorgänge muss gewährleistet sein, dass keine Toträume oder Kurzschlussströme auftreten<sup>75</sup>. Im vorgesehenen Anlagenkonzept wurde eine Blasensäule verwendet. Hier kann durch den Aufströmkanal oberhalb der Einlassfritte und dem am Rand entstehenden Abströmkanal eine Durchmischung des Reaktorinhaltes realisiert werden.

### 2.4.3.4 Inaktivierung von Mikroorganismen mit Ozon

Zellen, die Ozon ausgesetzt sind, werden zuerst an den Kapseln, Zellwänden und Membranen angegriffen<sup>89</sup>. Die Stärke der Zellwand kann dabei die Geschwindigkeit der oxidativen Zerstörung der kompletten Zelle beeinflussen. Die Zerstörung der in der Membran enthaltenen Proteinmoleküle wird durch Oxidation der Aminosäurereste erzielt. Die Oxidationsempfindlichkeit des Tryptophans und Cysteins ist besonders ausgeprägt. Die Ozoneinwirkung bewirkt durch die Oxidation der Lipide in der Zellmembran eine Modifikation der gesamten Membranstruktur, die die Permeabilität erhöht und die membrangebundenen Enzyme inhibiert. Da die Erbinformation in Bakterienzellen nicht von einer Kernmembran im Cytoplasma geschützt wird<sup>10</sup>, kann nach Zerstörung der Zellwand und der Plasmamembran sehr leicht die DNA oxidiert werden. Auch Plasmide, also extrachromosomatisch lokalisierte ringförmige DNA-Doppelstränge, liegen ohne eigene Membran oder Wandung vor und sind somit nach Zerstörung der Zellwand leicht oxidierbar<sup>76</sup>. Sogar im menschlichen Körper wird zur Abwehr von Bakterien die Zellwand der Bakterien mit Hilfe von gebildetem Wasserstoffperoxid und auch vermutlich mit Ozon oxidativ zerstört<sup>77</sup>. Die Zerstörung einzelner DNA-Fragmente durch

---

Ozon wird in der Arbeit von Leitzke<sup>78</sup> diskutiert. Dabei wurde die Ozonolyse von Thymin und Thymidin sowie die Entstehung von Abbauprodukten unter unterschiedlichen Bedingungen betrachtet.

#### 2.4.3.5 Inaktivierungskinetik von Mikroorganismen mit Ozon

Das Ziel der Inaktivierung von Mikroorganismen mit einer Desinfektionsmethode ist eine möglichst effektive, ökonomische und weitgehende Reduzierung der vermehrungsfähigen Mikroorganismen<sup>89</sup>. Im Idealfall wird sogar eine vollständige Sterilisierung des zu behandelnden Produktes erzielt. Eine Rückverkeimung könnte somit vermieden werden. Aber auch eine möglichst weitgehende Primärdesinfektion und eine Unterdrückung einer Rückverkeimung kann als Ziel definiert werden.

Die Inaktivierung von Mikroorganismen durch Ozon ist ein komplexer Vorgang und wird von Bünning<sup>89</sup> in die folgenden Teilschritte untergliedert. Ozon diffundiert an die Zelloberfläche und reagiert mit Zellmembranbestandteilen. Von dort werden Reaktionsprodukte und Ozon in die Zelle transportiert. Neben dem Ozon reagieren im Zellinneren auch die Reaktionsprodukte mit Zellinhaltsstoffen. Am Schluss steht der Zelltod.

Nicht oxidiertes EPS und Zellagglomerate stellen somit beim Diffusionsvorgang eine zusätzliche Barriere dar und können die Inaktivierung behindern.

Mit Hilfe einer reaktionstechnischen Beschreibung des Inaktivierungsprozesses ist es möglich, den Verlauf der Keimzahlen und der Ozonkonzentration zu berechnen. Daraus lässt sich dann eine sichere verfahrenstechnische Auslegung einer Desinfektionsanlage vornehmen<sup>89</sup>.

Es wurden unterschiedliche Modelle für die Desinfektion von Mikroorganismen mit Ozon entwickelt, die Einflüsse wie pH-Wert<sup>79</sup>, Temperatur<sup>80</sup>, Kontaktzeit, Ozondosis<sup>81</sup>, Ozonbedarf<sup>82,83,84</sup>, Entstehung von Hydroxylradikalen<sup>85,86</sup> bzw. molekularem Sauerstoff<sup>87</sup> berücksichtigen.

Ein möglichst einfaches mathematisches Modell zeichnet sich im Idealfall durch wenige Eingangsparameter, wie Startkonzentration der Mikroorganismen, spezifische Resistenz der Mikroorganismen, Ozonkonzentration und Einwirkzeit, aus<sup>89</sup>. Ein solches sogenanntes CT-Konzept, welches die durchschnittliche Konzentration eines Desinfektionsmittels (C) multipliziert mit der Kontaktzeit (T) beinhaltet, wurde von Chick und Watson<sup>88</sup> entwickelt und gilt als das am häufigsten verwendete Modell und kann mit dem folgende kinetische Ansatz beschrieben werden<sup>89</sup>:

$$\frac{dC_n}{dt} = -k \cdot C_n \cdot C \quad \text{Glg. 1}$$

C beschreibt die Konzentration des eingesetzten Desinfektionsmittels,  $C_n$  ist die Lebendkeimzahl zur Zeit t und k ist die empirisch ermittelte Reaktionsgeschwindigkeitskonstante, die die unterschiedlichen Resistenzen verschiedener Keime aufgrund ihres zellulären Aufbaus oder

ihrer spezifischen Schutzmechanismen beinhaltet. Mit diesem Modell können die wesentlichen Einflussfaktoren für die Abnahme der Keimzahl erfasst werden.

Eine Reduzierung der Lebendkeimzahl, die über mehrere Zehnerpotenzen hinausgeht, kann aber aufgrund eines von mehreren Autoren<sup>89,90,91</sup> beschriebenen Tailingeffektes bei der Auftragung der Lebendkeimzahl in Abhängigkeit von der Einwirkzeit durch eine Inaktivierungskinetik nach dem Ansatz von Chick und Watson nicht richtig dargestellt werden. Sie vermuteten daher, dass es sich um einen zweistufigen Inaktivierungsprozess handelt. Bünning zeigte, dass im Bereich des Tailings die Inaktivierung mit Hilfe einer abweichenden, zweiten Inaktivierungsgeschwindigkeitskonstante beschrieben werden kann. Dieser Effekt bewirkt, dass selbst bei erhöhtem Behandlungsaufwand die nicht inaktivierten Mikroorganismen die Ausgangsbasis für eine schnelle Rückverkeimung sein können.

Als Ursache für das Tailing wurden unterschiedliche Effekte verantwortlich gemacht:

- Ein geringer Anteil an Mikroorganismen der gleichen Spezies besitzt eine hohe Resistenz gegenüber dem Desinfektionsmittel<sup>92</sup>
- Ausbildung unterschiedlicher Wachstumsstadien, die eine unterschiedliche Resistenz aufweisen<sup>93</sup>.
- Bei weitergehenden Oxidationen bilden sich Bruchstücke von Mikroorganismen, die sich an noch nicht geschädigte Mikroorganismen anlagern und dadurch einen effektiven Ozonschutz bilden<sup>94</sup>.
- Eine geringe Zahl von Mikroorganismen agglomerieren und bilden damit in diesem Zellverbund einen besonders guten Schutz gegen das Desinfektionsmittel aus<sup>95</sup>. Dahi<sup>96</sup> zeigte, dass Bakteriensuspensionen, die vor der Ozonung mit Ultraschall vorbehandelt wurden, ein deutlich vermindertes Tailing gegenüber nicht vorbehandelten Suspensionen aufweisen. Dafür spricht auch die Tatsache, dass viele Prokaryoten (Bakterien) klebrige Substanzen abscheiden, die eine weitere schützende Hülle (Kapsel) um die Zellwand bilden. Kapseln ermöglichen den Organismen, sich an ihr Substrat anzuhängen. Gelatinöse Kapseln halten auch die Zellen vieler Prokaryoten zusammen, die in Kolonien leben. Eine andere Möglichkeit, durch die Bakterien sich aneinander oder an ihr Substrat heften, sind fädige Oberflächen, die als „Fimbrien“ oder Pili bezeichnet werden<sup>10</sup>.
- Bünning<sup>89</sup> vermutete, dass die für sein Modellwasser hergestellte Biomasse, die er durch Zentrifugation einer Nährlösung und Resuspendierung im Modellwasser gewonnen hatte, trotz der Scherkräfte durch den Rührer nicht wieder vollständig vereinzelbar war.

Die Agglomeration von Mikroorganismen spielt auch bei der Ozonung von Biofilmen eine wichtige Rolle. Nach einer Ozonung können sich größere Zellagglomerate verbunden durch EPS frei schwebend im Wasser befinden. Die Inaktivierung dieser Zellverbände stellt somit eine besondere Herausforderung dar.

---

Auch für fluidmechanische Modellrechnungen für UV-Anlagen<sup>97</sup> stellen solche Assoziate eine große Herausforderung dar, da sie als Diskontinuitäten in Form von aus Biofilmen herausgerissenen Komponenten oder Schwärme mit überdurchschnittlich hoher Organismenzahl auftreten. Damit können sie bei der Modellerstellung nicht exakt erfasst werden. Berechnungsansätze sind in solchen Fällen nur auf experimenteller Basis überprüfbar. Dafür müssen spezielle Eigenschaften, wie die Viskosität und die Assoziation der Spezies in der Flüssigkeit, berücksichtigt werden. Für praktische Anwendungen stellt sich daher die Frage, wie für den „Tailingbereich“ eine Optimierung des Prozesses erfolgen kann. Viele der bisherigen Untersuchungen beschränken sich auf den Bereich der „exponentiellen Keimabtötung“ und bieten keine Lösung für die resistenten, verbleibenden Keime. Dieses Ziel kann durch Abtrennung, eine optimierte Reaktionsführung, Ultraschall, die Kombination zusätzlicher Desinfektionsmaßnahmen oder ein verbessertes Anlagendesign erreicht werden.

---

### 2.4.4 Desinfektion durch UV-Licht

Die Wirksamkeit der Keimreduktion im Wasser durch UV-Bestrahlung wird durch unterschiedliche Faktoren beeinflusst. In der folgenden Abbildung 9 werden die von P. Gelzhäuser<sup>98</sup> aufgeführten Einflussgrößen dargestellt.

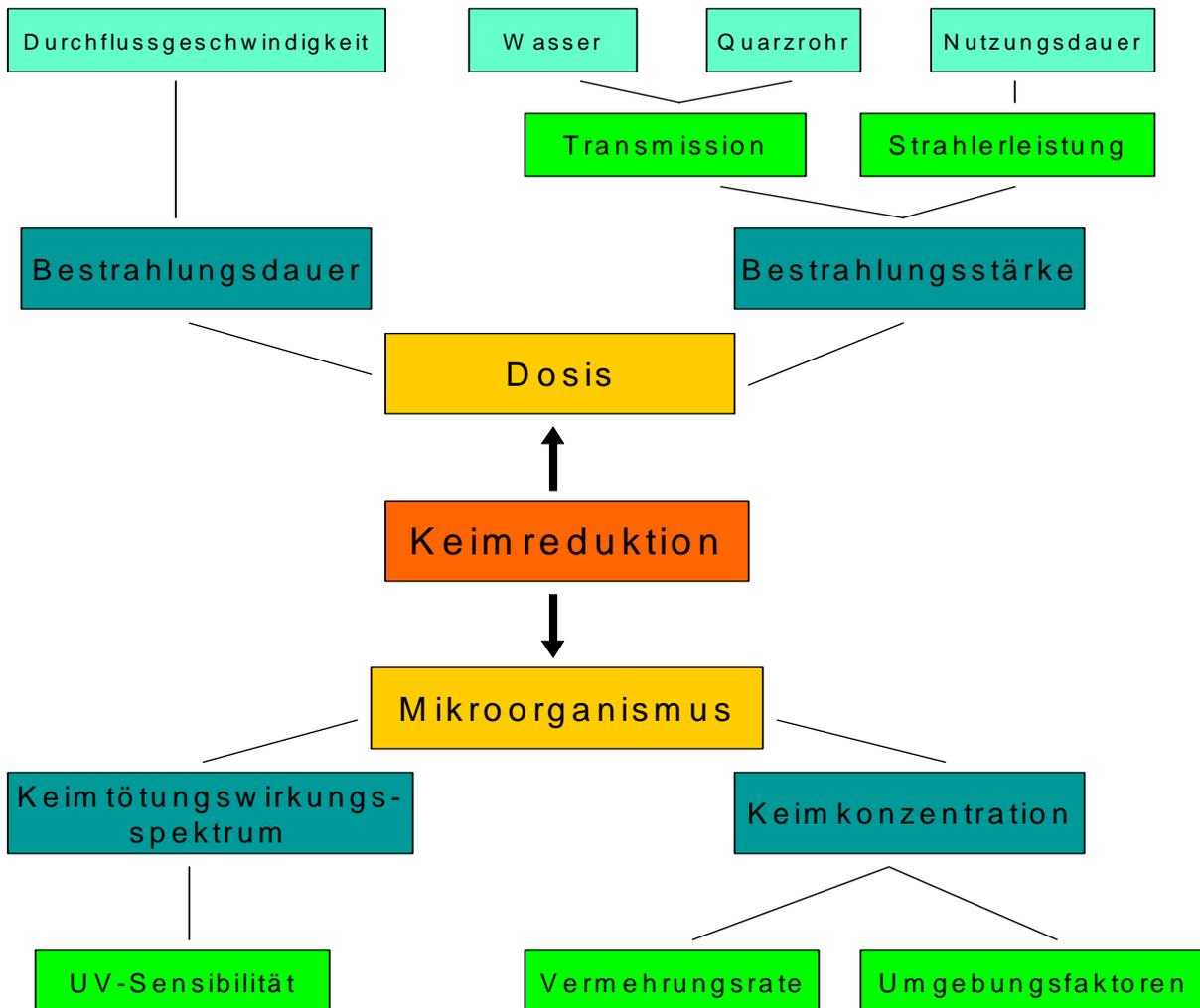


Abbildung 9: Einflussgrößen bei der UV-Desinfektion (nach Gelzhäuser<sup>98</sup>)

Daraus geht hervor, dass eine Reihe von Parametern überprüft werden müssen, um festzustellen, ob die UV-Desinfektion für eine vorgesehene Anwendung geeignet ist. Dabei können zwei wesentliche Einflussfaktoren unterschieden werden. Einerseits die Einflussfaktoren, die durch die abzutötenden Mikroorganismen gegeben sind und andererseits die Einflussfaktoren, die für die UV-Bestrahlungsdosis relevant sind.

Nach Gelzhäuser bestimmen Art und physiologischer Zustand der Mikroorganismen sowie Umgebungsfaktoren die UV-Widerstandsfähigkeit. Für die Inaktivierung von Bakterien und Viren sind häufig geringere Bestrahlungsstärken als für Pilze und Hefen aufzuwenden. Darüber hinaus weisen vegetative Formen eine höhere Empfindlichkeit auf als Sporen und benötigen daher ein Mehrfaches an UV-Strahlung für eine Inaktivierung. Unterschiedliche Ernäh-

rungszustände und das Wachstumsstadium sowie unterschiedliche physikalische und chemische Parameter im Bestrahlungsmilieu beeinflussen die Wirksamkeit einer UV-Behandlung. Für die Inaktivierung der MO ist die Strahlung im Wellenlängenbereich von  $\lambda = 240 - 280$  nm besonders relevant. Nukleinsäuren absorbieren in diesem Wellenlängenbereich und in Folge von photochemischen Reaktion kommt es dabei zur Bildung von Dimeren, bevorzugt an den Thyminbasen (Bildung von S-S Brücken). Besonders geeignet für die Inaktivierung von MO sind Quecksilberniederdruckstrahler, die ein Maximum der spektralen Wirkungskurve bei ca. 256 nm aufweisen. Niederdruckstrahler zeichnen sich im Gegensatz zu Breitbandstrahlern durch eine erheblich kleinere Energieaufnahme aus. Breitbandstrahler eignen sich eher für die Zerstörung toxischer organischer Verbindungen und strahlen in einem breiten Spektralbereich UV-Licht aus.

Die UV-Bestrahlungsdosis<sup>98</sup> ergibt sich aus dem Produkt der Bestrahlungsstärke (Intensität) und der Dauer der Bestrahlung (siehe dazu auch Kap. 3.5.1.2). Die Dauer der Bestrahlung kann am einfachsten durch die Verweilzeit des Mediums im UV-Reaktor beeinflusst werden oder durch eine entsprechende Vergrößerung der Anlage erfolgen. Eine starke Überdosierung sollte aus wirtschaftlichen Gründen vermieden werden, für die Wasserqualität ist keine negative Wirkung bekannt. Aktuelle und komplexere Betrachtungen erweitern den Begriff der Bestrahlungsdauer noch um fluidmechanische Aspekte<sup>97</sup>. Dabei wird zusätzlich noch die Bestrahlung der Volumenelemente entlang einer Bahnkurve innerhalb von unterschiedlichen Reaktorgeometrien betrachtet. Dadurch wird aber lediglich das ursprüngliche und übersichtliche Modell von Gelzhäuser, wie es hier dargestellt wird, geringfügig erweitert. Die Bestrahlungsstärke hängt von der Transmission des Wassers, des verwendeten Glasmaterials im Umfeld des Strahlers und auch von der Strahlerleistung ab. Die Wirksamkeit der UV-Strahlung wird zusätzlich maßgeblich von der Geometrie der Strahleranordnung bestimmt. Schattenzonen, Trübungen, Ablagerungen auf den Schutzrohren der Strahler müssen vermieden werden<sup>98</sup>.

Für den stabilen Betrieb einer UV-Desinfektionsanlage sollten folgende Anforderungen berücksichtigt werden: Trüb- bzw. Farbstoffe sollten im Wasser soweit reduziert werden, dass die Wirksamkeit einer Desinfektion nicht beeinträchtigt wird. Daraus ergibt sich die Notwendigkeit, dass die UV-Anlage auf die maximal zu erwartende Schwächung durch Absorption bei einer Wellenlänge von 254 nm ausgelegt sein muss oder die Verweilzeiten im Reaktor flexibel angepasst werden können. Störende Ablagerungen auf den Strahlerschutzrohren können durch erhöhte Eisen- und Manganionenkonzentrationen<sup>127</sup> hervorgerufen werden. Die Bestrahlungsdosis kann durch einen UV-Sensor im Wellenlängenbereich von 240–290 nm kontinuierlich überwacht werden. Damit kann im Dauerbetrieb gewährleistet werden, dass defekte oder gealterte Strahler durch Verlust der Strahlerstärke nicht zu Einbußen der Desinfektionsleistung führen. Heutige Strahler können nach Herstellerangaben ca. 9000 Betriebsstunden ihre Strahlerstärke zu 80-90 % aufrecht erhalten.

Für die Auslegung einer UV-Anlage ist somit neben der Einhaltung der Mindestbestrahlungsdosis nach der TVO auch noch der Zustand der Mikroorganismen relevant.

## 3 Verfahrensentwicklung

### 3.1 Auswahl der Testkeime

#### 3.1.1 Risikogruppen

In Risikogruppe 1 werden solche biologischen Arbeitsstoffe eingestuft, bei denen es unwahrscheinlich ist, dass sie beim Menschen Krankheiten verursachen. Entsprechend höher sind die Gefahren und die daraus resultierenden Vorkehrungen in den Risikogruppen 2-4. Gruppe 4 stellt die höchste Risikostufe dar.

Für die Modellwasseruntersuchungen wurden in Bezug auf die Gefahrenklassifizierung möglichst unproblematische Keime ausgewählt.

#### 3.1.2 *Micrococcus luteus*

*Micrococcus luteus*<sup>99</sup> zählt zu den Gram positiven Kokken. Dieser MO ist aerob und fakultativ anaerob. Die pigmentierten Bakterien, deren gelbe und orangefarbene Kolonien sich häufig auf Luftplatten finden, werden in die deutsche Risikobewertung 1 eingestuft<sup>100</sup>. Ihre Farbstoffpigmente sind wasserunlöslich und schützen den Organismus vor Sonnenstrahlung. Ob ein solcher Schutzmechanismus (Pigmentbildung) auch Auswirkungen auf die FT-IR-Spektren besitzt bzw. eine Identifikation stört, ist eine interessante Fragestellung und zeigt sich anhand der Qualität der vermessenen Spektren.

#### 3.1.3 *Escherichia coli*

*Escherichia coli* sind Gram negative, nicht sporenbildende, stäbchenförmige Bakterien, die zu aeroben und fakultativ anaeroben Wachstum in der Lage sind **Fehler! Textmarke nicht definiert.** Gram negative MO zeichnen sich durch eine dünnere Zellwand aus.

In der DSMZ<sup>100</sup> ist dieser MO unter der DSM Nr. 498 aufgelistet. Speziell dieser *E. coli* Keim wird nach deutscher Klassifizierung in die Risikogruppe 1 eingestuft.

Die routinemäßige Untersuchung von *E. coli* und coliformen Bakterien in Trinkwasser ist Teil der EN ISO 9308-1:2000 für die Trinkwasserüberwachung. Dieser Keim dient als Indiz für fäkale Eintragungsquellen. (Die Europäische Norm EN ISO 9308-1:2000 hat den Status einer Deutschen DIN Norm). Der Nachweis erfolgte bei den Modellwässern, die vor der Animpfung des Modellwassers keimfrei gehalten wurden, abweichend von der EN ISO 9308-1:2000 mit einem nach der TVO zugelassenen Alternativverfahren auf Chromocult-Nährboden. Das aufwändigere Identifizierungsverfahren durch das Normverfahren ist bei diesen Untersuchun-

---

gen nicht zweckmäßig, da es sich im Reaktor um eine Monokultur handelt und somit die verwendeten Kulturen schon bekannt sind.

### 3.1.4 *Bacillus atrophaeus*

*Bacillus atrophaeus* ist ein Gram positiver sporenbildender Keim. Er wird bei der DSMZ in der Risikoklasse 1 nach deutscher Klassifizierung eingestuft und wird unter der Nummer 2277 geführt. Phenotypisch unterscheidet sich *Bacillus atrophaeus* nicht von *Bacillus subtilis*. Er besitzt aber die Fähigkeit auf bestimmten Nährmedien Pigmente zu bilden<sup>101</sup>. Früher wurden deshalb *Bacillus atrophaeus* Stämme als *Bacillus subtilis* var. *Niger* klassifiziert. Mittlerweile wurde eine Umklassifizierung einiger Pigment bildender *Bacillus subtilis*-Stämme in *Bacillus atrophaeus* vorgenommen. Diese Eigenschaft lässt sich besonders gut für die visuelle Unterscheidung auf Kulturnährmedien gegenüber anderen Keimen heranziehen (siehe dazu Abbildung 10).

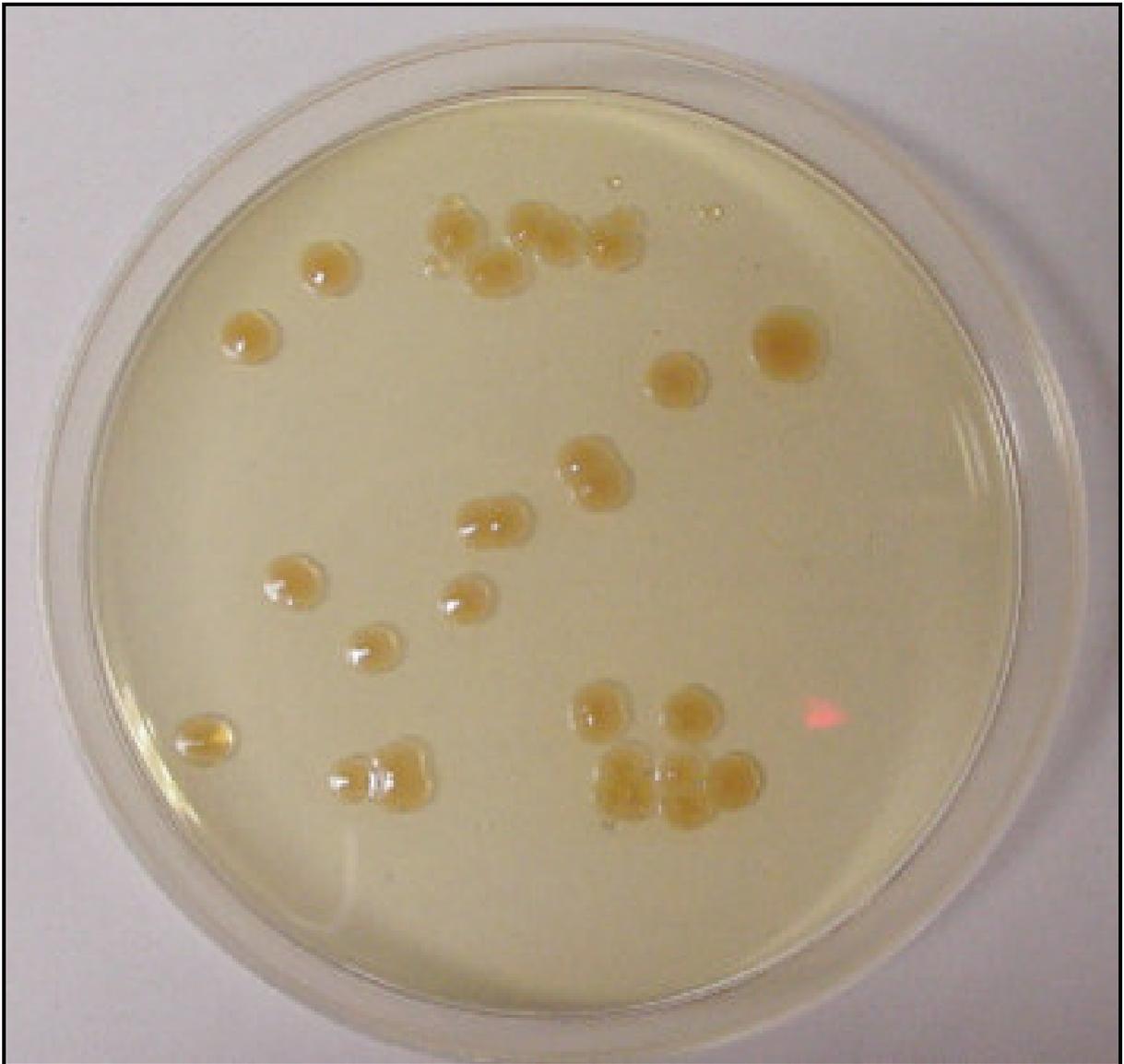


Abbildung 10: *Bacillus atrophaeus* auf einem Hefeextrakt-Nährboden

*Bacillus atrophaeus* wird daher in der Industrie häufig zur Desinfektionskontrolle von Produktionsanlagen verwendet. Grundsätzlich ist *Bacillus subtilis* ein ubiquitär verbreiteter Sporenbildner und kann aus Wasser, Luft und Boden und in besonders großer Menge aus Komposterde (bis  $10^7$  cfu/g)<sup>102</sup>, isoliert werden. Damit stellt er in diesem Projekt einen realistischen Modellkeim dar. Außerdem wird *Bacillus subtilis* im ökologischen Pflanzenanbau als Pflanzenstärkungsmittel gegen verschiedene, vorwiegend bodenbürtige Pathogene sowie zur Förderung des Pflanzenwuchses verwendet.

Die Gram positive Zellwand kann einem Zellinnendruck von ca. 20 bar standhalten<sup>103</sup> und ist dadurch besonders stabil. Hohe Innendrucke können durch Osmoregulation bei geringen Salzgehalten außerhalb der Zelle entstehen. *B. subtilis* erweist sich gegen unterschiedlichste extreme Umwelteinflüsse wie z.B. Sonnenstrahlung, pH-Wert-Schwankungen, Hitze, hyperosmotischen oder hypoosmotischen Stress als besonders widerstandsfähig<sup>104,105</sup>. Bei Einwirkung von Stress muss die Zelle darauf sehr schnell mit einer entsprechenden Anpassung durch Umstellung ihres Genexpressionsprogrammes reagieren. Dazu werden Gene aktiviert, die eine offensive Abwehrstrategie gegen den Stressor entwickeln, dessen Beseitigung ermöglichen oder für defensive Strategien wie Reparatur und Schutz von Zellstrukturen verantwortlich sind. Gleichzeitig werden diejenigen Gene unterdrückt, deren Produkte nicht überlebenswichtig oder eine Verschwendung knapper Ressourcen bedeuten. Der komplexeste Regulationsmechanismus der Genexpression bei Prokaryoten stellt der Sporulationsablauf dar. Die daraus entstehende stoffwechsellinaktive, dormante Endospore weist eine hohe Resistenz gegenüber Austrocknung, Bestrahlung und hohe Temperaturen sowie andere mögliche Stressoren auf und stellt somit einen hervorragenden Schutz gegen widrige Umwelteinflüsse dar<sup>106</sup>. 60 bis 100 % der im natürlichen Habitat nachgewiesenen Bakterien liegen als Sporen vor<sup>102</sup>. Nachteilig wirken sich bei diesem Sporulationsprozess aber mehrere Faktoren aus. Zum einen werden besiedelte Lebensräume aufgegeben und zum anderen finden keine Vermehrungs- und Evolutionsprozesse mehr statt. Darum kommt die Sporenbildung als letzte Reaktion auf kritische Umweltbedingungen nur für Teile der *B. subtilis*-Population oder als letzter Ausweg in Betracht. Bevor es zur Sporulation kommt, verfolgt *B. subtilis* daher alternative Strategien, sich mit Stress bzw. Nährstoffmangel auseinanderzusetzen. Dazu gehören beispielsweise die Ausbildung von Flagellen und die Chemotaxis (Bewegung in Richtung höherer Nahrungsmittelkonzentrationen), die Bildung von Osmoprotektiva in Reaktion auf osmotischen Stress<sup>107</sup>, Regulation des Kohlenstoff- und Stickstoffhaushalts, die Bildung extrazellulärer Enzyme zur Erschließung neuer Nahrungsquellen, die Ausscheidung von Antibiotika zur Hemmung von Konkurrenten oder die generelle Stressantwort<sup>108</sup>. Dadurch wird ein Überleben unter Nährstoffmangel- oder anderen widrigen Umweltbedingungen über längere Zeiträume bei gleichzeitiger Präsenz im Ökosystem ermöglicht. Es ist daher nicht zu erwarten, dass in einem hypoosmotischen Umfeld, wie es in entsalztem Wasser nach einer Umkehrosmostufe auftritt, mit ausreichender organischer Matrix eine Sporulation als erster Überlebensmechanismus aktiviert wird. Wahrscheinlicher ist die Ausschüttung von EPS, die dadurch einen Schutz vor oxidativen Prozessen darstellt. Die Eigenschaft der EPS-Bildung stellt bei der Behandlung der Modellwässer eine besondere Herausforderung dar.

## 3.2 Detektion biogenen Potenzials in membranfiltriertem Prozesswasser

### 3.2.1 Keimidentifizierung durch FT-IR Spektroskopie

#### 3.2.1.1 Grundlagen und Gerätebeschreibung

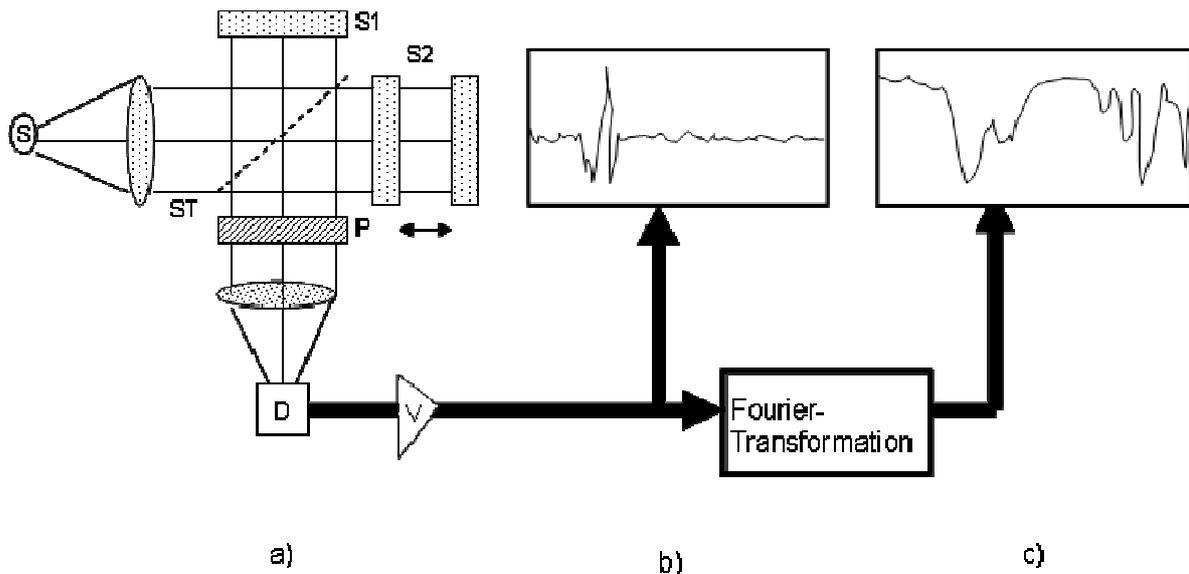


Abbildung 11: Das Prinzip der FT-IR-Spektroskopie a) Optik (V: Verstärker; D: Detektor; S: Strahlungsquelle; P: Probe; S1: fester Spiegel; S2: beweglicher Spiegel; ST: Strahlteiler). b) Interferogramm. c) Ergebnisspektrum<sup>109</sup>

Abbildung 11 zeigt die Funktionsweise eines FT-IR Spektrometers mit allen Funktionsteilen und ihrer Anordnung. Der Einsatz der Schwingungsspektroskopie zur Aufnahme von Mikroorganismenspektren begann schon in den fünfziger Jahren<sup>109</sup>. Es konnte gezeigt werden, dass unter standardisierten Präparationsbedingungen reproduzierbare Infrarotspektren zur Bewertung von MO erhalten werden können. Durch die Weiterentwicklung der Fourier-Transformations-Infrarot (FT-IR) Spektroskopie in den Achtziger Jahren und die Nutzung leistungsfähiger Computer, war es möglich, Spektren von Mikroorganismen mit der für vergleichende Untersuchungen notwendigen Genauigkeit aufzunehmen und mit Hilfe von umfangreichen Datenbanken zu speichern, auszuwerten und zu vergleichen.

Das Interferometer ist grundsätzlich aus drei Bestandteilen aufgebaut, dem Strahlteiler, einem festen und einem beweglichen Spiegel. Aus der IR-Quelle gelangt ein gebündelter Strahl auf den Strahlteiler, der 50 % des Lichts zum festen Spiegel durchlässt und den Rest zum beweglichen Spiegel reflektiert. Die jeweiligen Strahlanteile werden von den Spiegeln wieder zurückreflektiert und rekombinieren an dem Strahlteiler. In Abhängigkeit von der Position des beweglichen Spiegels, d.h. je nach Gangunterschied der rekombinierten Strahlung, werden sie zur ver-

stärkenden oder auslöschenden Interferenz gebracht und erzeugen damit einen veränderten resultierenden Strahl. Dieser durchdringt die Probe, wird selektiv absorbiert und gelangt zum Detektor. Am Detektor wird ein Signal erzeugt, das aus der Summe aller modulierten Einzel-frequenzen besteht abzüglich der absorbierten Strahlung. Eine elektronische Steuerung regelt den Vorschub des beweglichen Spiegels und markiert an den maximalen Auslenkungspunkten einen Scan.

Für die Mittelwertbildung werden mehrere Scans gesammelt, insbesondere für die Aufnahme von Mikroorganismenspektren werden bis zu 64 Scans vom Gerätehersteller empfohlen, um so das Signal/Rausch-Verhältnis zu verbessern. Ein Interferogramm wird durch die Aufzeichnung der Intensität der IR-Strahlung gegen die Spiegelposition erhalten. Es ist aber zur Auswertung noch nicht geeignet. Es entsteht durch Überlagerung von reinen Sinusschwingungen. Mit Hilfe der Fourier Transformation können diese Sinusschwingungen in ein Spektrum umgerechnet werden. Erst dadurch wird eine Darstellung der Intensität in Abhängigkeit von Wellenlänge oder Frequenz möglich<sup>109</sup>.

In der folgenden Aufzählung sind die Vorteile von FT-IR Spektrometern gegenüber dispersiven Geräten aufgeführt:

- a) Mit heutigen FT-IR Spektrometern ist die Erfassung mehrere Scans/s möglich, das bedeutet einen höheren Probendurchsatz und Erhöhung der Scanrate pro Probe mit der Folge einer Verbesserung des Mittelwertspektrums und des Signal/Rausch-Verhältnisses. Daraus resultiert ein Zeitvorteil.
- b) Der gesamte gebündelte Lichtstrahl trifft auf die Probe. Bei Wellenlängendispersiven IR-Spektrometern wird nur ein kleiner Teil auf die Probe gelenkt. Das führt zur Reduzierung der Energieausbeute.
- c) Durch einen Laser und eine Regelung wird die Position des beweglichen Spiegels im Interferometer bestimmt, dadurch kann eine exakte Kalibrierung der Wellenzahlen durch diesen internen Standard erfolgen. Für die extrem geringen Unterschiede der MO-Spektren bedeutet das einen wichtigen Vorteil.
- d) Es werden digitalisierte Spektren erzeugt

### 3.2.1.2 Auswahl der Wellenzahlbereiche und Messmodi

Die in einem Spektrum enthaltenen Informationen sind über den gesamten Spektralbereich ungleichmäßig verteilt. Einzelne Bereiche haben sich als geeigneter für eine Auswertung erwiesen als andere<sup>109</sup>. Diese spektralen Abschnitte oder Fenster können näherungsweise bestimmten Stoffklassen oder Zellkomponenten zugeordnet werden. Die Auswahl dieser Frequenzbereiche beruht auf Empirie mit ausgewählten Organismengruppen. Gegebenenfalls können auch mehrere Wellenzahlbereiche herangezogen werden, um alle relevanten spektroskopischen Daten bei der Auswertung zu berücksichtigen. Tabelle 3 zeigt die sechs wichtigsten Wellenzahlbereiche für die mikrobiologische Diagnostik.

*Tabelle 3: Zuordnung der Wellenzahlbereiche zu typischen Verbindungen, die bei Mikroorganismen zu einem Signal führen<sup>109</sup>*

Wellenzahlbereich [cm <sup>-1</sup> ]	Bezeichnung
3000-2800	1. Fettsäurebereich Fettsäuren der Membran
1800-1500	Amidbereich Ester
1500-1200	Gemischter Bereich
1500-1400	2. Fettsäurebereich Fettsäuren der Membran
1200-900	Polysaccharidbereich Polysaccharide der Zellwand
900-700	Fingerabdruckbereich

Für die Untersuchung der Grameigenschaften ist die Zusammensetzung der Zellmembran bzw. Zellwand von besonderer Bedeutung, daher sind die drei Bereiche 3000-2800 cm<sup>-1</sup>, 1500-1400 cm<sup>-1</sup> und 1200-900 cm<sup>-1</sup> besonders relevant. Eine Zuordnung zur Gruppe Gram positiv oder Gram negativ kann durch Wahl nur dieser drei Bereiche sehr gut durchgeführt werden. Auch hier gilt wieder, dass die Gewichtung der drei Teilbereiche empirisch erfolgen muss. Begonnen wird bei der Optimierung der Gewichtungsfaktoren mit einer Gleichgewichtung aller drei Teilbereiche (1:1:1).

Für die mikrobiologischen Diagnostik eignen sich besonders die Methoden „Scaling to 1st Range“ und „Normal to Replevel“. Sie bewirken eine unterschiedliche Skalierung der Distanzwerte der einzelnen Wellenzahlbereiche. Beim „Scaling to 1st Range“ wird eine Skalierung der Distanzwerte unterschiedlicher gewählter Wellenzahlbereiche auf den zuerst ausgewählten Wellenzahlbereich durchgeführt. Der erste Wertebereich bestimmt somit die Zahlenwerte im Dendrogramm. Im Gegensatz dazu werden beim Modus „Normal to Replevel“ die Distanzwerte aller Wellenzahlbereiche entsprechend der Reproduzierbarkeit der FT-IR Spektren normiert. Das erfolgt durch Bildung des Quotienten aus den Distanzwerten eines Wellenzahlbereiches und des spezifischen Reproduktionsniveaus dieses Wellenzahlbereiches.

### 3.2.1.3 Einflussfaktoren bei der Kultivierung

Die FT-IR Technik kann nur dann erfolgreich in der mikrobiologischen Diagnostik eingesetzt werden, wenn reproduzierbare Kultivierungsbedingungen eingehalten werden. Die Untersuchung erfolgt dabei auf Agarplatten, auf denen im Drei-Quadrantenverfahren die zu messenden Organismen ausgestrichen und inkubiert werden, wobei die Dauer abhängig vom Orga-

nismus ist, aber bei den meisten Stämmen ungefähr 24 h  $\pm$  1 h beträgt. In einigen Fällen ist aber auch eine höhere Inkubationsdauer notwendig. Für die meisten TVO-relevanten Stämme beträgt die Inkubationstemperatur 36  $\pm$  1 °C. Nur bei gleichen Bedingungen können Unterschiede in den Spektren eindeutig auf die Organismen zurückgeführt werden. Tabelle 4 zeigt die wichtigsten Faktoren wie Zusammensetzung und Vorbehandlung des Nährmediums, Kultivierungstemperatur, Kultivierungsdauer und der Trocknungsgrad der vermessenen Filme, die standardisiert gehalten werden müssen.

Tabelle 4: Einfluss unterschiedlicher Parameter auf die FT-IR-Messung<sup>109</sup>

Parameter	Einflussstärke
Nährmedium	+++
Trocknung der Filme	+++
Temperatur der Kultivierung	++
Kultivierungsdauer	++
Ausstreich- und Erntemodus	+
Spektrometer (bzw. Spektrometertyp)	+

+++ sehr starker Einfluss, ++ deutlicher Einfluss, + relativ geringer Einfluss

Die hohe Selektivität der FT-IR-Technik ermöglicht auch Differenzierungen sehr nah verwandter Gruppen von Bakterien. Häufig können sogar Unterscheidungen zwischen verschiedenen Stämmen ein und derselben Spezies<sup>109</sup> vorgenommen werden. Diese hohe Spezifität sowie die standardisierten experimentellen Abläufe als auch die kurzen Messzeiten (innerhalb kurzer Zeit nach Fertigstellung der Probenpräparate können Spektren erstellt werden) machen die FT-IR-Analytik für unterschiedlichste mikrobiologische Anwendungsfelder zu einer effektiven Methode.

### 3.2.1.4 Probenpräparation und Messung der FT-IR Spektren

Die Spektren wurden mit dem FT-IR Spektrometer IFS 28/B der Firma Bruker aufgenommen. Die Kultivierung der Bakterien erfolgte auf unterschiedlichen Nährmedien zwischen 24 und 48 Stunden. Anschließend wurden die Kolonien von der Oberfläche der Nährmedien vorsichtig mit einer Platinöse aufgenommen. Dabei muss sehr genau darauf geachtet werden, dass kein Nährmedium auf die Platinöse verschleppt wird. Diese geringe Menge an Mikroorganismen wird dann in 75  $\mu$ L Wasser suspendiert. Idealerweise lässt sich die Suspendierung mit einer Platinöse durchführen, die auf einem Elektromotor aufgesteckt ist. Durch die Vibrationen mit hoher Frequenz können die Mikroorganismen nach ca. 15 s homogen suspendiert werden. Des Weiteren wird zusätzlich ca. 20 s mit einem Vortexer homogenisiert. Danach wird jeweils 35  $\mu$ L der Probe auf das 15 Proben fassende Probenrad mit einer Eppendorf-Pipette aufgetragen. Es wird somit aus einer angefertigten Probe jeweils eine Doppelbestimmung durchgeführt. Dabei ist darauf zu achten, dass keine Luftblasen auf dem Probentropfen

entstehen. Der Probentropfen wird auf dem ZnSe-Probenrad durch einen hydrophoben Ring auf eine kreisförmige Ebene mit einem Durchmesser von ca. 0,5 cm fixiert.

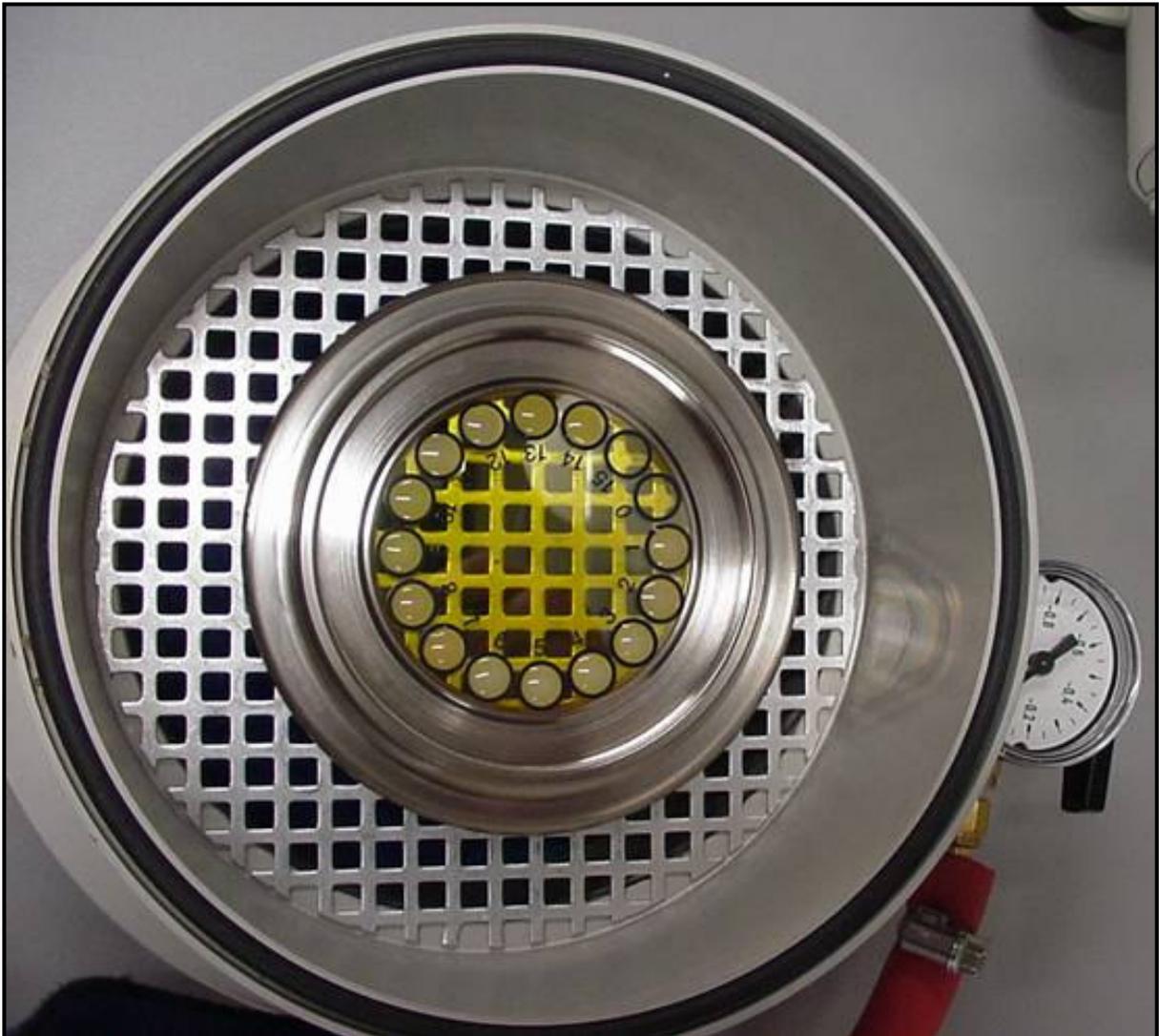


Abbildung 12: Probenrad mit Suspension vor der Vakuumtrocknung

Anschließend wird das Probenrad in einem Exsikkator durch Anlegen eines Vakuums von 0,6-0,8 bar Unterdruck zu einem trockenen Bakterienfilm eingedampft<sup>109</sup>. Nach ca. 60-80 Minuten Trocknungszeit kann das Probenrad dann senkrecht in den Probenschacht des FT-IR Strahlenganges eingelegt und durch einen vollautomatischen Probenwechselmechanismus vermessen werden. Als Software zur Messung und Auswertung der Spektren diente die OPUS 4.0 (**o**ptics **u**ser **s**oftware) Version der Fa. Bruker. Als Messmethode wurde das Programm Mikro.XPM mit einer Scanrate von 64 Scans pro Probe verwendet.

### 3.2.2 Keimidentifizierung nach dem DIN-Verfahren der TVO

Mit Hilfe des Membranfilterverfahrens<sup>110</sup> wird die Koloniezahl in 100 mL Proben bestimmt. Das Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung nach DIN 38411-5: 1983-02 wird zur Bestimmung der Zahl bestimmter vermehrungsfähiger Keime (Kolonie-

zahl) bezogen auf ein Volumen mit Hilfe eines Membranfilters herangezogen. Als Filter wurden Cellulosenitrat-Filter der Fa. Satorius mit der Porenweite 0,45  $\mu\text{m}$  und 0,2  $\mu\text{m}$  eingesetzt. Für die Erfassung von Keimsporen, z.B. beim Nachweis von Clostridiensporen, sind die Filter mit einer Porenweite von 0,2  $\mu\text{m}$  erforderlich. Ansonsten können die Filter mit der Porenweite 0,45  $\mu\text{m}$  verwendet werden.

### 3.2.3 Endotoxinnachweis

Die Bestimmung von Endotoxinen wurde zur Vermeidung von pyrogenen (Temperatur erhöhende) Nebenwirkungen durch Parenteralia entwickelt. Es handelt sich dabei um Medikamente, die direkt z.B. durch Infusion in die Blutbahn injiziert werden, im Gegensatz zu vielen z.B. oral verabreichten Präparaten. In den 40er Jahren wurde für diese Untersuchungen der Kaninchen-Pyrogentest und in den 70er Jahren der Amöbozyten-Lysat-Test entwickelt<sup>14</sup>.

Mit dem Kaninchen-Pyrogentest konnte die Pyrogenfreiheit von Arzneimitteln mit einem hohen Standard etabliert werden. Der Test ist zwar ein aufwändiger Tierversuch, weist aber den Vorteil auf, bekannte und noch unbekannte Pyrogene zu erfassen. Allerdings ist die Übertragbarkeit der Ergebnisse vom Tier auf den Menschen nicht vollständig gegeben. Im Gegensatz dazu erlaubt der *Limulus*-Amöbozyten-Lysat-Test (LAL-Test) auch quantitative Aussagen. Er ist insgesamt sensitiver und besser standardisierbar. Aber auch dieser Test ist störanfällig und ein Tierversuch<sup>14</sup>.

Der LAL-Test nutzt den Effekt, dass die Hämolymphe des *Limulus polyphemus* (Pfeilschwanzkrebs) bei Anwesenheit von Endotoxinen koaguliert. Als Referenztest wird ein chemisch reines Standard-Lipopolysaccharid verwendet. Als Hämolymphe wird die Körperhöhlenflüssigkeit der Insekten bezeichnet. Sie enthält Plasma und die Blutzellen<sup>10</sup>.

Nachgewiesen werden mit dem LAL-Test ungebundene Lipopolysaccharid-Moleküle. Aktive Moleküle bewirken die Freisetzung von Botenstoffen aus den Zellen. Außerhalb des Körpers liegen sie nur teilweise frei vor und werden erst nach Aufnahme von eingeatmeten Partikeln durch den Körper und eine biochemische Umsetzung freigesetzt<sup>14</sup>.

Es zeigte sich bei Rylander<sup>111</sup>, dass der LAL-Test (Aktivitätstest) bis zu 30-50 fach niedrigere Werte aufwies im Vergleich zu einem Nachweis, der nur die chemische Verbindung anzeigt.

Liebers et al.<sup>14</sup> weist auch auf neue Nachweismethoden mit Hilfe von Gaschromatographie/Massenspektrometrie-Kopplung hin, die charakteristische 3-Hydroxy-Fettsäuren der Lipopolysaccharide zur Endotoxinquantifizierung nutzen.

Das Europäische Pharmakopöe (Ph.Eur /Europäisches Arzneibuch) weist auf fünf Verfahren zur Durchführung der Prüfung auf Endotoxine hin: Gelbildungs-Grenzwert-Methode, halbquantitative-Gelbildungs-Methode, kinetisch-turbimetrische Methode, kinetische Methode mit chromogenem Peptid und die Endpunktmethode mit chromogenem Peptid. Die erste Methode kann immer dann verwendet werden, wenn keine andere Methode gefordert wird und das gilt auch für den Fall der Wassermonographien der Ph. Eu<sup>112</sup>.

Als standardisierte Methode im Bereich des Arbeitsschutzes wurde allerdings der chromogen-kinetische Limulustest im Jahr 1997 durch das BIA-Merkblatt 9450 (Berufsgenossenschaftlicher Arbeitsschutz) allgemein eingeführt<sup>14</sup>.

Der in diesen Untersuchungen verwendete Test der Fa. Pyroquant Diagnostik GmbH (Kap. 4.2), bietet einen optimierten, einfach zu bedienenden Endotoxinnachweis an, der schon nach 27-28 Minuten das Testergebnis liefert. Die Validierung für jede Testcharge befindet sich als Positiv-Kontrollröhrchen in jedem Testkit. Das „Testkit Pyrosate TM für Endotoxinbestimmung in Wasser und Dialysaten“ weist eine Empfindlichkeit von 0,25 EU/mL auf. Es handelt sich dabei um die vorab beschriebene Gelbildungs-Grenzprüfung.

Jeder dieser Tests beinhaltet zwei Probenröhrchen. Das erste Teströhrchen ist das Probenest-röhrchen und das zweite das „Positiv-Produkt-Kontrollröhrchen“. Im Kontrollröhrchen befindet sich eine definierte Menge an Endotoxinen, die für einen Positivbefund sorgt und zur Validierung des Testergebnisses jeder Charge dient<sup>113</sup>. Bei der Untersuchung wird zuerst eine definierte Menge Probe (0,5 mL) in das Probenröhrchen gegeben und anschließend die Hälfte der geschüttelten und gut gelösten Probenmischung in das Positiv-Produkt-Kontrollröhrchen überführt und wiederum bis zur vollständigen Auflösung der Trockensubstanz geschüttelt. Anschließend werden die beiden Probenröhrchen in einem Badinkubator bei 37°C +/-1°C für 27-28 Minuten aufbewahrt. Nach dieser Zeit werden die Probenröhrchen aus dem Wasserbad entfernt und um 180° gedreht. Bildet sich ein fließfähiges Gel, ist der Test negativ. Verbleibt das Gel am Boden des gedrehten Röhrchens, ist der Test positiv. Nur wenn beide Röhrchen ein stabiles Gel bilden, gilt der Test als positiv. Bildet sich im Positiv-Produkt-Kontrollröhrchen ein fließfähiges Gel, befinden sich Störsubstanzen in der wässrigen Probe und der Test ist nicht mehr aussagefähig.

Um einen Vergleich zwischen der Konzentrationsangabe in EU und ng anzugeben, wird hier die folgende Umrechnung vollzogen, allerdings ist auch diese präparationsabhängig:

10 EU/mL = 1 ng Endotoxin pro mL.

Bisher wurden für die Ableitung von Dosis-Wirkungsbeziehungen Daten der Endotoxinbestimmung mittels LAL-Tests herangezogen, die aber mit Einschränkungen zu betrachten sind<sup>112</sup>.

### 3.3 Beschreibung des gesamten Kooperationsprojektes

Das Ziel des Projektes ist, ein neues biotechnologisches Verfahren zur Brauchwassergewinnung mit Trinkwasserqualität aus Abwässern der Lebensmittelverarbeitung zu erproben<sup>6</sup>. Es besteht aus einer mechanischen Vorreinigung, einer biologischen Hochleistungsreaktionsstufe mit Biomasserückhalt durch Ultrafiltration und Hygienestufen. Die Hygienestufen umfassen den Rückhalt organischer und anorganischer Inhaltstoffe durch eine UF und zwei UO-Membranstufen als auch durch optionale Desinfektionsstufen.

Für die hygienischen Untersuchungen und Desinfektionsversuche wurden Probennahmestellen nach der Ultrafiltration sowie nach den Umkehrosmostufen eingerichtet.

Um zu gewährleisten, dass für eine innerbetriebliche Wiederverwendung mit variablen Verbrauchsmengen des aufbereiteten Prozesswassers eine ausreichende Speicherkapazität vorgehalten wird, muss in diesem System nach der Umkehrosmostufe ein Lager- bzw. Puffertank vorgesehen werden. Dieser Puffertank kann optional als zusätzliche Desinfektionsstufe ausgelegt werden. Abbildung 13 zeigt das gesamte vorgesehene mehrfache Barrierekonzept.

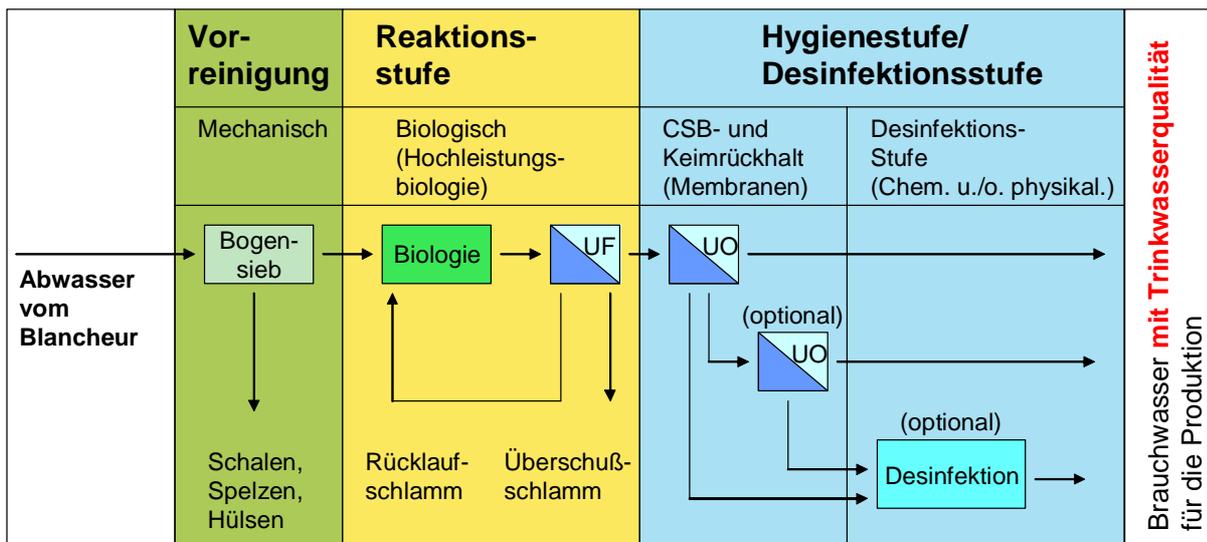


Abbildung 13: Mehrfachbarrierekonzept zur Reinigung des Brauchwassers

Belastetes bzw. potenziell belastetes Wasser muss so aufbereitet werden, dass eine Übertragung von Krankheitserregern ausgeschlossen werden kann. Die im Wasser enthaltenen Krankheitserreger müssen entweder durch Filtration aus dem Wasser entfernt oder durch Desinfektion mit Oxidationsmitteln abgetötet werden. Beide Verfahren sind jedoch in ihrer Desinfektionsleistung nicht gleichwertig.

Auf Grund des Aufenthaltes in der biologischen Aufbereitungsstufe und der damit einhergehenden hohen organischen Fracht können die in Partikeln eingeschlossenen bakteriellen und viralen Krankheitserreger und die gegen äußere Einflüsse einschließlich Desinfektion besonders widerstandsfähigen Parasiten nur mit Hilfe von Filtration entfernt werden. Bei der Desinfektion durch Ozon oder UV-Strahlung können nur einzelne, frei suspendierte bakterielle und

virale Krankheitserreger sicher abgetötet werden. Ohne vorherige Filtration kann also keine ausreichende Sicherheit in diesem Prozess gewährleistet werden. Außerdem limitiert die TVO den Einsatz einiger Desinfektionsmittel, so dass eine ausreichende Desinfektionsleistung nur dann möglich ist, wenn schon der größte Teil der organischen Fracht abgetrennt wurde. Darüber hinaus schreibt die TVO Höchstgrenzen für organische und anorganische Frachten vor, die erst durch den Einsatz von Membranfiltrationsverfahren unterschritten werden können. Jede Filterstufe stellt für sich somit auch eine Barriere für Mikroorganismen, organische und anorganische Substanzen dar. Auch daraus ergibt sich schon eine weitreichende Desinfektionsleistung. Durch die unterschiedlichen Membranfiltrationsmethoden können die Wasserinhaltsstoffe aber nur bis zu einem gewissen Grad zurückgehalten werden. Es soll in dieser Untersuchung überprüft werden, mit welchem Aufwand eine weitreichende Reduzierung der Inhaltsstoffe verbunden ist. Die genaue Bestimmung der chemischen Belastung nach den Filtrationsstufen und die Zuverlässigkeit der jeweiligen Stufen ist auch Teil der Untersuchung in diesem Projekt. Eine Desinfektion z.B. mit Ozon als letzte Prozessstufe kann also nur zur Minimierung des Restrisikos und einer Unterdrückung der Wiederverkeimung eingesetzt werden und nicht zur Beseitigung der aus der Hochleistungsbiologie stammenden Biomasse.

Es gilt darüber hinaus die Frage zu klären, ob eine ausreichende Durchbruchsicherheit von Keimen und chemischen Substanzen in Störfallsituationen durch das Mehrfachbarrierekonzept gewährleistet ist. Solche Störfälle können z.B. durch Risse in den Membranen entstehen. Trotz des mehrstufigen Barriersystems kann durch unterschiedlichste Mechanismen eine Rück- bzw. Wiederverkeimung sowohl im Leitungs- als auch im Lagersystem auftreten. Ein geringes Nährstoffangebot für die Mikroorganismen gilt dabei als erstes wichtiges Ziel. In Abhängigkeit der zurückgebliebenen organischen Matrix im aufbereiteten Wasser, den Temperaturverhältnissen, der Existenz von sich schnell ausbildenden Biofilmen und der Desinfektionsmethode ist mit einer unterschiedlich schnellen und intensiven Wiederverkeimung des aufbereiteten Wassers zu rechnen. Dabei muss es sich nicht zwangsläufig um die ursprüngliche Biozönose handeln, die in den einzelnen Filtrationsstufen auftritt. Es sind dort vielmehr solche Keime in größerem Umfang zu erwarten, die unter den vorgegebenen Bedingungen hohe Vermehrungsraten aufweisen. Daher ist zu prüfen, ob diese Vorbehandlungen einen ausreichenden chemischen und hygienischen Zustand gewährleisten oder ob darüber hinaus eine weitere Behandlung durch Desinfektionsmaßnahmen mit einer Depotwirkung erforderlich ist bzw. in die weitere Planung mit einbezogen werden muss. Die Desinfektionsstufe als letzte Barriestufe muss mehrere Anforderungen erfüllen. Es muss gewährleistet sein, dass eine Wiederverkeimung des aufbereiteten Wassers durch schnelles Wachstum von wassertypischen Mikroorganismen und Biofilmen mit Hilfe einer Desinfektionsstufe unterdrückt oder schon durch die chemische und physikalische Beschaffenheit des Wassers weitgehend vermieden werden kann. Die Auswahl der geeigneten Desinfektionsmethode erfolgt also nach unterschiedlichen Kriterien. Diese ergeben sich aus dem Zustand des Wassers und der Inhaltsstoffe sowie der Vermeidung von unerwünschten Folgeprodukten. Es müssen dabei einerseits die Kriterien der TVO, also eine weitreichende Eliminierung von Keimen erfüllt werden, andererseits müssen bei der Behandlung die chemischen Parameter der TVO eingehalten werden.

Dies gilt sowohl für das verwendete Desinfektionsmittel als auch für die Folgeprodukte, die durch die Behandlung entstehen können. Zu berücksichtigen ist auch, dass durch die zusätzliche chemische oder physikalische Desinfektion Wasser mit geringem Wiederverkeimungspotential mit einem geringen Nährstoffangebot produziert wird, so dass eine längerfristige Keimfreiheit in den Vorlagetanks und Rohrleitungen gewährleistet wird. In diesem Zusammenhang ist auch zu prüfen, ob neben aktiven Desinfektionsmaßnahmen weitere Einflussparameter soweit optimiert werden können, dass eine größtmögliche Stabilität des Wassers erzeugt werden kann, z. B. durch Temperatureinflüsse und Vermeidung von Totzonen mit hohen Verweilzeiten.

Die in der TVO vorgeschriebenen mikrobiologischen Untersuchungsmethoden erstrecken sich über mehrere Tage, bis ein eindeutiges Ergebnis erzielt werden kann. Daraus ergibt sich die Notwendigkeit eines schnellen Detektions- oder Frühwarnsystems, um den Reinigungsprozess sicher zu steuern.

Vorgesehen ist daher, dieses mehrstufige Barrierekonzept mit effektiven, schnellen Überwachungssystemen auszustatten, die jederzeit einen sicheren Betrieb der Brauchwasseraufbereitungsanlage gewährleisten.

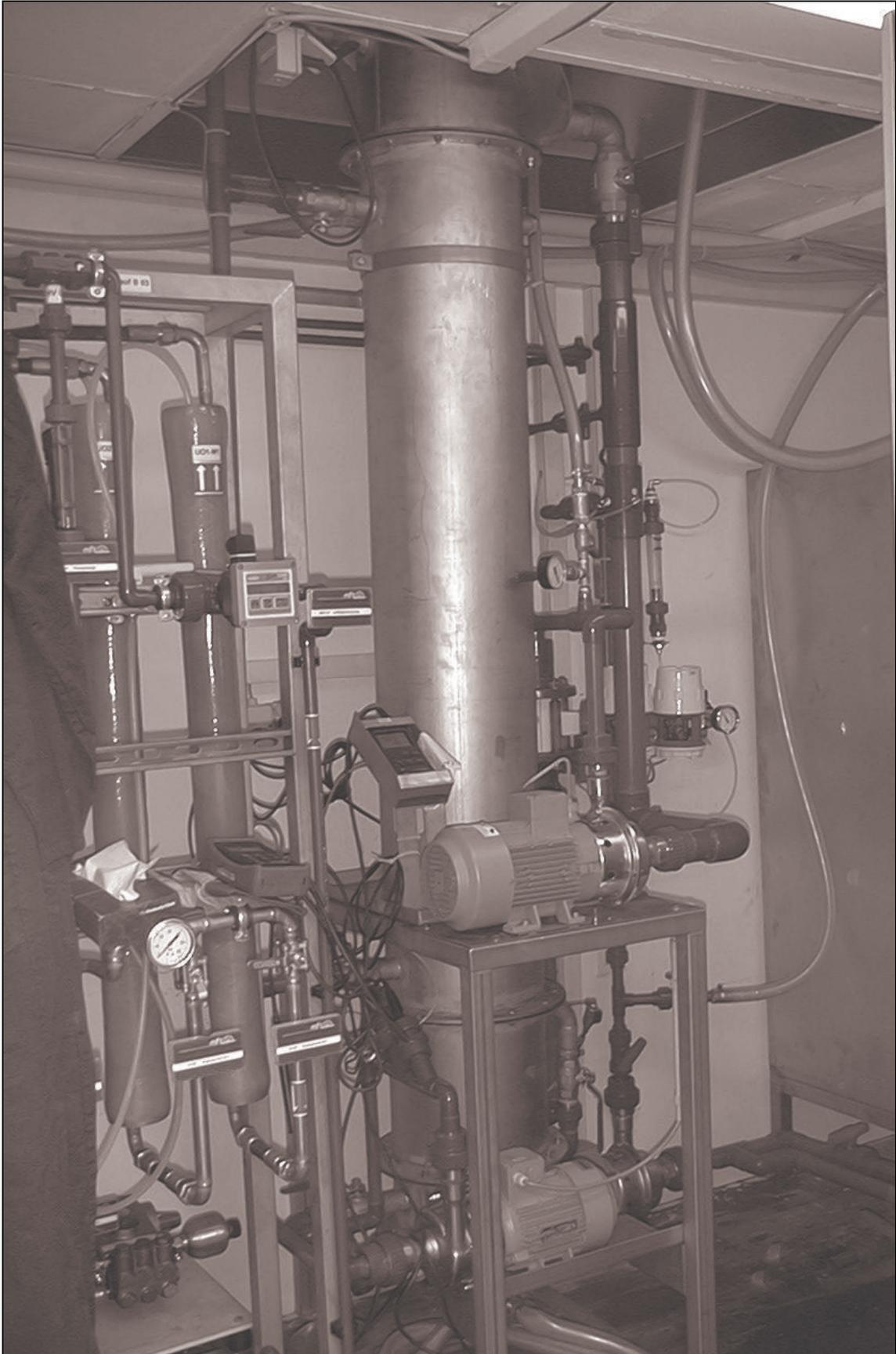
### **3.4 Anlagenkomponenten und Betrieb der Pilotanlage**

Das Verbundprojekt mit dem Institut für Umweltverfahrenstechnik (IUV) der Universität Bremen wurde so angelegt, dass der Betrieb der Grobfiltration, der Hochleistungsbiologie und der Membranstufen mit realen Abwässern bei einem Lebensmittelproduzenten direkt vor Ort durchgeführt wurde.

Die Untersuchung der Hygieneparameter und der chemischen Parameter sowie die Versuche zur nachgeschalteten Desinfektionsstufe wurden anschließend im Technikum und in den Laboren des Fachgebietes Technische Chemie und Chemische Verfahrenstechnik der Universität Paderborn durchgeführt. Dazu wurden Proben der Realwässer für die Desinfektion in einer 5 L-Desinfektionsanlage bearbeitet und in einem weiteren Schritt Modellwässer in einer 100 L-Desinfektionsanlage getestet. Darüber hinaus wurden noch weitere Untersuchungen zum Durchbruchverhalten von Modellkeimen in hohen Konzentrationen in einer einstufigen Membrananlage in Paderborn durchgeführt.

Abbildung 14 zeigt einen Ausschnitt aus der Anlagentechnik, die in einem Container auf dem Firmengelände des Lebensmittelproduzenten untergebracht ist. In der Mitte der Abbildung befindet sich der Strahlzonenbioreaktor und auf der linken Bildhälfte die Membranstufen. Die Abbildung wurde freundlicherweise vom Projektpartner der IUV der Universität Bremen zur Verfügung gestellt.

---



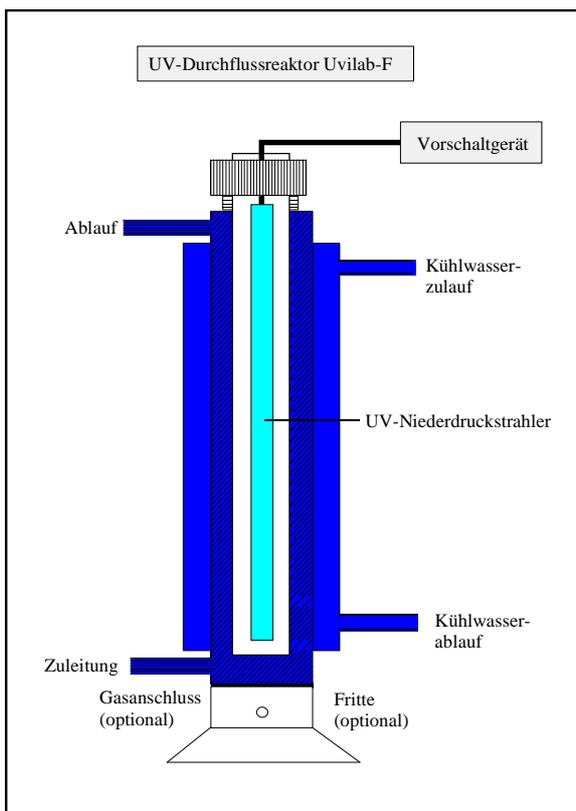
*Abbildung 14: Darstellung des Hochleistungsbioreaktors und der Membranstufen in einem Container auf dem Gelände des Lebensmittelproduzenten.*

## 3.5 Anlagenaufbau zur Reinigung und Desinfektion

### 3.5.1 Desinfektion durch UV-Behandlung

#### 3.5.1.1 Aufbau des UV-Reaktors

Für die UV-Versuche wurde der Durchflussreaktor Uvilab-F der Fa. Vitatec UV-Systeme GmbH verwendet<sup>114</sup>. Die Abbildungen 15a und 15b zeigen den UV-Durchflussreaktor.



Abbildungen 15a und 15b: UV-Durchflussreaktor zur Entkeimung

Die Alupapierummantelung um den Reaktor in der Abbildungen 15b dient zur Erhöhung der Strahlensicherheit außerhalb des Reaktors. Bei der Installation einer UV-Anlage muss darauf geachtet werden, dass entsprechende Vorkehrungen bezüglich der austretenden Strahlung gewährleistet sind. Neben Hautrötungen (Erythem) können auch Bindehautentzündungen des Auges (Konjunktivitis) bei leichtfertiger Handhabung des UV-Reaktors auftreten<sup>115</sup>.

Beim Betrieb des Durchflussreaktors wird das Reaktionsmedium durch den unteren tangentialen Einlass in den Reaktor gepumpt und umströmt bei ausreichendem Volumenstrom rotierend das Quarztauchrohr<sup>114</sup>. Für UV-Lampen mit hoher Wärmeentwicklung, die das Medium beim Kreislaufbetrieb erwärmen, ist ein Außenkühlmantel angebracht, der im Gegenstromprinzip das im Kreis geführte Medium innerhalb der Betriebstemperaturen hält. Das System ist für eine Arbeitstemperatur zwischen 5-50 °C ausgelegt.

Das Bestrahlungsvolumen beträgt max. 0,2 L und das Kühlvolumen max. 0,4 L. Der Durchfluss kann bei der gegebenen Konstruktion zwischen 0-250 L/h variiert werden. Untere Grenze der Variation stellt eine ausreichende Tangentialströmung im Durchflussreaktor dar. Die obere Grenze wird durch die Stabilität der Tauchrohrabdichtung limitiert.

Als Strahlungsquelle wurde das Niederdruckstrahlersystem Uvilab VTN 40 zur Entkeimung verwendet. Dabei handelt es sich um einen UV-Niederdruck-Amalgam-Strahler mit einer Nennleistung von 40 W. Die Strahler dieses Types emittieren im UV-C Bereich von 253,7 nm bis zu 30 % der Strahlungsleistung und haben dabei eine wesentlich niedrigere spezifische Leistungsaufnahme gegenüber einem UV-Mitteldruckstrahler (1,6 W/cm gegenüber 100 W/cm). Damit erzeugen sie also weniger Wärme<sup>114</sup>. Mittlerweile besitzen UV-Lampen eine Lebensdauer von bis zu 10000 Stunden. Der verwendete Strahler produziert kein Ozon, allerdings können auch unterschiedliche Ausführungen verwendet werden, die zusätzlich schwach bis stark ozonbildend wirken. Die Ozonbildung wird durch die Quarzglasummantelung des Strahlers beeinflusst. Diese kann so modifiziert werden, dass auch Strahlung emittiert wird, die zur Ozonbildung im wässrigen Medien geeignet ist ( $\lambda < 200$  nm). Eine entsprechende Dotierung des Quarzglases kann diese Wellenlängen unterdrücken, wenn keine Ozonbildung erforderlich ist. Da bei den durchgeführten Versuchen die Reduzierung der Restozonmenge und die Keimabtötung im Vordergrund standen, wurden Wellenlängen unterhalb von 200 nm nicht angestrebt. Auch durch die TVO ist die Verwendung von Strahlern, die Wellenlängen von 240-290 nm produzieren, vorgegeben.

### 3.5.1.2 Berechnung der Bestrahlungsdosis

Die Strahlungsleistung  $P$ , die zur Entkeimung in das zu behandelnde Wasser eingetragen wird, ist definiert als Quotient aus der Strahlungsenergie  $Q$  und der einwirkenden Zeit  $t$ <sup>116</sup>.

Strahlungsleistung:

$$P = \frac{dQ}{dt} = \frac{Q}{t} \quad \text{Glg. 2}$$

Die Dimensionsbetrachtung liefert für die Strahlungsenergie die Einheit [1 Ws = 1 J] und für die Leistung [1 Watt = 1 J/s]. Die Bestrahlungsstärke  $E$  kann aus der Strahlerleistung  $P$  abgeleitet werden.  $E$  ist bezogen auf die Fläche, die von der UV-Strahlung erfasst wird.

Bestrahlungsstärke:

$$E = \frac{dP}{dA} = \frac{P}{A} \quad \text{Glg. 3}$$

Hieraus ergibt sich bei der Dimensionsbetrachtung für die Bestrahlungsstärke [W/cm<sup>2</sup>]. Aus dieser Gleichung geht hervor, dass die Keimabtötungswirkung bei gleicher Strahlerleistung  $P$  mit kleiner werdender Fläche zunimmt. Trotz der Verwendung eines Rohrmoduls wird näherungsweise davon ausgegangen, dass sich die Fläche kaum vom Innenradius zum Außenradius verändert, so dass keine Integration der Bestrahlungsfläche im Bereich vom Innen- zum Au-

ßenradius vorgenommen werden muss, zumal die Schichtdicke 1 cm nicht überschreitet. Das Maß zur Beschreibung der effektiv auf Mikroorganismen einwirkenden Bestrahlungsmenge wird als Bestrahlungsdosis  $D$  definiert. Es ist das Produkt aus Bestrahlungsstärke  $E$  und der Bestrahlungszeit  $t$ <sup>116</sup>.

Dosis:

$$D = \int_0^{t=x} E dt = E \cdot t_x \quad \text{Glg. 4}$$

Die UV-Dosis berechnet sich also aus der Bestrahlungsstärke multipliziert mit der Zeit. Für die Dosis gilt dann bei der Dimensionsbetrachtung [ $1 \text{ Ws/cm}^2 = 1 \text{ mJ/cm}^2 = 10 \text{ J/m}^2$ ]. Die genaue Dimensionsbetrachtung wurde an dieser Stelle durchgeführt, da in der Literatur bei der Angabe der Mindestdosen häufig unterschiedliche Einheiten verwendet werden, die sich aber bei genauerer Betrachtung der Umrechnungsfaktoren nicht unterscheiden.

Die mittlere hydraulische Verweilzeit  $\bar{t}$  ergibt sich aus dem Reaktorvolumen  $V_R$  und dem Wasservolumenstrom  $\dot{V}$  zu:

Verweilzeit:

$$\bar{t} = \frac{V_R}{\dot{V}} \quad \text{Glg. 5}$$

Damit ergibt sich bei einem Reaktorvolumen von 0,2 L und z.B. einem Volumenstrom von  $\dot{V} = 200 \text{ L/h}$  eine mittlere Verweilzeit  $\bar{t}$  von 3,6 s. In Tabelle 2 sind die mittleren Verweilzeiten  $\bar{t}$  für fünf unterschiedliche Volumenströme  $\dot{V}$  exemplarisch aufgeführt.

Tabelle 5: Mittlere Verweilzeiten im UV-Reaktor

<b>Volumenstrom</b> $\dot{V}$ [L/h]	200	150	100	66,67	50
<b>Verweilzeit</b> $\bar{t}$ [s]	3,6	4,8	7,2	10,8	14,4

Für die Kalkulation der Strahlungsdosis des UV-Reaktors werden somit folgende Daten verwendet: Die Leistung des UV-Strahlers beträgt 40 W. Nach Angaben des Herstellers (Fa. VitaTec UV-Systeme GmbH<sup>114</sup>) liegen bis zu 30 % der Strahlerleistung im UV-C Bereich bei 254 nm. Daraus ergibt sich ein maximal anzuwendender Faktor  $F = 0,3$  der gesamten Strahlerleistung, der zur Desinfektion angewendet werden kann. Der Reaktorinhalt wird vom Hersteller mit einem Volumen von 0,2 L angegeben. Die Schichtdicke der bestrahlten Fläche ist 1 cm. Daraus ergibt sich eine bestrahlte Fläche von 200 cm<sup>2</sup>. Für die Volumenströme 200 L/h, 150 L/h, 100 L/h, 50 L/h, 25 L/h mit den entsprechenden Verweilzeiten ergeben sich bei den vorgegeben Daten die in Tabelle 6 aufgeführten Bestrahlungsdosen.

Berechnungsbeispiel für die Dosis bei einem Volumenstrom  $\dot{V} = 200 \text{ L/h}$ .

Dosis:

$$D = \int_0^{t=3,6s} E dt = E \cdot t = \frac{(P \cdot F) \cdot \bar{t}}{A} = \frac{(40W \cdot 0,3) \cdot 3,6s}{200cm^2} = 0,216Ws / cm^2 = 216mJ / cm^2 = 2160J / m^2$$

Glg. 6

Tabelle 6: Bestrahlungsdosis für fünf unterschiedliche Volumenströme

<b>Volumenstrom</b> [L/h]	200	150	100	66,7	50
<b>Bestrahlungsdosis</b> [mJ/cm <sup>2</sup> ]	216	288	432	648	864

Für die ausreichende Entkeimung von Trinkwasser schreibt die TVO eine Mindestdosis von  $40 \text{ mJ/cm}^2$  vor. Damit liegt die Bestrahlungsdosis selbst bei den großen Volumenströmen mit diesem Lampentyp und den Verweilzeiten deutlich oberhalb der geforderten Mindestdosis. Bei dieser Kalkulation der Bestrahlungsdosis wird davon ausgegangen, dass eine vollständige Transmission der Strahlung erfolgt. Bei der Durchdringung von Materie ist aber mit Strahlungsverlusten durch Absorption zu rechnen. Bezeichnet  $I_0$  die vom Strahler emittierte Strahlungsmenge, so gilt<sup>116</sup>:

Absorption:

$$A = 1 - \frac{I}{I_0} \quad \text{Glg. 7}$$

Im Gegensatz zur Absorption bezeichnet die Transmission den Strahlungsanteil, der das Medium durchdringen konnte. Der Transmissionsgrad beschreibt das Verhältnis von durchgelassener zu aufgetroffener Strahlung.

Transmission:

$$T = \frac{I}{I_0} \quad \text{Glg. 8}$$

Der Transmissionsgrad bezieht sich ebenso wie der Absorptionsgrad auf eine durchstrahlte Schichtdicke  $d$ . Auch hier gibt es eine Empfehlung vom DVGW für den Transmissionsgrad bezogen auf eine Schichtdicke von  $1 \text{ cm}$ . Der Transmissionsgrad sollte für eine erfolgreiche UV-Entkeimungsbehandlung den Wert von  $70 \%$  bei  $254 \text{ nm}$  nicht unterschreiten. Die Aufnahme von Absorptionsspektren zwischen  $200\text{-}400 \text{ nm}$  gibt Aufschluss über das Absorptionsverhalten der organischen Matrix im Wasser.

### 3.5.1.3 Dosis-Wirkungsbeziehung

Die Wirkung einer Entkeimung durch eine UV-Behandlung hängt von der Dosis ab. Es wird das Verhältnis von Bestrahlungsdosis zu Wirkung betrachtet. Als Wirkung wird in diesem Zusammenhang die Inaktivierung von Mikroorganismen untersucht. Von der Fa. Lenntech<sup>128</sup> wird folgender exponentieller Zusammenhang angegeben und für die Berechnung verwendet.

$$\frac{N}{N_0} = e^{-KD} \quad \text{Glg. 9}$$

Bei dieser Gleichung, die einer Reaktionsgeschwindigkeit 1. Ordnung entspricht, sind:

$N$  = Zahl der Mikroorganismen nach der Behandlung

$N_0$  = Anfangszahl der Zielorganismen

$K$  = Konstante, die spezifisch für jeden Mikroorganismus ist

$D$  = Bestrahlungsdosis

Aus dieser Gleichung ergibt sich, dass bei einer Verdopplung der angewendeten Bestrahlungsdosis eine Reduzierung der Keimzahl um 90 % erreicht wird. Theoretisch lässt sich mit Hilfe dieser Formel bei einem vorgegebenem Behandlungsziel und bekannter Anfangszahl der MO sowie Kenntnis der spezifischen Konstante für im Medium vorhandenen MO eine exakte Prognose der anzuwendenden Bestrahlungsdosis erstellen. Wird die Dosis, die für eine 90 %ige Inaktivierung aller Mikroorganismen benötigt wird, verdoppelt, kann eine 99 %ige (Verdreifachung / 99,9 %) Inaktivierung aller Organismen erzielt werden. An dieser Stelle wird noch einmal darauf verwiesen, dass lediglich die Vermehrungsfähigkeit der Keime und nicht die Keime an sich zerstört werden. Einige von der Firma Lenntech angeführte Werte zur 90 %igen Inaktivierung werden in der Tabelle 7 gezeigt.

Tabelle 7: Erforderliche Bestrahlungsdosen der jeweiligen MO für 90 %ige Inaktivierung<sup>128</sup>

Spezies	Bestrahlungsdosis [mJ/cm <sup>2</sup> ]
<i>Bacillus subtilis</i> (Spore)	12.0
<i>Clostridium tetani</i>	4.9
<i>E. coli</i>	5.4
Hepatitis A	11.0
Infektiöse pancreatic necrosis	60.0
<i>Legionella Pneumophilla</i>	2.04
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	5.5
<i>Streptococcus faecalis</i>	4.5

## 3.5.2 Anlage zur Desinfektion durch Ozon

### 3.5.2.1 Wahl eines geeigneten Reaktors für die Ozondesinfektion

Grundsätzlich kommt bei einer Ozondesinfektion eine Behandlung im Batchbetrieb oder ein kontinuierliches Verfahren in Frage. Als Reaktoren können Blasensäulen, kontinuierlich gerührte Reaktoren und Strömungsrohre mit einem Injektorsystem eingesetzt werden. In vielen Fällen wird die Verwendung eines Rohrreaktors mit Injektorsystem gegenüber einem Blasensäulenreaktor zur Desinfektion mit Ozon präferiert. Dafür werden von Bünning die folgenden Argumente angeführt<sup>89</sup>:

- Rohrreaktoren erreichen bei gleicher Verweilzeit gegenüber anderen Reaktoren einen höheren Umsatz.
- Bestehende Prozesse können einfach mit einer Desinfektionsstufe nachgerüstet werden. Vorhandene Rohrleitungen, mit entsprechender Materialeignung, können somit als Rohrreaktor verwendet werden und müssen lediglich mit einem Ozongenerator und einer Injektoreinheit ergänzt werden. Daraus entstehen gegenüber einer Blasensäule oder einem kontinuierlich betriebenen Rührreaktor auf der Investitionsseite Vorteile.
- Häufig eignen sich PFR-Reaktoren (Plug-Flow-Reaktoren) sehr gut für die Desinfektion. Reaktionen im Rohrreaktor mit turbulenter Strömung weisen aufgrund der Reaktionsführung eine höhere Selektivität der Inaktivierungsreaktion auf, die gegenüber einer Konkurrenzreaktion des Ozons mit Reaktionsprodukten begünstigt wird.
- Mit Hilfe von Modellrechnungen<sup>89</sup> konnte gezeigt werden, dass zur Erreichung eines Desinfektionszieles weniger Ozon notwendig ist im Vergleich zu Blasensäulenreaktoren.

Der Einsatz eines solchen PFR-Reaktorsystems kam aus mehreren Gründen bei diesem Projekt nicht in Betracht. Stattdessen wurde aus folgenden Gründen eine Blasensäule verwendet:

- Der Betrieb einer biologischen Aufbereitungsstufe und der nachgeschalteten Membranstufen wird im Normalbetrieb kontinuierlich betrieben. Die Entnahme aufbereiteten Wassers für betriebliche Zwecke erfolgt aber sowohl im Tag/Nachtbetrieb als auch im Arbeitstag/Wochenendbetrieb diskontinuierlich. Daraus entsteht die Notwendigkeit eines entsprechend ausgelegten Pufferspeicherbetriebs.
- Wiederverkeimungen in diesem Pufferspeicher sind zwangsläufig dann zu erwarten, wenn keine Permanent- oder Intervalldesinfektion vorgenommen wird. Verstärkt wird die Rückverkeimung durch Totzonen, also nicht durchströmten Volumenteilen des Speichersystems. Eine Blasensäule bietet in jedem Füllzustand ein permanent gut durchmischtes und bewegtes System.
- Wiederverkeimungen sind möglichst zu vermeiden, um die zusätzliche Entstehung von Keimzellen zu unterdrücken. Neu entstandene Keime können außerdem bei ihrem

Zerfall Endotoxine freisetzen bzw. in einigen Fällen auch Exotoxine produzieren.

Daraus folgt, dass es sinnvoller ist, den Pufferspeicher selbst zu desinfizieren als einen vor- oder nachgeschalteten PFR-Reaktor.

Allerdings kann die Versorgung des Pufferspeichers im Kreislaufbetrieb durch einen Außenschlaufenozoninjektor durchgeführt werden. Wird so ein System angewendet, ist es sinnvoll, auch die Primärdesinfektion des Zuflussstromes über diese Außenschlaufe zu vollziehen. Die zusätzlich benötigte Energie für diesen Umpumpvorgang erhöht allerdings die Energieaufnahme des Systems. Sinnvollerweise sollte der Einströmkanal am Reaktorboden platziert werden. Eine ausreichende Durchmischung des Pufferbehälters muss zusätzlich gewährleistet werden. Einfacher erscheint daher die Versorgung der Blasensäule mit Ozon direkt durch das Einperlen am Boden durch eine Fritte. Der Energieaufwand für den Außenschlaufenbetrieb dürfte deutlich höher sein als der zusätzliche Ozonbedarf im Blasensäulenbetrieb, zumal die Ozondosis im Trinkwasserbereich mit max. 10 mg/L nur einen geringen Anteil der Gesamtkosten ausmacht, selbst wenn eine etwas höhere Dosierung einkalkuliert werden muss.

Auf komplexe Steuerungs- und Regelmechanismen z.B. mit Hilfe einer Fuzzy-Logik kann weitestgehend verzichtet werden. Kurzfristig auftretende Schwankungen der organischen Matrix im Zufluss, die eine höhere Ozonzehrung verursachen, können vom Puffersystem besser ausgeglichen werden als bei einem PFR-Reaktor. Das kann selbst mit einem trägen Regelsystem, basierend auf der aktuellen Flüssigphasen-Ozonkonzentration in der Blasensäule, entsprechend schnell ausgeglichen werden. Für Produktionszeiträume, in denen keine Entnahme von Wasser vorgesehen ist oder der Zufluss aus der Membranstufe unterbrochen ist, wird lediglich eine geringe Ozonkonzentration zur Unterdrückung der Rückverkeimung eingespeist.

Der Aufbau einer Ringleitung zur permanenten Desinfektion des vorhandenen Rohrleitungssystems während der Zeiten, in denen keine Entnahme stattfindet, lässt sich mit einem Pufferspeicher mit Rücklaufmöglichkeit optimal realisieren.

Aufgrund des Speichervolumens in einem Blasensäulenreaktor und der damit verbundenen Pufferung der leicht schwankenden organischen Matrix kann die Ozondosierung und die Restozonvernichtung zur Unterschreitung der Ozongrenzwerte in einer Entnahmeleitung durch ein UV-System stabiler als in einem PFR-Reaktor geregelt werden. Der Blasensäulenreaktor kann näherungsweise als kontinuierlich betriebener Rührreaktor (CSTR) mit vollständiger Durchmischung betrachtet werden, der im Idealfall den Wert Null für die Bodensteinzahl annimmt. Die Ozonkonzentration bleibt dadurch im Gegensatz zum Rohrreaktor zeitlich und örtlich konstant. Bei Kenntnis der maximal zu erwartenden Anfangskeimzahl am Reaktoreintritt, kann die Ozonkonzentration auf die jeweilige Problemstellung optimal eingestellt werden. Für eine Primärdesinfektion im Durchlaufbetrieb oder die Unterdrückung einer Rückverkeimung im Batchbetrieb kann somit bei diesem System eine einfache und optimale Ozondosierung erfolgen. Es ist nicht zu erwarten, dass bei einer geringen Menge organischer Matrix, wie sie nach einer UO-Filtration noch im Wasser zu finden ist, eine deutlich erhöhte Ozonzehrung durch den Betrieb einer Blasensäule gegenüber einem PFR-Betrieb erfolgt. Die zusätzlich aufzuwendenden Ozonmengen werden sich in diesem Fall wirtschaftlich nicht so gra-

vierend auswirken. Lediglich bei sehr hohen Organikkonzentrationen ist der Effekt einer erhöhten Ozonzehrung als Parallelreaktion zur Desinfektion bei der Anlagenplanung zu berücksichtigen. Nur in diesem Fall kann die Verwendung eines PFR-Reaktors mit Injektorsystem günstiger sein für Desinfektionszwecke. Für diesen Einsatzfall (geringe organische Matrix) ist aber aus den angeführten Gründen ein Blasensäulenreaktor die einfachste und effektivste Alternative.

### 3.5.2.2 5 L-Laboranlage zur Desinfektion mit Ozon und UV-Licht

Für die Desinfektionsversuche mit den Realwasserproben wurde aufgrund der Probenmengen eine 5 L-Laboranlage verwendet, die in Abbildung 16 vereinfacht dargestellt ist.

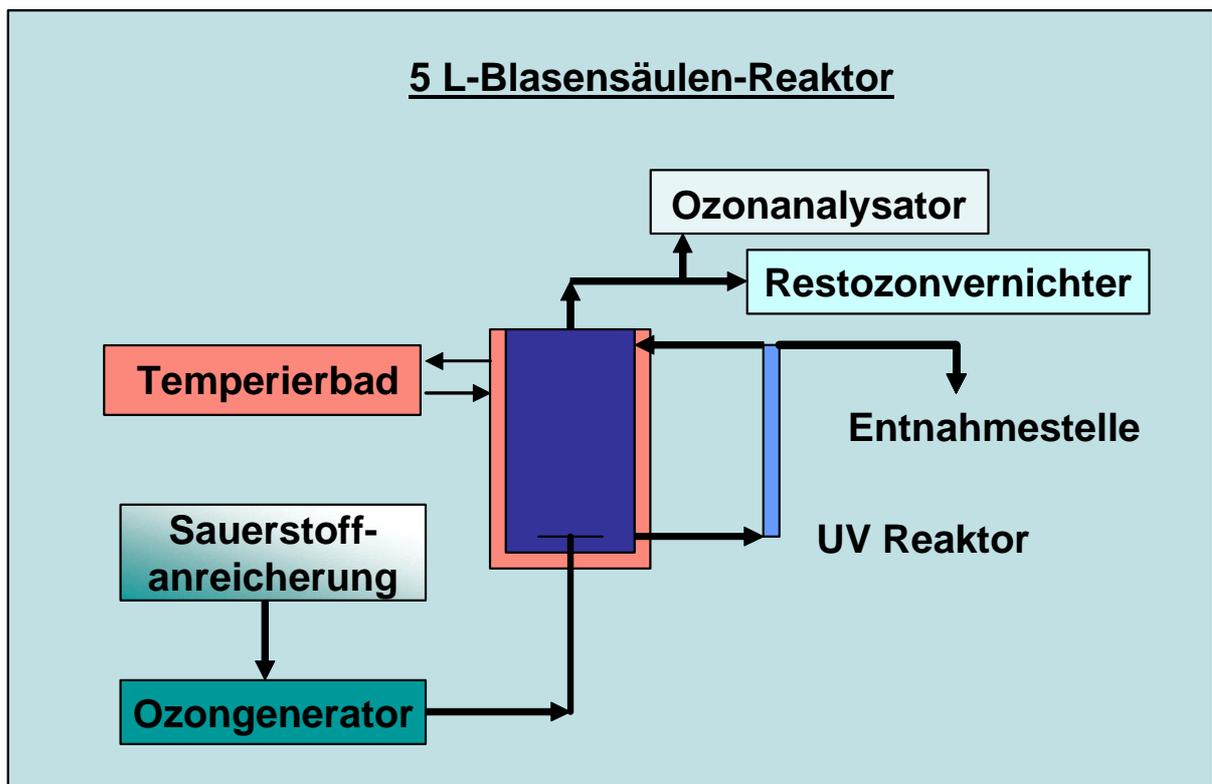
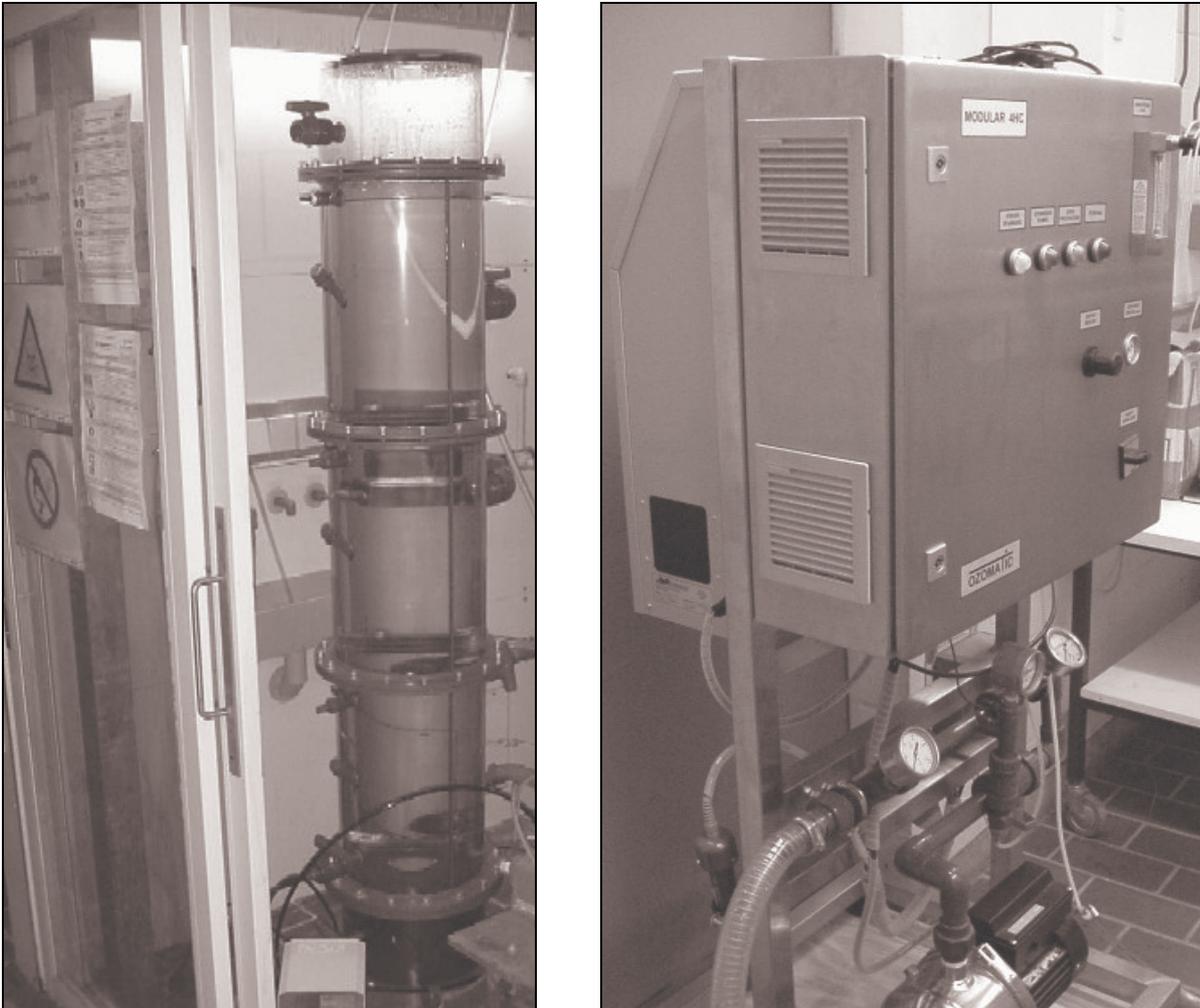


Abbildung 16: Schema der 5 L-Laboranlage zur Desinfektion

Die folgenden Anlagenteile wurden verwendet: Sauerstoffanreicherung, Ozongenerator, 5 L-Blasensäulenreaktor mit Temperiermantel, Ozonanalysator, Restozonvernichter und UV-Reaktor. Die verwendeten Bauteile werden in den Kapiteln 3.5.1.1, 3.5.2.5 im Detail beschrieben.

### 3.5.2.3 100 L-Technikumsanlage zur Desinfektion mit Ozon und UV-Licht

Für weitere Untersuchungen mit Modellwässern im Technikumsmaßstab wurde eine Anlage mit einem 100 L-Volumen konzipiert. *Abbildung 17* zeigt den mobilen Ozongenerator mit Sauerstoffanreicherung und die verwendete Blasensäule.



*Abbildung 17: Blasensäule zur Ozonung (links), Ozongenerator mit Sauerstoffanreicherung (rechts)*

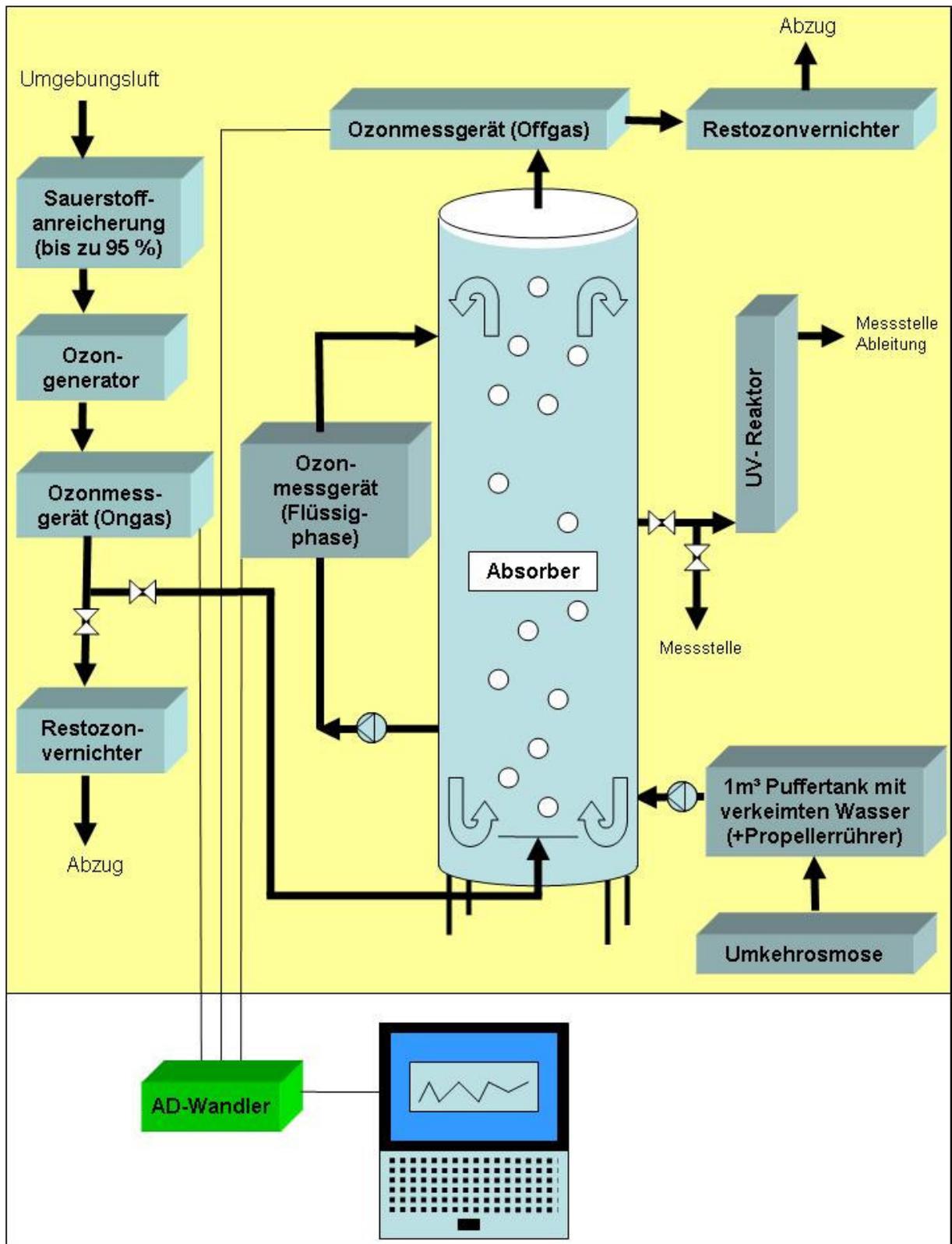


Abbildung 18: Anlagenskizze der Behandlungsanlage

Abbildung 18 zeigt eine Skizze der gesamten Behandlungsanlage inklusive der UV-Anlage zur Restozonreduzierung. Um das gesamte Anlagenkonzept möglichst sinnvoll zu gestalten, sollte spätestens nach den Membranstufen eine Speicherung der Permeatflüsse erfolgen, um ein ausreichendes Depot für Volllastzeiten vorzuhalten. Aus diesem Speicher kann dann bei

entsprechender Größe diskontinuierlich die benötigte Wassermenge entnommen werden oder zusätzlich kontinuierlich eine geringe Einspeisung mit Rücklauf in ein Ringleitungsnetz erfolgen. Für die Versuchszwecke wurde eine zylindrische Blasensäule benutzt. Diese hat die Abmessungen Höhe  $H = 2$  m, Durchmesser  $D = 0,3$  m und ist mit einer feinen Keramikfritte am Boden ausgestattet, durch die das Ozongas einperlt. Die Ozonkonzentration wird am Zulauf und Ablauf mit Ozonanalysatoren der Fa. Breitmeier Messtechnik (BMT) gemessen. Zusätzlich ist noch ein Flüssigphasenozonmessgerät der Fa. Ansynco zur Kontrolle der aktuell gelösten Flüssigphasenozonkonzentration angeschlossen. Die Gasphasenmessgeräte erfassen durch direkte Messung der UV-Absorption im Vent-Modus die aktuelle Konzentration im On- und Offgas. Die „Online-Datenerfassung“ wird über analoge Ausgänge und eine AD-Wandlerkarte durchgeführt. Mit Hilfe der Software „Realview“ können in Echtzeit die Daten visualisiert und gespeichert werden, so dass eine Veränderung der Anlagenparameter während des Betriebes möglich ist. Für die Restozonreduzierung in der wässrigen Phase wurde eine UV-Anlage nachgeschaltet.

#### 3.5.2.4 Das DWA-Modul und der Ozongenerator

Abbildung 19 zeigt den verwendeten AirSep-12 Typ.



Abbildung 19: Sauerstoffanreicherung durch das Modell AirSep AS 12<sup>117</sup>

Luft enthält einen Volumenanteil von ca. 21 % Sauerstoff, 78 % Stickstoff, 0,9 % Argon und

0,1 % andere Gase. Das DWA-Modul (Druckwechseladsorption) separiert Sauerstoff aus verdichteter Luft durch einen Druckwechseladsorptionsprozess. Abbildung 20 zeigt das Fließbild der Sauerstoffanreicherung. Beim DWA-Prozess (auch unter der englischen Bezeichnung Pressure-Swing-Adsorption PSA bekannt) wird ein synthetischer Zeolith als Molekularsieb genutzt, welcher Stickstoff bei hohem Druck adsorbiert und bei niedrigem Druck wieder desorbiert<sup>118</sup>. Die Sauerstoffanreicherung wird mit Hilfe von zwei mit Molekularsieb gefüllten Behältern betrieben. Vor der Sättigung des mit synthetischen Zeolithen gefüllten ersten Behälters mit Stickstoff schaltet die Steuerung die Ventile so um, dass die komprimierte Zuluft über den zweiten Behälter geführt wird. Eine Regeneration des ersten Behälters wird durch Dekompression und der damit verbundenen Desorption des Stickstoffs erzielt. Der Stickstoff wird zusätzlich durch einen Teil des Sauerstoffs des zweiten Sauerstoffanreicherungsprozesses aus dem Behälter gespült.

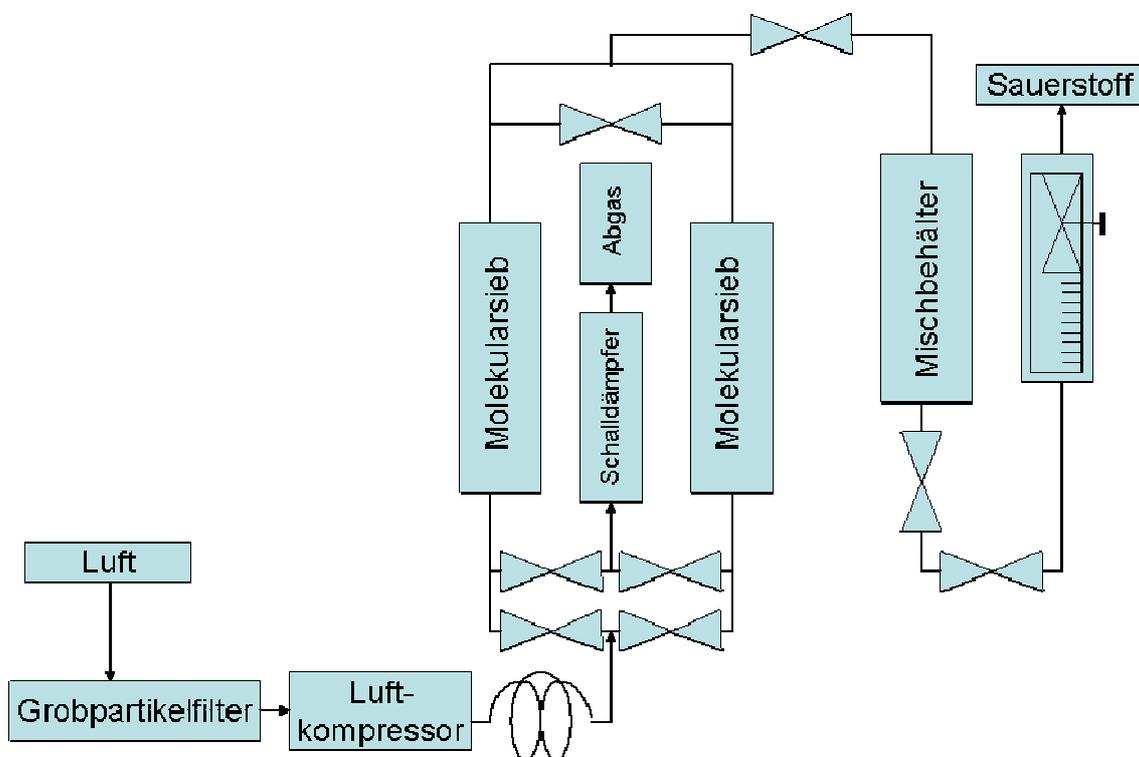


Abbildung 20: Schematisches Fließbild der Sauerstoffanreicherung Modell: AS-12 der Fa. Airsep Corporation<sup>118</sup>.

Über die Abgasleitung kann dann aus dem drucklosen ersten Behälter der Stickstoff entfernt werden. Dieser Prozess wird abwechselnd durchgeführt und führt zu einem konstanten Produktgasfluss, der minimal einen Volumenanteil von 90 % Sauerstoff enthält. Das Molekularsieb ist im Normalbetrieb laut Hersteller unendlich häufig regenerierbar. Durch die Anreicherung des Sauerstoffs kann die Ozonherstellung deutlich effektiver erfolgen.

Der Ozongenerator der Fa. Ozonmatic der Serie Modular 4 HC produziert einen Gasstrom von 8 L/h - 125 L/h. Die maximale Ozonproduktion kann durch die Sauerstoffanreicherung auf bis zu 4 g/h gesteigert werden. Die Restozonvernichtung erfolgt in der Abluft durch einen thermischen Prozess. Darüber hinaus verfügt der Ozongeneratorstand noch über eine Mess-

sonde für die Umgebungsluft, so dass bei Überschreitung des MAK-Wertes für Ozon eine automatische Abschaltung des Generators erfolgt.

### 3.5.2.5 Ozonmessgerät für Ozon in der Luft

Der Ozonanalysator BMT 964 der Firma BMT Messtechnik GmbH ist ein Mikroprozessorbasiertes Doppelstrahlphotometer (UV 254 nm), das zur Messung von Ozon in Luft bzw. reinem Sauerstoff geeignet ist<sup>119</sup>. Diese Variabilität erhöht die Datengenauigkeit, da bei den hier durchgeführten Versuchen ein Ozongenerator mit einer vorgeschalteten Sauerstoffanreicherung (95 %) verwendet wird. Zur Bestimmung der Ozonkonzentration im Probengas misst der Ozonanalysator die UV-Strahlung im Messkanal und im Referenzkanal. Darüber hinaus werden der Druck und die Temperatur in den beiden Zellen erfasst und bei der Datenbearbeitung berücksichtigt.

Das BMT 964 kann sowohl im „Vent mode“ als auch im „Press Mode“ betrieben werden. Im „Vent Mode“ wird ein Teilstrom des Gasstroms entnommen, analysiert und dann über einen Ozonvernichter wieder an die Umgebungsluft abgegeben. Diese Schaltung ist sinnvoll für die Offgasbestimmung. Im „Press Mode“ wird der Teilstrom wieder mit dem Hauptstrom vereinigt, somit kann eine exakte Volumenstrommessung schon vor dem Analysator erfolgen. Der „Press Mode“ kann somit für die Ongasbestimmung eingesetzt werden. Der Datentransfer kann über unterschiedliche Schnittstellen an den Rechner erfolgen. In diesem Fall wurde der Analogausgang gewählt und anschließend das Signal über eine AD-Wandlerkarte an das Messwerterfassungsprogramm weitergeleitet.

### 3.5.2.6 Flüssigphasenmessgerät für Ozon

Das Ozonmessgerät Ozomat WP der Fa. Anseros ist ein physikalisches Messsystem zur selektiven und kontinuierlichen Messung von Ozon in der Wasserphase<sup>120</sup>. Das Messsystem des Analysators nutzt den Effekt, dass Ozon leicht aus Wasser zu desorbieren ist. Die Desorption steigt linear mit steigender Ozonkonzentration im Wasser. Somit kann das zu untersuchende Wasser durch einen mit Glaskugeln gefüllten Desorber geleitet werden und die im Gegenstrom geführte Luft reichert sich mit dem desorbierten Ozon an. Aus den photometrisch erfassten Konzentrationen in der Luft kann mit einem Umrechnungsfaktor direkt auf die im Wasser befindliche Ozonkonzentration zurückgeschlossen werden.

Der Vorteil dieser Methode gegenüber einer direkten UV-Messung im wässrigen System ist die Ausblendung von Matrixeffekten durch störende Absorptionen von organischen und anorganischen Substanzen, die je nach Konzentration im untersuchten Wellenlängenbereich zum Teil sehr starke Verfälschungen verursachen. In diesem Projekt war aber auch die Untersuchung von realen Wässern mit höheren Konzentrationen an organischen Inhaltstoffen erforderlich. Auch die Anwesenheit von Wasserstoffperoxid stört bei der direkten photometrischen Erfassung der Ozonkonzentration. Amperometrische Messverfahren weisen eine ähnliche Problematik auf.

Abbildung 21 zeigt das Messgerät zur Erfassung der Flüssigphasenozonkonzentration bestehend aus der Desorbersäule und dem Feuchtigkeitsabscheider für den Gasstrom an der Wand und der Ozongasmessapparatur auf dem Tisch.



Abbildung 21: Darstellung des Ozon-Flüssigphasenmessgerätes Ozomat WP der Fa. Anseros (auf dem Tisch) mit der Desorbersäule (Bild Mitte).

### 3.5.3 Membranfiltrationsanlage zur Untersuchung der Modellwässer

Um den Rückhalt von Modellkeimen in hoher Konzentration im Wasser zu untersuchen wurden im Technikum des Fachgebietes Technische Chemie und Chemische Verfahrenstechnik der Universität Paderborn zusätzlich Versuche in einer Crossflow-Labor-Umkehrosmoseanlage vom Typ LONI, der Firma CSM (Bretten) durchgeführt (siehe Abbildung 22).

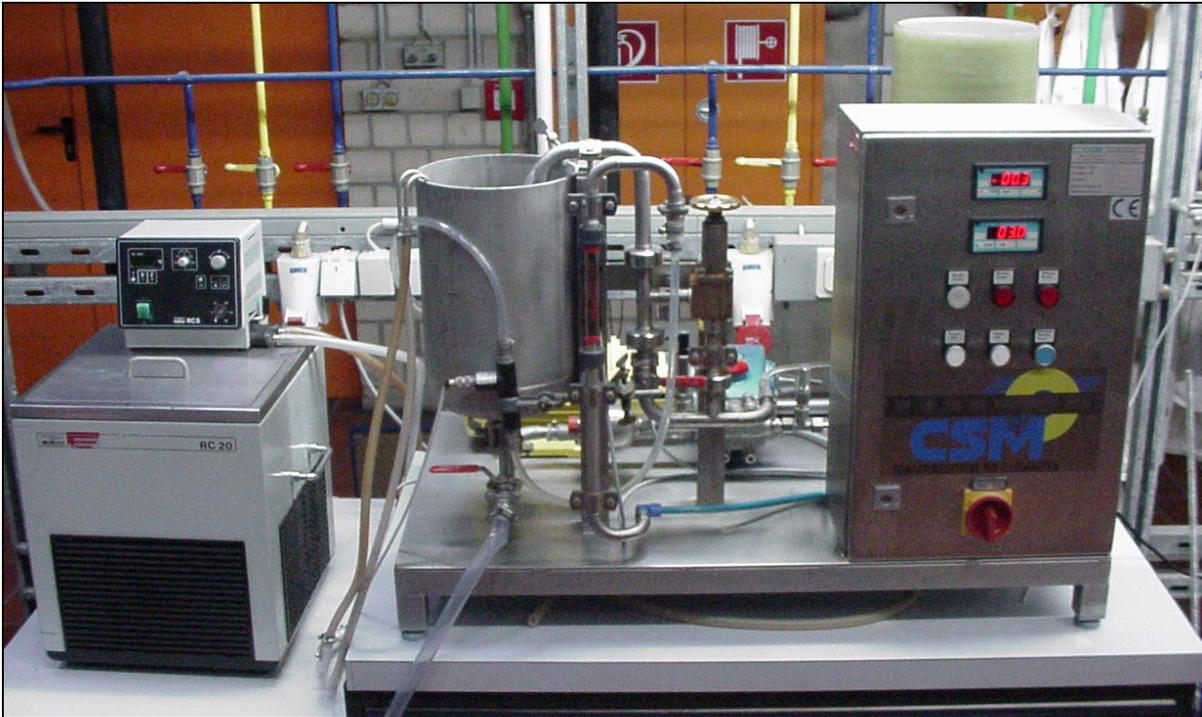


Abbildung 22: Crossflow-Labor-Umkehrosmoseanlage vom Typ LONI, der Firma CSM.

Über einen Vorratstank (11.5 L) wird der Feed bestehend aus verkeimtem Modellwasser über eine Hochdruckpumpe in das Membranmodul gefördert. Der Transmembrandruck kann im Bereich von 1-64 bar variiert werden.

Eingesetzt wurde ein Membranmodul der Fa. Pall Rochem (Hamburg) mit der Bezeichnung Disc-Tube-Modul (DT-System). Über einen zentralen Zuganker werden bei dieser Bauform Hydraulische Scheiben und Membrankissen abwechselnd gestapelt. Die Membranfläche kann über die Anzahl der Kissen variiert werden. Es können maximal 23 Kissen verwendet werden, das entspricht 1 m<sup>2</sup> Membranfläche.<sup>121</sup>

Der Feedstrom wird durch Strömungskanäle tangential über die Membranen geführt. Die Kanäle befinden sich zwischen der Trägerscheibe und den dazwischenliegenden Membrankissen. Der Permeat- und Retentatstrom wird durch Dichtungsringe voneinander getrennt und soll den Durchtritt von Salzen und Mikroorganismen vollständig verhindern. Das Wasser permeiert in die Membran und wird durch einen kleinen Kanal, der in den Zuganker führt, abtransportiert und anschließend durch eine Hauptleitung aus dem Stapel entfernt.

Der notwendige Druck um den gesamten Membranstapel abzudichten, wird an der Ober- und Unterseite durch Edelstahlplatten erzeugt. Die obere Platte weist entsprechende Öffnungen für

die zu- und abgeführten Flüssigkeitsströme auf. Der gesamte Stapel wird über den Anker in ein GFK-Druckrohr gepresst. Der Feedstrom wird neben den Hydraulikscheiben an den Wänden des GFK-Druckrohres zur untersten Platte geführt. Die Überwachung des Druckes erfolgt zwischen Feedpumpe und Membranmodul und wird auf einem Display angezeigt.

Abbildung 23 zeigt die Funktionsweise der Crossflow-Labor-Umkehrosmoseanlage und ein Kissenmodul bzw. Kissen auf den rechten Abbildungen.

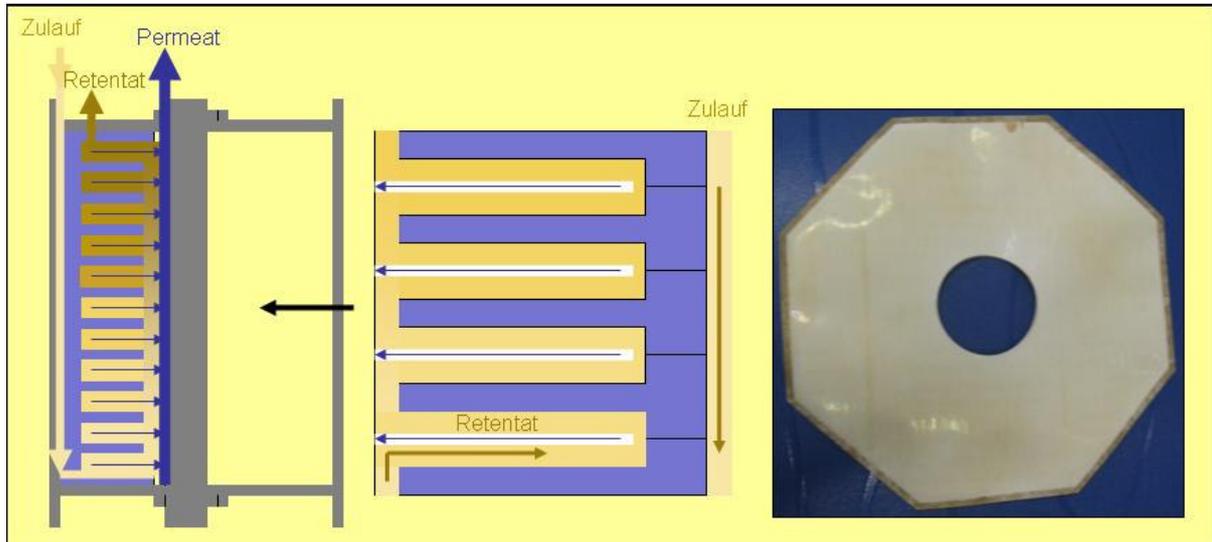


Abbildung 23: Funktionsweise der Crossflow-Labor-Umkehrosmoseanlage und eines Kissenmoduls bzw. Kissens<sup>122</sup>

## 4 Ergebnisse und Diskussion

### 4.1 Keimidentifizierung mittels FT-IR Analytik

Neben den klassischen Untersuchungs- und Identifizierungsmethoden für Mikroorganismen eignet sich in diesem Projekt auch die Identifizierung von Keimen durch die FT-IR Analytik. Aufgrund der teilweise sehr geringen Keimzahlen pro 100 mL Probevolumen stellt die PCR-Analytik keine geeignete Untersuchungsmethode in einigen Prozessschritten dar.

In den folgenden Kapiteln werden die Ergebnisse der Optimierung der Kultivierungsbedingungen und Spektrenauswertung sowie der damit verbundenen Identifikation anhand von Modellkeimen dargelegt.

Im Hinblick auf eine mögliche Kontamination mit Endotoxinen wird durch eine Clusteranalyse eine Unterscheidung von Gram-Eigenschaften durchgeführt.

Sehr vorteilhaft kann die FT-IR Analytik gerade für Keime eingesetzt werden, für die es standardmäßig noch keinen Nachweis auf Selektivnährböden gibt. Daher werden durch die Identifikationsmöglichkeiten der FT-IR Analytik die Eintragungswege von unbekanntem Keimen untersucht. Durch diese Untersuchung kann die Wirksamkeit der unterschiedlichen Barrieren und Desinfektionsmethoden überprüft werden.

#### 4.1.1 Qualitätsprüfung von Spektren

Nach der Aufnahme der FT-IR Spektren, wie sie in Kap 3.2.1 beschrieben wird, ist für die Bewertung der Spektren eine Qualitätsprüfung erforderlich. Dieses Vorgehen ist für die Erstellung einer Spektrenbibliothek und für die Durchführung eines Identitätstests erforderlich. Die Qualitätsprüfung der gemessenen Spektren mit Hilfe des Quality Tests ist ein wichtiger Bestandteil zur Beurteilung der Spektren. Dieser Test muss vor der eigentlichen Auswertung durchgeführt werden. Die Qualität der gemessenen Spektren in Bezug auf die Extinktionswerte, das Signal/Rausch-Verhältnis, die Intensität der Wasserdampfbanden sowie störende Interferenzen („Frings“) kann mit diesem Test überprüft werden. Grenzwertüberschreitungen der Spektren müssen im Einzelfall geprüft und bei der Auswertung ausgeschlossen werden. Die standardmäßig vorgegebenen Kriterien für die Qualität der Spektren<sup>109</sup> sind empirisch ermittelt und können nur für die wichtigsten der bislang untersuchten Bakterien verwendet werden. Das bedeutet, dass für einige Mikroorganismen die Kriterien entsprechend angepasst oder die Grenzbereiche spezifisch modifiziert werden können. Bei den durchgeführten Messungen konnten je nach Keimart bis zu 40 % der Spektren durch die Qualitätsprüfung als nicht geeignet aussortiert werden. Häufigste Ursache dafür war die ungleichmäßige Schichtdicke bzw. die schwankende Konzentration des enthaltenen Zellmaterials. Dadurch wurden die Extinktionswerte entweder geringfügig über- oder unterschritten, so dass sie nicht mehr den Linearitätsbereich des Gesetzes von Lambert-Beer erfüllten.

---

### 4.1.2 Aufnahme von Referenzspektren

Anhand von drei unterschiedlichen Keimen (*E. coli*, *Micrococcus luteus* und *Bacillus atrophaeus*) wird die Vorgehensweise zur Erstellung von Referenzspektren im folgenden Kapitel beschrieben. Dazu wurden von den drei Keimarten jeweils drei Doppelbestimmungen durchgeführt, daraus jeweils zwei geeignete Spektren pro Keim ausgewählt und für die Darstellung verwendet.

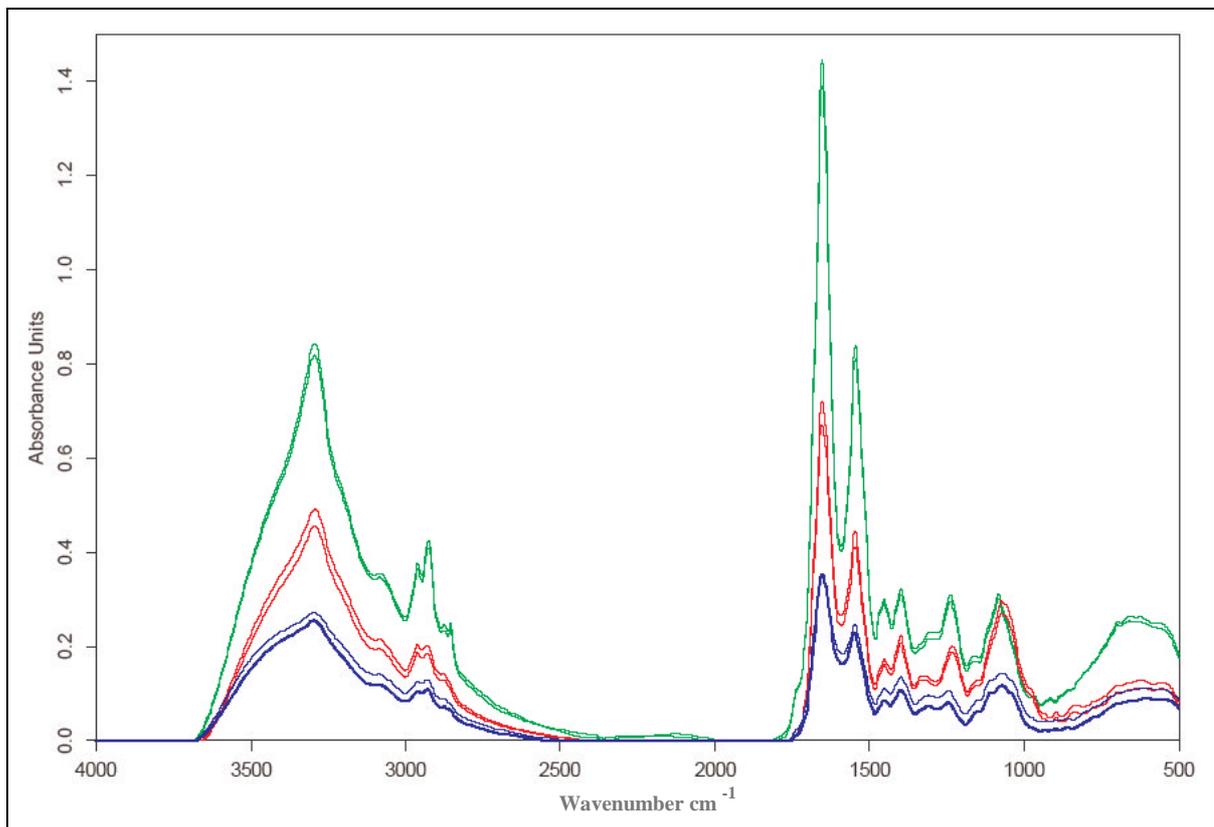


Abbildung 24: Jeweils zwei Spektren von *Escherichia coli* (grün), *Micrococcus luteus* (blau) und *Bacillus atrophaeus* (rot) nach 24 h Inkubationszeit auf DEV-Nährboden bei 36 °C

Abbildung 24 zeigt sechs Spektren der drei untersuchten Mikroorganismen. Die Intensität der Spektren ist an dieser Stelle nicht zu berücksichtigen, sondern lediglich das Profil und die spektralen Verschiebungen der Banden. Es wurden absichtlich solche Spektren gewählt, deren Intensität sich bei den gleichen Keimen ähneln, um eine übersichtliche Darstellung zu erzielen. Die Intensität der Spektren verändert sich durch die Menge der Keime, die in einem definierten Volumen destilliertem Wasser suspendiert wird. Da dieser Vorgang manuell durchgeführt wird, ergeben sich Abweichungen der Spektrenintensität. Die Intensität sollte aber innerhalb der Grenzwerte liegen, die durch die Qualitätskriterien des Messprogramms definiert sind.

Abbildung 25 zeigt die erste Ableitung der sechs Spektren aus Abbildung 24. Durch die Bildung der ersten Ableitung wird die Spektrenkontur aufgelöst und gleichzeitig findet eine Basislinienkorrektur statt. Die Normierung der ersten Ableitung erfolgte mit der Programmfunk-

tion „Vector Normalization“. Dadurch wird die Unterscheidung der Spektren ermöglicht. Zu erkennen ist, dass die Intensität der ersten Ableitung um ca. den Faktor 100 geringer ist als beim Originalspektrum. Die Spektren der jeweils gleichen Keime sind bei der ersten Ableitung visuell kaum zu unterscheiden, erst die exakte Berechnung der spektralen Distanzen mit Hilfe von Algorithmen zeigen die geringfügigen Differenzen der Spektren auf.

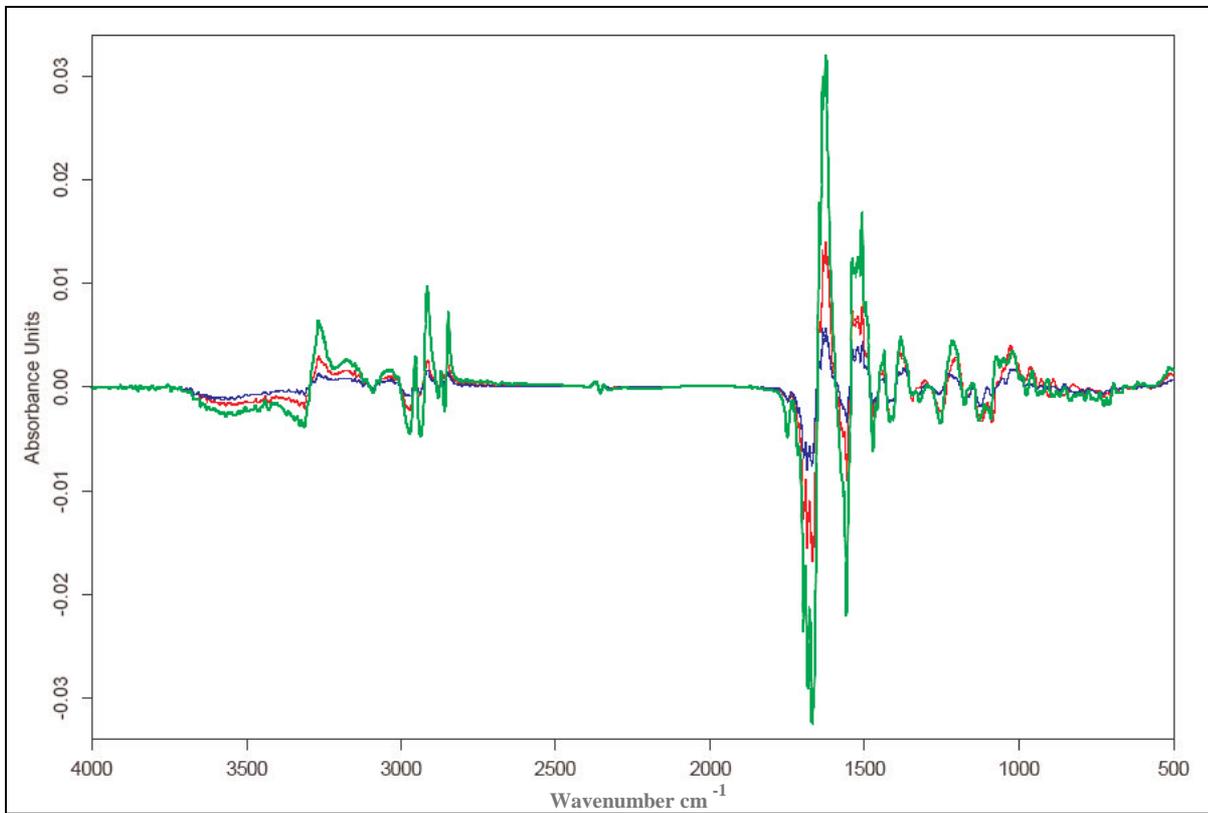


Abbildung 25: Jeweils zwei zugehörige erste Ableitungen der Spektren von *E. coli* (grün), *Micrococcus luteus* (blau) und *Bacillus atrophaeus* nach 24 h Inkubationszeit auf DEV-Nährboden bei 36 ° C

### 4.1.3 Identitätstest

Um Untersuchungen durchzuführen, die eine eindeutige Identifikation bzw. Zuordnung von Keimen ermöglichen, stehen durch die FT-IR-Analytik zwei Methoden zur Verfügung und zwar ein so genannter „Identitäts/Nonidentitäts-Test“ (Identitätsreport) und ein so genanntes „Clusterverfahren“ (Dendrogramm)<sup>109</sup>.

Die erste Möglichkeit besteht in der Auswertung über einen so genannten Identitätstest. Dabei wird das gemessene Testspektrum mit einem Referenzspektrum in einer Bibliothek verglichen. Diese Bibliothek wird vorab mit eindeutig identifizierten Mikroorganismen und/oder unbekanntem Isolaten erstellt. Mit Hilfe eines Identifikationsreports kann dann eine eindeutige Zuordnung oder bei entsprechenden Abweichungen eine Nichtidentitätsbestätigung erfolgen. Die zweite Möglichkeit besteht in einer so genannten „Clusteranalyse“. Dazu werden die Proben wie auch im ersten Fall vermessen, qualitätsgeprüft und abgeleitet. Anschließend wird die

neu vermessene Probe mit entsprechenden Referenzspektren einer Clusterung unterzogen, so dass sich mit Hilfe eines Dendrogramms im Fall einer hohen Ähnlichkeit eine Zuordnung zu einem entsprechenden Referenzspektrum eindeutig durchführen lässt. In einem Dendrogramm werden Keime aufgrund ihrer Ähnlichkeit oder Verschiedenheit zu unterschiedlichen Clustern (Gruppen) zusammengefasst. Dabei fusionieren ihre Spektren je nach Homogenität bzw. Heterogenität auf einem unterschiedlichen Niveau. Die Heterogenität einzelner Cluster lässt sich durch Gewichtung spezifischer Wellenzahlbereiche noch steigern. Die Höhe des Fusionsniveaus, bei dem die Spektren verschiedener Organismen vereinigen, kann zwar einen gewissen Anhaltspunkt geben, allerdings können nur relative Vergleiche innerhalb eines Dendrogramms angestellt werden. Die Zahlenwerte, die die spektrale Distanz bzw. Heterogenität angeben, können nur sehr begrenzt mit den Werten anderer Dendrogramme verglichen werden.

Für die Analyse von Eintragungsquellen ist es nicht unbedingt erforderlich, dass die vermessenen Keime auch einer Bibliothek mit bekannten Keimen zugeordnet werden können. Für die Untersuchung von Eintragungswegen oder Abtrennungserfolgen reicht die Möglichkeit aus, dass Keime grundsätzlich anhand ihrer Spektren identifiziert bzw. verglichen werden können.

Die Notwendigkeit einer solchen Identifikationsmethode ergab sich bei den Modellversuchen z.B. aus der Tatsache, dass Fremdquellen bei den Versuchen nicht vollständig auszuschließen waren. Als Fremdquellen kommen folgende Möglichkeiten in Frage:

- Eine Sterilisation, also die komplette Abtötung aller Mikroorganismen im Versuchsansatz, war bei den verwendeten 100 L-Ansätzen z.B. durch Autoklavieren des gesamten Ansatzes im Paderborner Technikum nicht möglich.
- Eine Rückverkeimung durch Biofilme konnte nicht ausgeschlossen werden.
- Ein vollständig abgeschlossenes apparatives System war nicht gegeben.

Um die Anzahl der Probenmessungen möglichst gering zu halten, wurden durch selektive Nährböden (siehe Nachweis *E. coli*) oder durch den Einsatz optisch unterscheidbarer Keime (*Bacillus atrophaeus*, *Micrococcus luteus*) eine Vorauswahl getroffen.

#### 4.1.4 Optimierung der Kultivierungsbedingungen

Das Ausmaß der spektralen Unterschiede ist von den Wachstumsbedingungen abhängig. Daher sind zuerst die geeigneten Kulturbedingungen für die zu untersuchenden Stämme zu bestimmen. Von entscheidender Bedeutung sind die Kulturdauer, das Nährmedium sowie die Temperatur. Anhand der drei Modellkeime EC, ML und BA wird eine Optimierung in den folgenden Kapiteln 4.1.4.1, 4.1.4.2, 4.1.4.3 dargestellt.

Für die Bezeichnung der Keime wurden Abkürzungen in den Dendrogrammen verwendet. Die Bezeichnungen der vermessenen Spektren im Dendrogramm können folgendermaßen aufgelöst werden (exemplarisch dargestellt anhand der Abkürzung **BADEV243DER**):

Keim: *Bacillus atrophaeus*, Nährboden: **DEV**-Nährboden, Inkubationszeit: **24** h, Nummer des

---

vermessenen Keims: **3**, erste Ableitung vom Originalspektrum zur Berechnung des Dendrogramms: **DER**

Dieses Schema lässt sich allgemein auf die hier dargestellten Dendrogramme übertragen. Darüber hinaus enthält das Dendrogramm zusätzlich wichtige Informationen wie verwendete Frequenzbereiche, deren Gewichtung, verwendeter Algorithmus (z.B. Scaling to 1st range) und das angewandte Clusteranalyseverfahren (z.B. Ward's Algorithmus). Üblicherweise werden die beiden letztgenannten Verfahren für die mikrobiologische Diagnostik angewandt.

#### 4.1.4.1 Kulturdauer

Entscheidend bei der Identifikation von Keimen ist die Dauer eines Tests. Ergebnisse einer Untersuchung sollten möglichst schnell verfügbar sein, um die Einhaltung von Qualitätskriterien bei der Gewinnung von Trinkwasser zu gewährleisten. Deshalb sollte eine kurze Kulturdauer das Ziel einer Optimierung sein.

Für die Wahl der Kultivierungstemperatur bedeutete diese Vorgabe, dass eine zeitliche Optimierung durch die Wahl einer höheren Temperatur erzielt werden konnte. Im Fall der verwendeten Modellkeime war ein deutlich schnelleres Anwachsen der Keime bei 36 °C anstatt bei 22 °C zu beobachten, somit wurden die Versuche bei 36 °C Inkubationstemperatur durchgeführt.

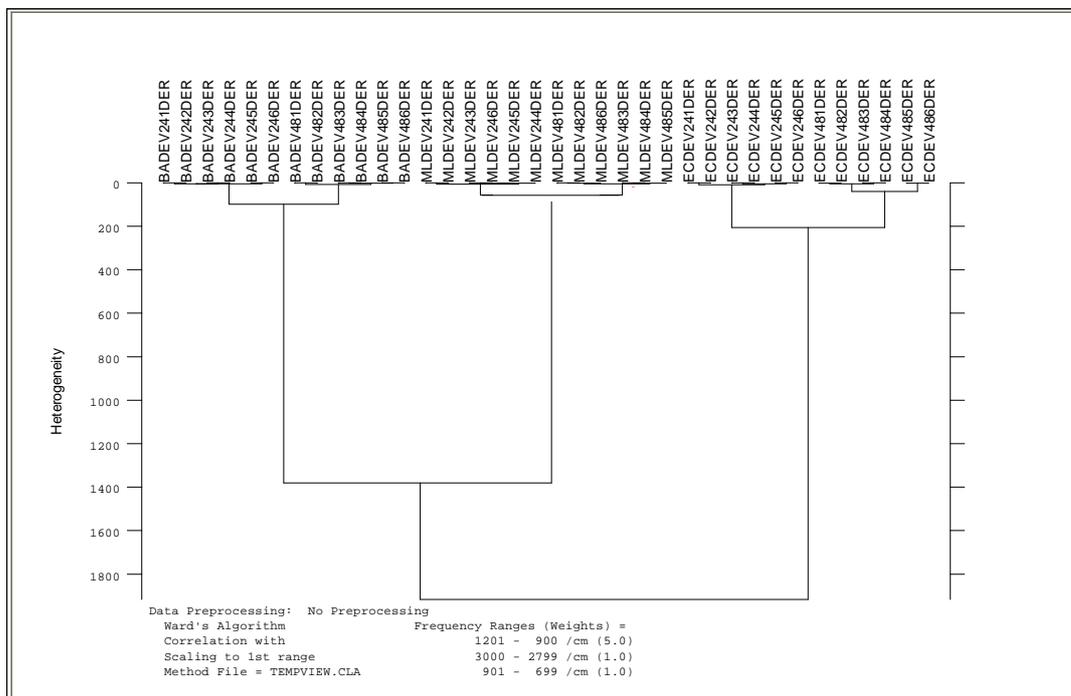


Abbildung 26: Dendrogramm bestehend aus drei unterschiedlichen Keimen (EC, BA, ML) nach 24 h und 48 h (jeweils drei Doppelbestimmungen von unterschiedlichen Isolaten des gleichen Keims)

Abbildung 26 zeigt ein Dendrogramm bestehend aus insgesamt 36 Keimspektren, die unter-

schiedlichen Clustern zugeordnet sind. Berücksichtigt werden muss immer die Qualität und die Unterscheidbarkeit der Spektren, daher wurden nach 24 und 48 Stunden von den drei Modellkeimen jeweils 3 Proben mit einer Doppelbestimmung auf einem DEV-Nährboden bei 36 °C kultiviert und vermessen. Die Unterschiede der einzelnen Keime sind durch Heterogenitäten ausgedrückt. Die Keime EC (*Escherichia coli*), ML (*Micrococcus luteus*) und BA (*Bacillus atrophaeus*) weisen deutliche Heterogenitäten auf. Das Dendrogramm wurde mit Hilfe des Clusteranalyseverfahren „Ward’s Algorithmus“ generiert, für die Kalkulation der spektralen Distanzwerte der Spektren wurde der Algorithmus „Scaling to first range“ verwendet. Bei der Kalkulation der Cluster wurden die besonders aussagekräftigen Bereiche 1200-900 cm<sup>-1</sup> (Gewichtung: 5), 3000-2800 cm<sup>-1</sup> (Gew.: 1) und 900-700 cm<sup>-1</sup> (Gew.: 1) verwendet.

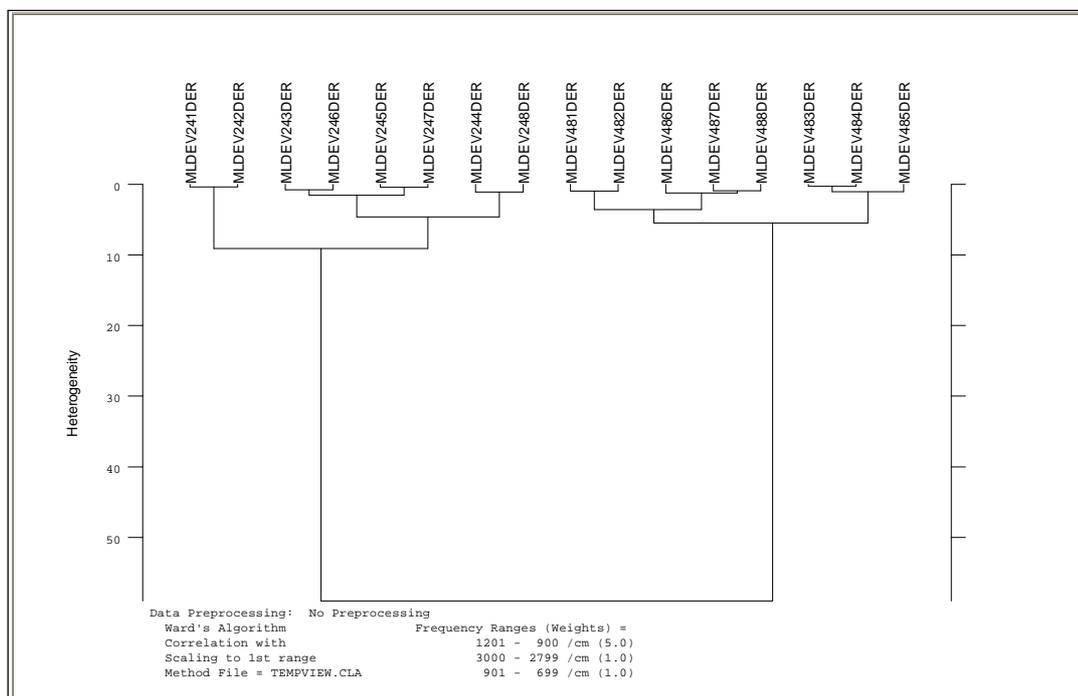


Abbildung 27: Dendrogramm mit ML-Cluster nach 24 h (links) und 48 h (rechts)

Erkennbar ist in Abbildung 27, dass die Heterogenitäten zwischen den Gram negativen EC-Keimen und den Gram positiven ML- und BA-Keimen deutlich größer sind als zwischen den Clustern der Gram positiven Keime BA und ML. Daraus lässt sich auch eine Zuordnungsmethode Gram negativer und Gram positiver Keime erstellen, die in Kapitel 4.1.5 folgt. Auch hier lässt sich über die verwendeten Frequenzbereiche und deren Gewichtung eine Optimierung der Heterogenitäten erzielen. Eine höhere Heterogenität zur Unterscheidbarkeit der Cluster stellt das Ziel der Optimierung dar.

Die 24-h-Proben befinden sich in diesem Cluster jeweils auf der linken Seite und die 48-h-Proben befinden sich auf der rechten Seite der jeweiligen Gruppen. Bei den BA-Clustern und den EC-Clustern aber nicht bei den ML-Clustern ist in dieser grob aufgelösten Clusteranalyse erkennbar, dass die 24-h-Proben gegenüber den 48-h-Proben geringere Heterogenitäten innerhalb des Clusters aufweisen.

Die ML-Cluster zeigen dagegen auch bei einer höheren Auflösung, dass die 24-h- und 48-h-Proben untereinander ähnliche Heterogenitäten aufweisen, mit geringfügig höherer Heterogenität der 24-h-Proben. Eine Erklärung dafür ist die geringere Wachstumsgeschwindigkeit der ML-Kolonien gegenüber den EC- und BA-Keimen auf diesem Nährboden. Im Gegensatz zu den BA- und EC-Kolonien war die sichtbare Wachstumsphase der ML-Kolonien erst nach 48 h abgeschlossen. Offensichtlich ähneln sich die Kolonien stärker, wenn die aktive Wachstumsphase noch stattfindet. Die Heterogenitäten der schneller wachsenden BA- und EC-Kolonien weisen einen 2-3 fach höheren Wert auf. Die größte Wachstumsgeschwindigkeit zeigt der EC-Keim, der dann auch die größten Unterschiede zwischen den 24 h und 48 h Stunden Proben aufweist. Die aktive Wachstumsphase ist schon nach 24 h weitgehend abgeschlossen.

Auch im direkten Vergleich von 24 h und 48-h Proben des BA-Keimes im höher aufgelösten Dendrogramm und bei einem optimierten Frequenzbereich ist ersichtlich (siehe Abbildung 28), dass die Heterogenitäten innerhalb der Cluster Unterschiede aufweisen. Auch hier befinden sich wieder die 24 h Proben im linken Cluster und die 48 h Proben im rechten Cluster.

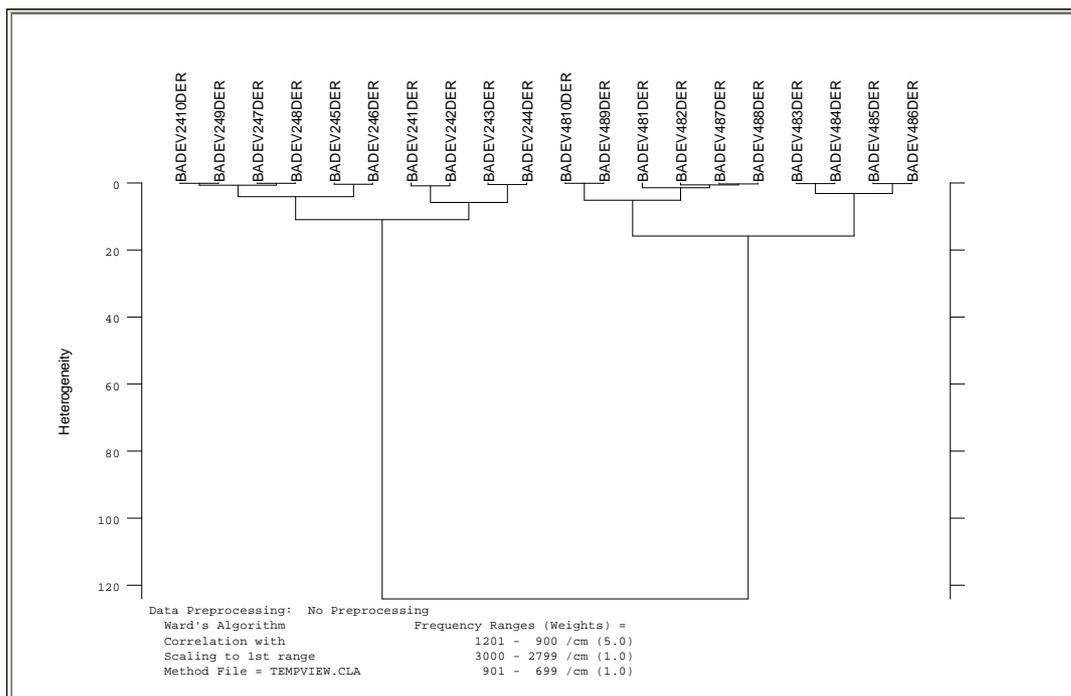


Abbildung 28: Dendrogramm von BA-Spektren nach 24 h und 48 h

Es ist ersichtlich, dass die Keime, die aus einer Suspension für eine Doppelbestimmung entnommen wurden (jeweils die Paare 1,2 und 3,4 etc.) jeweils die geringsten Unterschiede aufweisen. Damit kann die hohe Genauigkeit dieser Messung dokumentiert werden. Während bei den Doppelbestimmungen Heterogenitäten von ca. 1-2 auftreten, liegen die Werte zwischen den Messungen der gleichen Keime, die auf anderen Platten mit dem gleichen Nährboden und gleichen Bedingungen inkubiert wurden, im Fall der 24 h Proben bei Werten von ca. 5-16. Bei einer Inkubationszeit von 48 h vergrößerten sich die Heterogenitäten zwischen den Spektren

auf max. ca. 19. Die Differenz zwischen Spektren von Keimen nach 24 h und 48 h liegen dann sogar bei einem Wert von über 120. Daraus lässt sich schließen, dass auch nach 24 h Wachstumszeit noch eine Veränderung z.B. der Zusammensetzung der Zellmembran stattfindet, die offensichtlich größer ist als die Veränderung der Keime im anfänglichen Wachstumsstadium. Eine genaue Untersuchung dieser Veränderungen in den einzelnen Frequenzbereichen und den damit verbundenen funktionellen Eigenschaften innerhalb der Wachstumsphasen ist für die Identifikation von Isolaten aber nicht erforderlich. Für die Identifikation der Keime gilt die Aussage, dass sich nach einer 24-stündigen Inkubationszeit in diesem Fall eine geringere Heterogenität findet und somit die kürzere Kulturdauer vorteilhaft ist.

Als Fazit kann festgehalten werden, dass es zu keinerlei Überschneidungen der Cluster der unterschiedlichen Keime kommt. Die Ähnlichkeit der Proben ist auch bei einer Veränderung der Inkubationszeit immer noch absolut eindeutig gegeben. Trotzdem führt eine kürzere Inkubationszeit bei diesen drei Keimen in zwei Fällen zu geringeren und in einem Fall zu vergleichbaren Heterogenitäten zwischen den unterschiedlichen Proben. Demnach sollte die Messung der Spektren möglichst früh (schon nach 24 h) vorgenommen werden, also noch in der frühen stationären Wachstumsphase der Keime. Eine zeitliche Verkürzung der Probenahme wird natürlich schon durch das Wachstum der Kolonien begrenzt. Nur bei sehr langsam wachsenden Keimen kann eine spätere Messung sinnvoll sein, so dass eine Entnahme der Kolonien ohne Nährboden möglich ist. Es besteht bei zu kleinen Kolonien die Gefahr, dass nicht ausreichend Masse erfasst werden kann oder sogar Nährboden mit in die Suspension überführt wird. Dies kann zu Verfälschungen der Spektren führen.

#### 4.1.4.2 Wahl des Nährmediums

Die Zusammensetzung des Nährmediums hat entscheidenden Einfluss auf die molekulare Struktur der Keime und mithin auf die Spektren der Keime. Daher ist zu prüfen, welche Nährmedien sich eignen.

Es wurde folgendermaßen verfahren:

- Die Vergleichsstämme werden auf unterschiedlichen Nährmedien bei sonst gleichen Bedingungen kultiviert. Dazu wurden zwei unterschiedliche Medien getestet: DEV-Nährboden und Hefeextraktagar.
- Von jeder Kultur wurden jeweils zwei Doppelbestimmungen durchgeführt.
- Die Proben wurden vermessen, die Spektren abgeleitet und qualitätsgeprüft.
- Die Spektren wurden geclustert. Für jedes Nährmedium wurde eine eigene Clusteranalyse durchgeführt. In diesem Fall hatte sich die Fensterkombination 1200-900 (5.0), 3000-2800 (2) und 900-700 (1) mit den jeweiligen Gewichtungsfaktoren in Klammern als optimaler Parameter zur Unterscheidung der Cluster gezeigt.

Fallen die Cluster zweier unterschiedlicher Keime bei einem bestimmten Nährmedium zusammen, so ist dieses ungeeignet. Am besten eignen sich für die Identität/Nichtidentitäts-Untersuchung diejenigen Nährmedien, welche die größten Distanzwerte zwischen zwei

Clustern hervorrufen.

Untersucht wurden 8 unbekannte Keime, die im VE Wasser für den Modellwasseransatz isoliert werden konnten. Eine vollständige Keimfreiheit des eingesetzten VE-Wassers konnte für die Modellansätze nicht gewährleistet werden, so dass für die Abbauersuche mit den Modellkeimen eine Unterscheidung der Isolate erforderlich wurde.

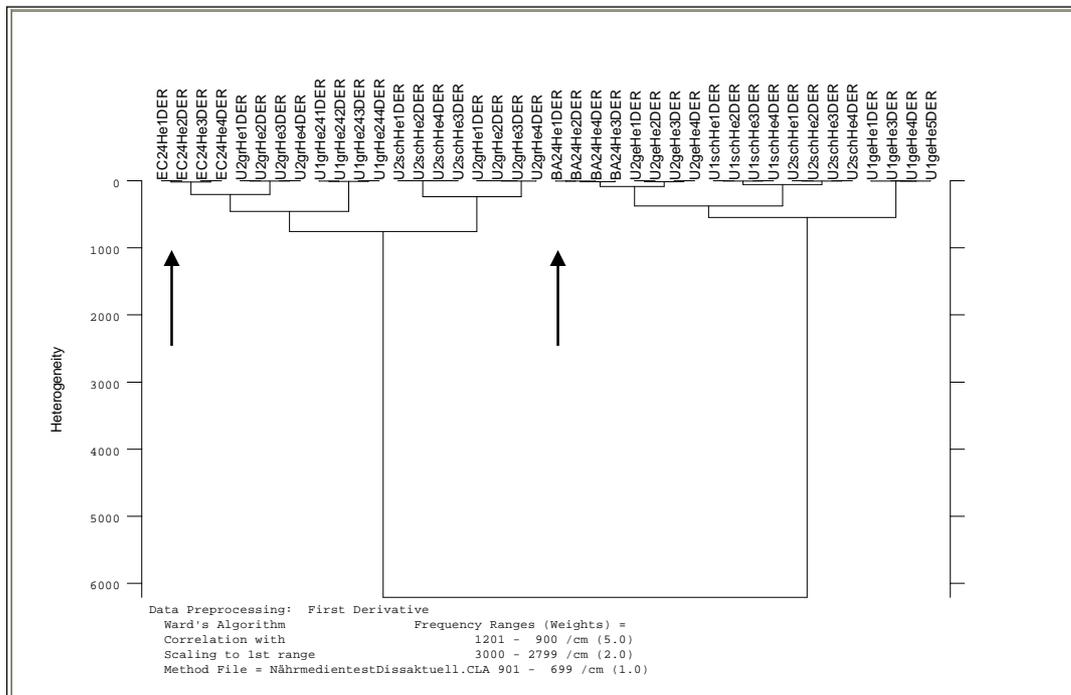


Abbildung 29: Clusteranalyse von *Bacillus atrophaeus*, *E. coli* und 8 unbekannten Keimen aus dem Modellwasser, kultiviert auf Hefeextraktagar.

Abbildung 29 zeigt ein Dendrogramm basierend auf den Aufnahmen acht unterschiedlicher Keime aus dem Modellwasseransatz und den Keimen *E. coli* und *Bacillus atrophaeus*, die auf einem Hefeextraktagar kultiviert wurden. Es zeigt sich, dass sich die Cluster sehr gut auf dem Hefeextrakt Nährboden unterscheiden lassen. Besonders groß sind die Unterschiede erwartungsgemäß zwischen den Gram positiven und Gram negativen Keimen (Heterogenität > 6000). Aber auch innerhalb dieser Gruppen sind die Zuordnungen eindeutig und es kommt zu keiner falschen Zuordnung von Keimproben.

Natürlich können auch hier nicht alle unterschiedlichen Keime einer Probe untersucht werden und eine Überprüfung der Clusterfusion erfolgen. Mit Hilfe der FT-IR-Analyse soll in diesem Fall eine Identitätsbestätigung erfolgen. Eine Vorauswahl der untersuchten Keime nach visuellen Kriterien und anderen spezifischen Verhaltensweisen gekoppelt mit einer FT-IR Untersuchung ermöglicht es somit, eine eindeutige Zuordnung der in den Modellversuchen verwendeten Keime durchzuführen.

Eine Clusteranalyse auf einem DEV-Nährboden ergab ein vergleichbar positives Ergebnis bezüglich der Eignung zur Clusterung unterschiedlicher Keime, so dass auch dieser Nährbo-

den sich genauso gut für eine Zuordnung der Keime eignet. Die Wachstumsbedingungen waren in beiden Fällen 24 Stunden und die Kultivierungstemperatur lag bei 36 °C. Auf dem DEV-Nährboden konnte allerdings eine stärker ausgeprägte Neigung zur Pigmentbildung (orange) der *Bacillus atrophaeus* Stämme beobachtet werden. Somit kann schon optisch eine gute Vorauswahl der Keime getroffen werden, die dann mit Hilfe der FT-IR-Analytik eindeutig identifiziert werden können. Die Vorauswahl bei den *E. coli*-Keimen konnte mit Hilfe von Chromocult-Nährboden erfolgen.

Der Einfluss unterschiedlicher Nährböden zeigte sich auch bei der Clusterung in einem Dendrogramm von unbekanntem Keimen im Vergleich mit den drei Modellkeimen. Bei den Keimen ML und EC zeigte sich, dass trotz der Verwendung von zwei unterschiedlichen Nährböden eine hohe Ähnlichkeit zwischen den Spektren bestand. Die Cluster der gleichen Keime (ML und EC) auf den beiden unterschiedlichen Nährböden fusionierten im Dendrogramm frühzeitiger als die Cluster, die mit anderen unbekanntem Keimen auf den gleichen Nährböden entstanden. In diesem Fall war also eine hohe Ähnlichkeit der gleichen Keime auf unterschiedlichem Nährboden gegeben. Diese Beobachtung lässt sich allerdings nicht verallgemeinern. Im Fall des BA-Keimes konnte eine größere Ähnlichkeit zu einem unbekanntem Keim auf dem gleichen Nährboden gefunden werden. Der Einfluss des Nährbodens war in diesem Fall also relevanter. Die Zuordnung der BA-Keime in einem Cluster war aber eindeutig und es kam zu keiner falschen Zuordnung eines Keimes zu einem anderen Cluster.

Der Einfluss des Nährbodens kann also gravierende Unterschiede zwischen den einzelnen Spektren erzeugen. Eine Identifikation bzw. eine eindeutige Zuordnung in bestehende Cluster ist nur mit einem gleichen Nährboden möglich.

#### 4.1.4.3 Fazit

Die durchgeführten Untersuchungen der unterschiedlichen Modellkeime haben gezeigt, dass in keinem Dendrogramm unterschiedliche Keime mit den bekannten zu untersuchenden Keimen fusionierten. Dieses Ergebnis lässt die Aussage zu, dass die FT-IR Analytik für eine Clusteranalyse geeignet ist. Wird die Methode noch mit äußeren Erkennungsmerkmalen ergänzt, kann mit sehr hoher Wahrscheinlichkeit eine richtige Zuordnung der Isolate erfolgen. Insbesondere, wie hier geschehen, kann beim Einsatz von Modellkeimen in Modellansätzen, die nicht vollständig frei von Keimen aus Fremdquellen sind, eine einfache Überwachung und Kontrolle erfolgen. Außerdem existiert keine Standardnachweismethoden mit Hilfe von selektiven Nährböden für die Keime BA und ML. Für die Kultivierung eignete sich sowohl ein Hefeextraktagar als auch ein DEV-Nährboden.

Positive Befunde auf einem Chromocultnährboden müssen zusätzlich mit biochemischen Tests abgesichert werden, als Alternative bietet sich die FT-IR Analytik an. Bei dem Selektivnährboden zum Nachweis von *E. coli* (Chromocult) lassen sich unterschiedliche *E. coli*-Stämme nicht nachweisen, so dass auch hier eine Möglichkeit zur Differenzierung besteht. „Wilde“ Stämme oder falsch positive Ergebnisse können dadurch eindeutig von den eingesetzten Modellkeimen unterschieden werden<sup>109</sup>. Ein weiterer entscheidender Vorteil der FT-

IR-Analytik gegenüber der PCR-Analytik ist der bedeutend geringere Aufwand. Bei der Untersuchung der Modellwässer, die mit Modellkeimen angeimpft wurden, konnte mit Hilfe der FT-IR Analytik eine schnelle und eindeutige Identifikation der Modellkeime etabliert werden.

#### **4.1.5 Differenzierung Gram positiver und Gram negativer Keime**

Mit Hilfe der FT-IR Analytik kann eine Gruppierung der Keime in Gram positiv und Gram negativ vorgenommen werden. Wenn in einer vorhandenen Datenbank keine Zuordnung zu einem bekannten Keim erfolgen kann, besteht die Möglichkeit, dass sich mit Hilfe einer Clusteranalyse eine Zuordnung zur Gruppe der Gram negativen Keime vornehmen lässt ohne eine Identifikation durchzuführen. Hier bietet die FT-IR Analytik eine komfortable Lösung an. Üblicherweise werden solche Tests mit Hilfe eines Färbeversuchs, dem so genannten Gram-Test, durchgeführt.

Relevant ist diese Untersuchung, um die Herkunft bzw. Bildung von Endotoxinen nachzuweisen. Durch die Zerstörung der Zellwand Gram negativer Mikroorganismen können Endotoxine entstehen. Die Lipopolysaccharide (Endotoxine) auf der Zellwand der Gram negativen Bakterien sind oft toxisch, somit ist der Nachweis und die Kontrolle dieser Keimgruppe eine Möglichkeit, Rückschlüsse auf eine Kontaminationsquelle zu ziehen.

Besonders geeignet für die Differenzierung Gram positiver und Gram negativer Keimcluster sind die Wellenzahlbereiche  $1200-900\text{ cm}^{-1}$  (Gewichtung: 1),  $3000-2800\text{ cm}^{-1}$  (Gewichtung: 1) und  $1500-1400\text{ cm}^{-1}$  (Gewichtung: 1). Die besondere Eignung dieser Wellenzahlbereiche ist in Kapitel 3.2.1.2 beschrieben. Sie beruht auf der Zusammensetzung der Fettsäuren der Membran und der Polysaccharide in der Zellwand<sup>109</sup>.

Für die Untersuchung wurden von unterschiedlichen bekannten Gram positiven (BA, ML) und Gram negativen (EC) Mikroorganismen Wiederholungsmessungen unabhängiger Präparationen angefertigt, qualitätsgeprüft und einer Clusterung unterzogen.

Beispielhaft werden hier die drei Modellkeime auf jeweils zwei unterschiedlichen Nährböden dargestellt. Durch die Clusterung werden die Keime in die beiden Gruppen unterteilt. Mit Hilfe der Clusteranalyse kann anschließend eine Zuordnung eines unbekanntes Keimes zur Gruppe der Gram negativen oder Gram positiven Keime erfolgen.

Je größer die Anzahl bekannter Keime mit den entsprechenden Eigenschaften ist, desto besser kann eine Optimierung der Wellenzahlbereiche und ihrer Gewichtungen vorgenommen werden und infolgedessen eine sichere Zuordnung eines unbekanntes Keimes erfolgen.

---

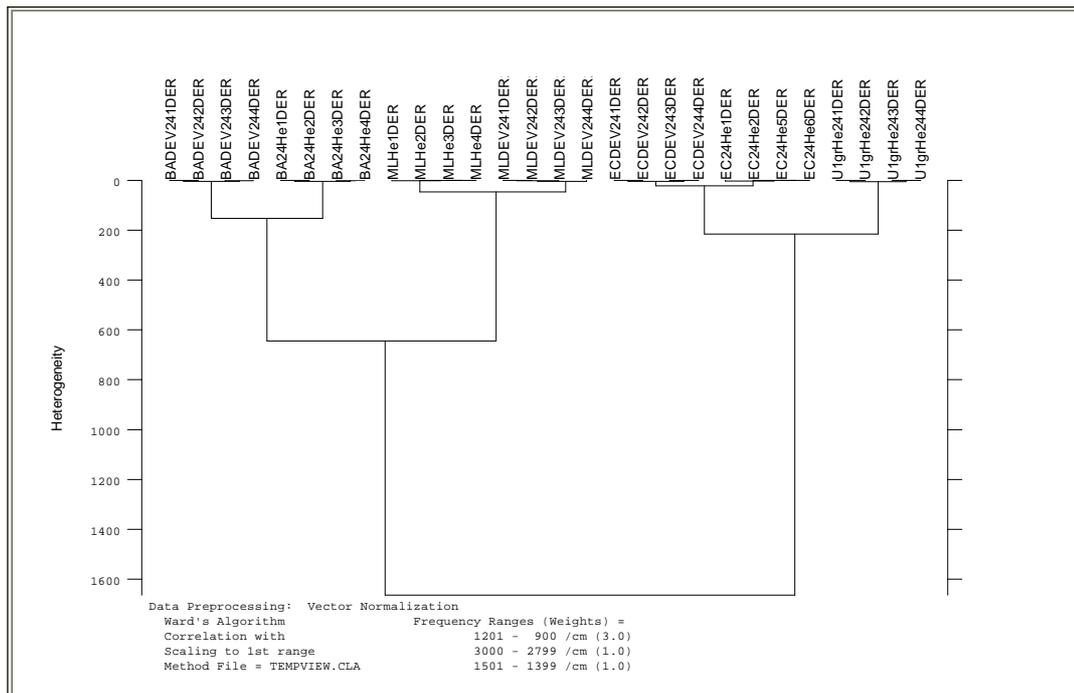


Abbildung 30: Dendrogramm mit Gram positiven und Gram negativen Bakterien. Verwendete Wellenzahlbereiche:  $1200-900\text{ cm}^{-1}$  (3),  $3000-2800\text{ cm}^{-1}$  (1) und  $1500-1400\text{ cm}^{-1}$  (1).

Abbildung 30 zeigt ein Dendrogramm bestehend aus Messungen von Gram positiven und Gram negativen Keimen auf unterschiedlichen Nährböden. Die vier Messungen des unbekannten Stammes, die ganz rechts im rechten Cluster zu erkennen sind, konnten dem Bereich der Gram negativen Bakterien (EC) zugeordnet werden. Die jeweils vier Keimpräparationen auf zwei unterschiedlichen Nährböden von ML- und BA-Keimen bilden die Gruppe der Gram positiven Keime und befinden sich auf der linken Seite des Dendrogramms. Zwischen diesen beiden Gram positiven Keimen besteht zwar auch ein großer Unterschied, erkennbar durch die Höhe der Clusterfusion, aber es ist eine eindeutige Zuordnung möglich. Die Optimierung durch Gewichtung unterschiedlicher Wellenzahlbereiche ergab in diesem Fall ein besseres Ergebnis mit einer höheren Gewichtung (3) des ersten Wellenzahlbereichs gegenüber den anderen Wellenzahlbereichen (jeweils 1). Der Einfluss der Nährböden lässt sich bei diesen Parametereinstellungen zwar deutlich erkennen, es besteht aber trotzdem eine so hohe Ähnlichkeit zwischen den Spektren der gleichen Keime, dass sie nicht einer anderen Gruppe zugeordnet werden können.

#### 4.1.6 Ozon-Resistenzneigung in Abhängigkeit von Grameigenschaften

In diesem Versuch wurde mit Hilfe der FT-IR Analytik die Resistenzneigung von Gram positiven und Gram negativen Keimen gegenüber einer Ozonbehandlung getestet. Die Relevanz dieser Untersuchung ergibt sich aus der Eigenschaft, dass absterbende oder zerstörte Gram negative Keime zur Freisetzung von Endotoxinen beitragen können. Untersucht wurde eine verkeimte Probe des UO-Permeates aus einer Realprobe vor und nach der Behandlung mit

Ozon. Die Ozonbehandlung bestand aus einer intensiven zweieinhalb minütigen Ozonung mit einer Dosis von  $2,5 \text{ mgO}_3/\text{L}$  in der 5 L-Blasensäule.

Bei der Untersuchung der Keime vor der Ozonung konnten sowohl 4 unterschiedliche Keime identifiziert werden, die sich mit Hilfe einer Clusteranalyse zur Gruppe der Gram positiven zuordnen ließen, als auch 4 unterschiedliche Keime, die sich zu den Gram negativen Stämmen zuordnen ließen. Die Auswertung von Keimen nach der Behandlung ergab, dass unter den wenigen Kolonie bildenden Einheiten ( $7 \text{ KBE}/100\text{mL}$ ) nur noch 2 unterschiedliche Gram positive vermehrungsfähige Keime auf einer Hefeextraktplatte wiedergefunden werden konnten. Diese Befunde weisen auf eine unterschiedliche Resistenzneigung gegenüber dieser Desinfektionsmethode hin. Möglicherweise bedingt die Zellwandstärke auch die Oxidationsempfindlichkeit unterschiedlicher Mikroorganismen. Diese Ergebnisse sind auch im Einklang damit zu bringen, dass sich der Gram positive Keim *Bacillus atrophaeus* deutlich widerstandsfähiger gegenüber Ozon erwies als der *E. coli*-Keim. Allerdings wäre eine deutlich höhere Anzahl von untersuchten Gram positiven und Gram negativen Keimen erforderlich, um daraus eine eindeutige Tendenz und einen Zusammenhang mit dem Aufbau der Zellwand signifikant abzuleiten.

Im Gegensatz dazu zeigte sich bei einer Probe, die nach der Ozonbehandlung über 96 Stunden im Blasensäulenreaktor wiederverkeimte, dass die Proben von Gram negativen Keimen dominiert wurden. Sie konnten sich am schnellsten verbreiten und fanden offensichtlich sehr gute Wachstumsbedingungen. Da sich in den ozonisierten Proben vorab keine Gram negativen Keime nachweisen ließen, muss von einer „Fremdquelle“ des nicht völlig abgeschlossenen Systems oder von Biofilmen in der Anlage ausgegangen werden, die zur Wiederverkeimung der Probe führte. Wird dieses Ergebnis unter dem Aspekt der Endotoxineubildung betrachtet, die durch wiederholte Ozonung und Zerstörung der Zellwände oder durch natürliches Absterben von Gram negativen Keimen entstehen kann, bedeutet dieser Befund, dass möglichst durch eine Permanentozonung das Wachstum aller Keime und speziell der Gram negativen Keime unterdrückt werden sollte. Aufgrund der für Ozon empfindlicheren Zellwand Gram negativer Keime kann das Ziel der Unterdrückung dieser Keime wahrscheinlich schon mit geringen Dosismengen erfolgreich durchgeführt werden.

#### 4.1.7 Untersuchung der Barriereigenschaften von Membranstufen

Im Rahmen des Projektes sollte die Ursache für die Verkeimung der Proben in den einzelnen Membranstufen identifiziert werden. Als mögliche Eintragungswege kommen Durchlässigkeiten der Membranstufen sowie Fremdquellen und Rückverkeimung in Frage. Für den Nachweis wurden Proben der Filtrate der Ultrafiltrationsstufe und Permeate der Umkehrosmostufe mit Hilfe der FT-IR Spektroskopie in einer Diplomarbeit von Israel, O.<sup>123</sup> im Fachgebiet Technische Chemie und Chemische Verfahrenstechnik an der Universität Paderborn untersucht.

Dazu wurden Keime aus Wasserproben isoliert, die nach der Ultrafiltrationsstufe entnommen wurden. Insgesamt wurden von 60 unterschiedlichen Keimen Mittelwertspektren erstellt. Für

die Kultivierung der Keime wurde ein Hefeextraktnährboden verwendet. Einschränkend ist anzumerken, dass es sich bei der Vielzahl unterschiedlicher Keime um eine möglichst repräsentative Auswahl der Keime handelt. Die Erstellung der Bibliothek umfasste pro berechnetes Mittelwertspektrum jeweils 10 Einzelspektren des gleichen Keimes, so dass auch hier eine Begrenzung der Bibliothek erforderlich war. Anschließend wurden Keime, die im Permeat der Umkehrosmosestufe auf Hefeextraktnährboden isoliert werden konnten, mit denen in der Ultrafiltrationsstufe verglichen. Es konnten trotz der großen Anzahl unterschiedlicher Keime nach der Ultrafiltrationsstufe 15 % der Keime in der UO-Stufe wiedergefunden werden. Dieser Befund deutet darauf hin, dass Keime aus dem Filtrat der Ultrafiltrationsstufe auch die Umkehrosmosestufe passieren konnten. Mit diesen Untersuchungen lässt sich aber nicht eindeutig klären, auf welchem Weg die Keime die UO-Stufe passieren konnten bzw. ob Fremdquellen in beiden Stufen verantwortlich für die gleichen Keimpopulationen sind. Die Ergebnisse weisen darauf hin, dass auch ein Durchbruch durch die UO-Membranstufe nicht völlig ausgeschlossen werden kann. Dagegen spricht, dass spezielle Keime, die im Rahmen der klassischen TVO-Untersuchung nur im UF-Filtrat zu finden waren nicht mehr im UO-Permeat aufzufinden waren. Allerdings könnte dabei auch die Keimkonzentration eine Rolle gespielt haben.

Weitere Untersuchungen an einer Umkehrosmoseanlage im Technikum der Technischen Chemie und Chemischen Verfahrenstechnik an der Universität Paderborn mit dem Modellkeim *E. coli* mit einer sehr hohen Startkonzentration deuten zusätzlich darauf hin, dass ein Passieren des Modellkeims durch das einstufige Membranmodul in sehr geringem Umfang möglich ist. Mit Hilfe der FT-IR-Analytik konnte bestätigt werden, dass es sich im Permeat um den ursprünglich im Feed in hoher Zahl eingesetzten Modellkeim *E. coli* handelte.

Insgesamt gelang es, eine eindeutige Zuordnung von bekannten Keimen zu den entsprechenden Mittelwertspektren in der umfangreichen Bibliothek durchzuführen. Dazu wurden Keime herangezogen, die auf Selektivnährböden schon einer entsprechenden Vorauswahl unterzogen wurden. Mit Hilfe dieser Selektivnährböden gelang es, die Trefferwahrscheinlichkeit durch Vorauswahl noch mal deutlich auf 90 % zu erhöhen<sup>123</sup>. Damit lassen sich innerhalb kurzer Zeit (innerhalb von 24-48 Stunden) sehr gute Identifikationsergebnisse erzielen, die durch klassische Methoden erst nach mehrtägigen weiteren aufwändigen Untersuchungen erzielt werden können. Die FT-IR Spektroskopie stellt somit ein geeignetes Instrument zur Untersuchung von Eintragungswegen dar. Die Problematik der Vorauswahl von Keimen aus einem komplexen Keimgemisch stellt sich ebenso für andere Nachweismethoden. Bei der Realtime-PCR-Analytik kommt z.B. noch die hohe Nachweisgrenze erschwerend hinzu, die nur durch biologische Anreicherungsverfahren umgangen werden kann, allerdings verbunden mit weiteren Nachweisrisiken, wie z.B. falsch negativen Ergebnissen im Falle einer Nichtvermehrung der gesuchten Keime in der Nährlösung.

Die FT-IR-Spektroskopie kann immer dann sehr erfolgreich eingesetzt werden, wenn Keime in den Versuchsreihen identifiziert werden müssen, für die es keine spezifischen Nährböden gibt oder bei denen auch mögliche Fremdquellen in Frage kommen. Die Unterscheidung kann dann eindeutig mit Hilfe der FT-IR Analytik erfolgen.

## 4.2 Endotoxine

Endotoxine entstehen durch den Zerfall der Zellmembran Gram negativer Mikroorganismen. Für Wasser, das für die Herstellung pharmazeutischer Produkte verwendet wird, ist ein Grenzwert an Endotoxinen von 0,25 EU (EU = Endotoxin Units) vorgegeben. Grundsätzlich sollte Wasser für den Gebrauch im Bereich von Lebensmitteln ähnlichen Kriterien genügen, jedoch sind in der TVO keine kritischen Parameter formuliert. Um festzustellen, ob Endotoxine in den Proben überhaupt vorhanden sind, wurde ein möglichst einfach durchzuführender Test angewendet. Der verwendete Test erlaubt aber nur eine Differenzierung hinsichtlich eines Positiv/Negativ-Nachweises mit einer Grenze von 0,25 EU. Positivbefunde von über 0,25 EU zeigen dann weiteren Untersuchungsbedarf auf. Als Endotoxintestkit wurde das Testkit Pyrosate TM für Endotoxinbestimmung in Wasser und Dialysaten der Fa. Pyroquant Diagnostik GmbH mit der Artnr. 28PS01A02 verwendet. Die exakte Beschreibung der Testdurchführung findet sich im Kapitel 3.2.3.

Um die Qualität des Wassers zu untersuchen, das die jeweiligen Barrierestufen passiert hat, wurden Proben genommen und mit Hilfe des beschriebenen Schnelltests untersucht. Getestet wurden sowohl eine Realwasserprobe nach der UO-Filtration, Modellwasser vor und nach der Behandlung mit Ozon, UV und einer Kombination aus Ozon + UV. Als Referenzprobe und zur Verdünnung wurde steriles, DNA und RNA freies Bidest-Wasser der Fa. Eurobiol verwendet.

Bei dem Modellwasser wurde als Testkeim der Gram negative Keim *E. coli* verwendet. Die Konzentration der eingesetzten Keime entsprach mit ca.  $10^7$  KBE/100mL solchen Werten, die auch bei Realproben nach einer starken Rückverkeimung von UO-Proben an Gram negativen Keimen zu finden waren. Mit Hilfe von FT-IR Untersuchungen konnte in Realproben nachgewiesen werden, dass sich in den höchsten Verdünnungsstufen, also bei Keimzahlen von ca.  $10^7$  KBE/100 mL, Gram negative Keime befanden.

Im ersten Schritt erfolgte der Test mit Wasser der Fa. Eurobiol. Es konnten erwartungsgemäß keine Endotoxine mit diesem Test festgestellt werden. Zusätzlich findet bei jedem Test eine Validierung durch ein Positiv-Produkt-Kontrollröhrchen statt. Dieser Test verlief positiv, das Testergebnis für das Wasser von der Fa. Eurobiol kann somit als Negativbefund bestätigt werden. Anschließend wurde eine Realwasserprobe nach der UO-Filtration untersucht. Die Probe wurde zunächst auf 3-4 °C gekühlt, transportiert und dann tiefgefroren. Das Testergebnis dieser Probe war positiv, es konnten trotz der Membranfiltration Endotoxine nachgewiesen werden. Der Grund dafür könnte sein, dass Endotoxine die Membranbarriere passieren oder rückverkeimte Mikroorganismen bzw. deren Zerfall den Positivbefund bewirken. Auch in einer Modelllösung mit *E. coli*-Keimen mit einer Konzentration von ca.  $10^7$  KBE/100mL wurde ein Positivbefund nachgewiesen. Der DOC-Wert in dieser Modelllösung betrug 6 mgC/L. Der Positivbefund ist nicht sehr verwunderlich, da sich möglicherweise in dem Modellwasser abgestorbene Keime befinden, die durch Zellyse und Zerfallsprozesse Endotoxine aus der Zellmembran freisetzen. Auch nach einer Ozonbehandlung dieser Modelllösung in einer kontinuierlich betriebenen Blasensäule mit einer Ozondosierung von 8,4 mgO<sub>3</sub>/L innerhalb von einer

Stunde und 16,8 mgO<sub>3</sub>/L innerhalb von zwei Stunden wurden Positivbefunde festgestellt. Bei diesem Versuch wurde dem Blasensäulenreaktor kontinuierlich ein Feedstrom mit Modelllösung zugeführt, so dass permanent vermehrungsfähige Keime in den Blasensäulenreaktor strömten. Dadurch könnten sich auch noch nicht oxidierte oder teilweise zerfallene Mikroorganismen in der Lösung befunden haben, die den Positivbefund hervorriefen. Daher sollte in einem weiteren Versuch überprüft werden, ob bei einem Semibatchversuch ohne weitere Zuführung eines Feedstroms (aber mit kontinuierlich zugeführtem Ozongasstrom) eine so weitreichende Oxidation stattfindet, dass der Endotoxinnachweis einen Negativbefund liefert. Aber auch bei diesem Versuch mit Ozondosierungen von 8,4 mgO<sub>3</sub>/L und 16,8 mgO<sub>3</sub>/L konnten in beiden Fällen Positivbefunde festgestellt werden. Selbst eine 1:10 Verdünnung der 16,8 mgO<sub>3</sub>/L Probe mit bidest. Wasser der Fa. Eurobiol lieferte einen Positivbefund. Auch ein UV-Versuch mit einer Bestrahlungsdosis von 864 mJ/cm<sup>2</sup> lieferte Positivbefunde. Durch die UV-Bestrahlung mit einem UV-C-Niederdruckstrahler mit einem Wellenlängenmaximum bei 254 nm werden Mikroorganismen nicht an ihrer Zellwand angegriffen. Die Bestrahlung hatte auch keinen Effekt auf noch in der Lösung befindliche Endotoxine, zumindest keinen so großen Effekt, dass ein Negativbefund festgestellt werden kann. Abschließend wurde noch eine Kombinationsbehandlung von Ozon + UV getestet. Die Versuche wurden mit einer kontinuierlich betriebenen Blasensäule durchgeführt. Im ersten Fall betrug die Ozondosis 16,8 mgO<sub>3</sub>/L und die UV-Dosis 864 mJ/cm<sup>2</sup> und im zweiten Fall betrug die Ozondosis 8,4 mgO<sub>3</sub>/L und die UV-Dosis 432 mJ/cm<sup>2</sup>. In beiden Fällen konnte ein Positivbefund festgestellt werden.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass keine der angewandten Methoden eine Absenkung der Werte unter 0,25 EU/mL bewirkt. Leider lassen sich die einzelnen Behandlungserfolge mit diesem Testverfahren nicht genauer quantifizieren. Obwohl das Modellwasser nach der Behandlung mit Ozon bzw. einer Kombinationsbehandlung von Ozon und UV keinerlei Beanstandung in Bezug auf die mikrobiologischen Parameter nach der TVO aufwies, zeigen die Ergebnisse im Bereich der Endotoxine weiteren Forschungsbedarf auf.

Die Endotoxinkonzentration kann möglicherweise dadurch reduziert werden, dass direkt nach der Membranfiltration eine Rückverkeimung durch eine Desinfektionsmaßnahme schon frühzeitig unterdrückt wird (z.B. mit Ozon), so dass nur eine sehr geringe Keimkonzentration vorhanden ist, die bei der Zellyse zu unkritischen Endotoxinkonzentrationen führen kann. Möglicherweise passiert aber auch schon eine gewisse Menge an Endotoxinen die UO-Membran. Diese Fragestellung konnte aufgrund der zeitlichen Verzögerung bei der Probenlieferung und des gewählten Schnelltestverfahrens nicht ausreichend geklärt werden. Um diese Zusammenhänge genauer zu klären, müssten noch aufwändigere und präzisere Methoden eingesetzt werden, die eine quantitative Aussage zulassen. Eine Ozonbehandlung bzw. eine intensive kombinierte Ozon + UV-Behandlung reicht in keinem Fall für eine Unterschreitung des Grenzwertes von 0,25 EU, wie er für Wasser in der pharmazeutischen Industrie gilt. Darüber hinaus sollte auch geprüft werden, ob ein Grenzwert in der Trinkwasserverordnung für eine maximale Endotoxinkonzentration aufgenommen werden sollte.

### **4.3 Reinigung und Desinfektion von Realwasserproben**

In den folgenden Kapiteln werden die Reinigungsergebnisse des realen Wassers in den jeweiligen Membranstufen beschrieben. Anschließend werden die Ergebnisse dargestellt, die durch zusätzliche Desinfektionsmaßnahmen mit den Realwasserproben erzielt werden konnten. Die Resultate werden in weiteren Modellversuchen je nach Problemstellung wieder aufgegriffen und in die Festlegung der Modellparameter aufgenommen. Ziel dieser Versuche sind Optimierungen des gesamten Prozesses.

#### **4.3.1 Ergebnisse der chemischen Analysen der Realwasserproben**

Die Realwasserproben wurden aus den jeweiligen Membranstufen der Demonstrationsanlage auf dem Gelände des lebensmittelverarbeitenden Betriebes entnommen, anschließend bei 2-4 °C in sterilisierten Behältern gekühlt transportiert und innerhalb von 24 Stunden analysiert. Es wurden sowohl die hygienischen Belastungen als auch die chemischen Inhaltsstoffe ermittelt. Die untersuchten Proben wurden anschließend für die Desinfektionsversuche im 5 L-Semibatchreaktor bzw. im UV-Reaktor verwendet. Die detaillierten Ergebnisse der Untersuchung von drei UO/2-Proben (nach der 2. Umkehrosmostufe) befinden sich tabellarisch aufgelistet im Anhang (Anhang unter Punkt 2). Es konnte festgestellt werden, dass die Ultrafiltration in Kombination mit der Umkehrosmostufe die chemische Belastung soweit mindert, dass die Vorgaben der TVO bis auf erhöhte Ammoniumgehalte eingehalten werden können. Eine weitere deutliche Senkung der Ammoniumkonzentration im UO-Permeat kann durch eine optimierte Nitrifikation in der biologischen Aufbereitung erfolgen z.B. durch Erhöhung der Aktivität nitrifizierender Mikroorganismen, Verweilzeitverlängerung oder eine intensivere Belüftung. Auch ein geeigneteres Permeat zu Retentatverhältnis in der Umkehrosmostufe kann eine deutliche Senkung bewirken. Die Ergebnisse der Ammoniumuntersuchung zeigen, dass eine permanente Überwachung der Ammoniumkonzentration erforderlich ist.

#### **4.3.2 Verlauf der organischen Belastung nach der Membranfiltration**

Um die geforderten chemischen und hygienischen Parameter der TVO einzuhalten, werden nach der Hochleistungsbiologie mehrere Membranstufen hintereinandergeschaltet. Durch die Membranstufen werden große Mengen an organischen Substanzen, Mikroorganismen und Salze zurückgehalten. Abbildung 31, erstellt vom IUV Bremen, zeigt die organische Belastung und den prozentualen Rückhalt der Stufen anhand von CSB-Werten auf.

Der CSB-Wert ist ein Summenparameter und kennzeichnet die Menge an Sauerstoff, die nötig ist, um die organischen und anorganischen Verbindungen im Abwasser chemisch vollständig zu oxidieren. Der Chemische Sauerstoffbedarf dient insbesondere als Summenparameter zur Quantifizierung der Belastung von Abwasser mit organischen Stoffen. Er erfasst sowohl biologisch abbaubare als auch biologisch nicht abbaubare organische Stoffe, allerdings auch einige anorganische Stoffe.

---

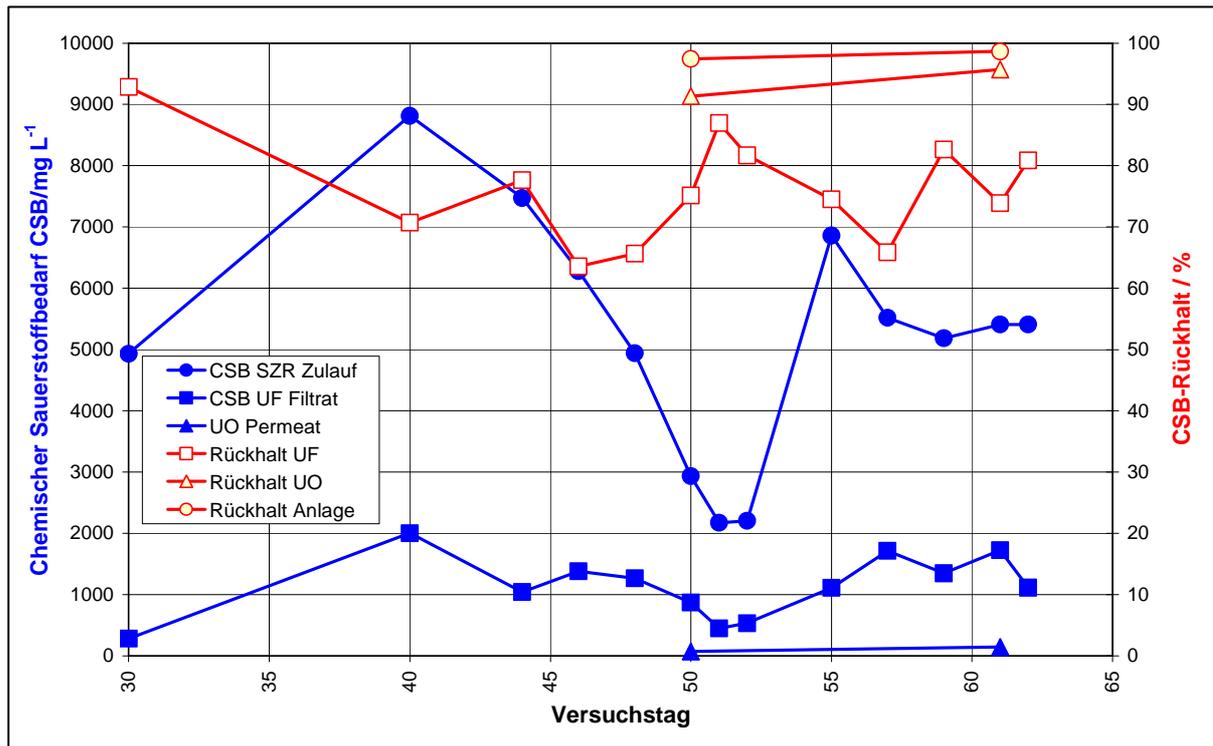


Abbildung 31: Totaler und prozentualer CSB-Rückhalt<sup>124</sup> in den jeweiligen Stufen

Im Zulauf des Strahlzonenreaktors sind sehr stark schwankende CSB-Werte zu erkennen, die durch Produktionsschwankungen bedingt sind. Die Konzentration gelöster organischer Komponenten nach der Ultrafiltration weist immer noch so hohe Werte auf, dass optimale Wachstumsbedingungen und ein hervorragendes Substratangebot für Mikroorganismen gegeben sind. Für UV- und Oxidationsverfahren ist eine verbleibende organische Matrix von besonderer Bedeutung. Zum einen können Absorptionseffekte durch die organische Matrix auftreten und zum anderen können organische Substanzen oxidativ wirkende Desinfektionsmittel in Konkurrenz zur eigentlichen Desinfektion aufzehren. Die Untersuchung der Keimbelastung in einigen UF-Filtraten zeigte darüber hinaus, dass keine ausreichende hygienische Sicherheit in den Proben gewährleistet ist. Die organische Matrix verursacht in dieser Größenordnung eine maximale Wachstumsgeschwindigkeit für die Keime. Da das Desinfektionskonzept aber auch darauf ausgelegt ist, dass zusätzlich mindestens eine UO-Filtrationsstufe eingeplant ist, sind die großen Mengen an Keimen an dieser Stelle auch nicht als kritisch zu beurteilen. Die Ultrafiltration dient vordringlich zum Rückhalt des Belebtschlammes des Bioreaktors und als Partikelfilter. Deutlich zu erkennen ist, dass erst die UO-Filtration eine ausreichende Abtrennung der organischen Matrix gewährleistet. Diese Ergebnisse zeigten sich auch in weiteren Analysen von UO-Proben. Die CSB-Werte sind in Tabellen im Anhang unter Punkt 2 aufgeführt. Sie zeigen, dass die CSB-Werte, bestimmt nach DIN 38409-H41 mit  $K_2Cr_2O_7$  als Oxidationsmittel, in allen untersuchten UO-Proben unter  $10,5 \text{ mgO}_2/\text{L}$  liegen. Die Trinkwasserverordnung schreibt für die Oxidierbarkeit nach der Kaliumpermanganatmethode einen Grenzwert von  $5 \text{ mgO}_2/\text{L}$  vor. Da Kaliumdichromat aufgrund seiner stärkeren Oxidationskraft deutlich mehr organische Substanzen als Kaliumpermanganat erfasst, sind geringfügige Überschreitungen der mit Kaliumdichromat bestimmten Proben tolerierbar.

### 4.3.3 Temperatur- und pH-Wert-Verläufe der Filtrate und Permeate

Die Temperatur der Wasserproben spielt bei der Wahl der Desinfektionsmethode eine gravierende Rolle. Ozon eignet sich nur bis zu einer Temperatur von etwa 40 °C, da die Löslichkeit des Ozons mit steigender Temperatur stark abnimmt. Im Gegensatz dazu nimmt mit steigender Temperatur die Reaktionsgeschwindigkeit zu. Trotz dieser gegenläufigen Tendenzen liegt die Grenze für eine Ozonanwendung bei ca. 40 °C.

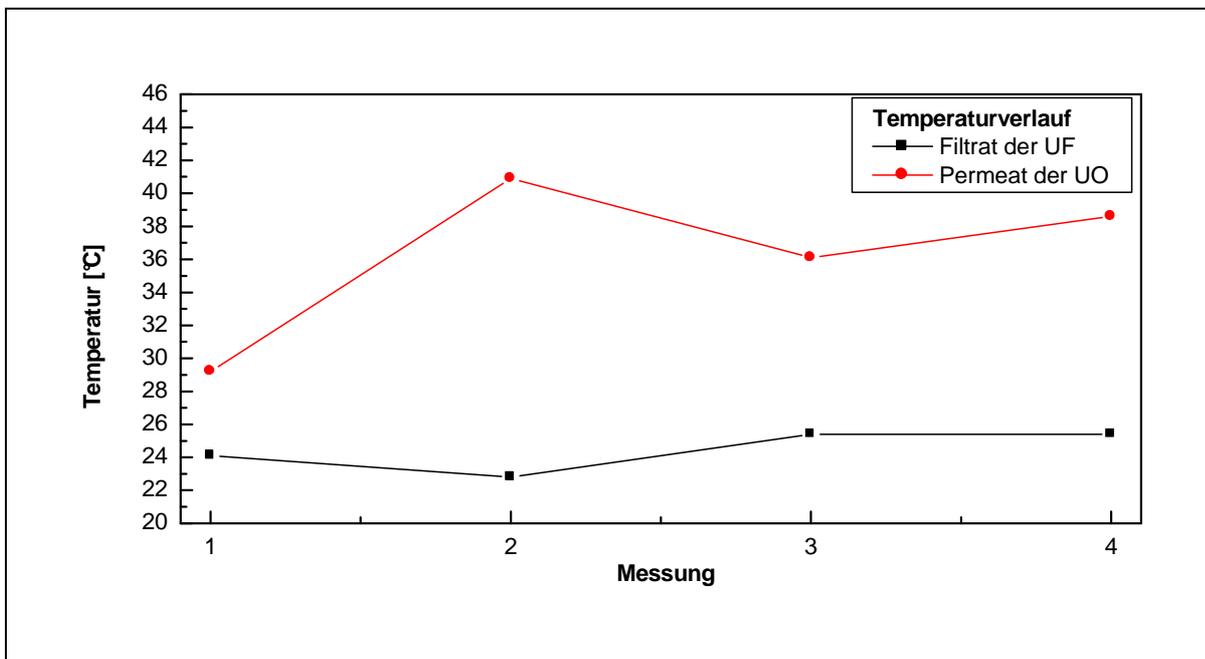


Abbildung 32: Temperaturverlauf der Filtrat- und Permeatproben der UF- und UO-Stufe

Abbildung 32 zeigt die Temperaturverläufe der UF-Filtrate und UO-Permeate von Proben, die in Abständen von 14 Tagen entnommen wurden. Während die Temperatur der UF-Filtrate zwischen 24-26 °C liegt, wurden durch die intensivere Behandlung der UO-Permeate teilweise bis zu 42 °C in den Proben erreicht. Untersuchungen mit Originalproben des UO-Permeates bestätigen, dass auch bei 35 °C eine vergleichbare Desinfektionswirkung mit adäquaten Ozonmengen erzielt werden kann. Allerdings liegen die Halbwertszeiten des gelösten Ozons deutlich unter den Werten bei 20 °C, somit ist eine schnellere Rückverkeimung durch die kürzere Depotwirkung zu erwarten.

In den untersuchten Proben lagen die pH-Werte von 6,7-8,7, daher ist eine pH-Wert-Einstellung nach TVO nicht erforderlich (pH-Wert 6,5-9,5). Auch für das Oxidationsverfahren mit Ozon sind in diesem Bereich keine erheblichen Veränderungen der Desinfektionsergebnisse zu erwarten.

### 4.3.4 Keimbelastung von Realproben aus der UF- und UO-Stufe

Um die Keimbelastungen in den einzelnen Barrierestufen zu erfassen, wurden die Filtratproben der Ultrafiltrationsbehandlung auf die Gesamtkeimzahl bei 22 °C und 36 °C, als auch auf

*E. coli* und Enterokokken untersucht. Die Untersuchungen wurden nach den Vorgaben der TVO durchgeführt.

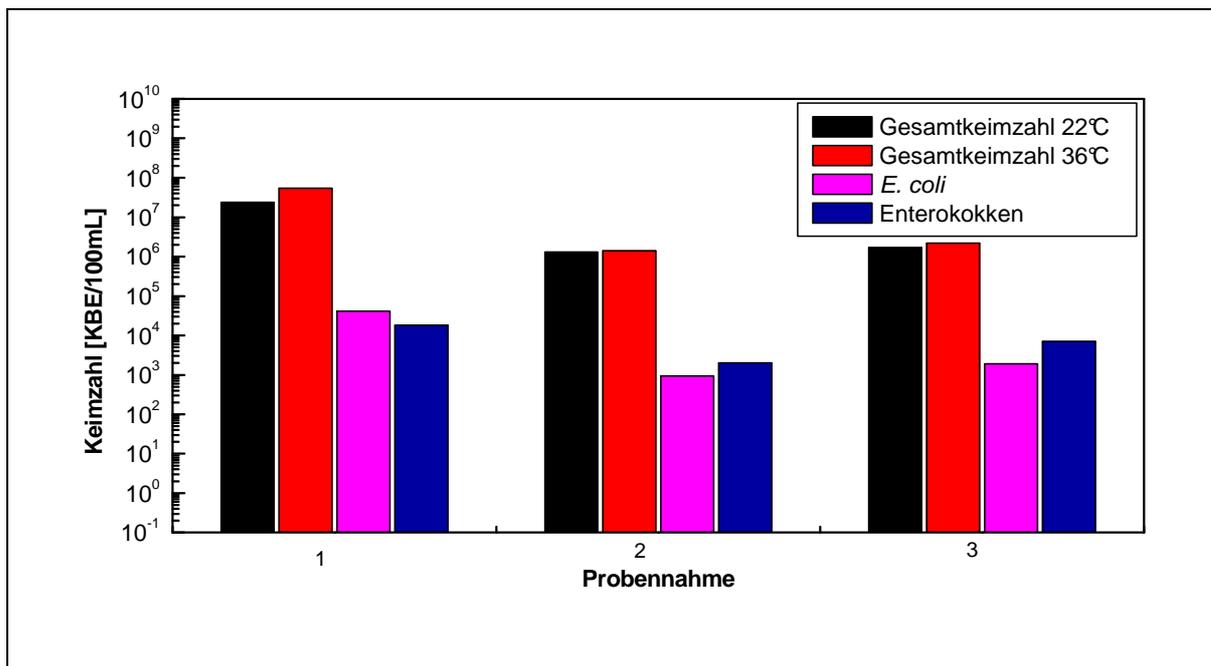


Abbildung 33: Keimbelastung der UF-Filtrate

In Abbildung 33 ist die Keimbelastung von drei unterschiedlichen UF-Filtraten dargestellt. Es zeigt sich, dass das UF-Filtrat nach der Filtration noch große Mengen an Keimen enthält. Die Gesamtkeimzahl bei 22 °C und bei 36 °C lag bei den gekühlten Proben zwar schon um ca. zwei Zehnerpotenzen (ca. 90-99 % Rückhalt) unter den Werten, die in der Hochleistungsbiologie an Keimzahlen zu finden sind, jedoch noch deutlich über den Werten, die nach der TVO erlaubt sind. Es konnte auch eine große Anzahl an *E. coli* und Enterokokken identifiziert werden. Die Anwesenheit einer großen Anzahl von *E. coli*-Keimen zeigt allerdings, dass es sich mit hoher Wahrscheinlichkeit nicht um Wiederverkeimungen handelt. Die *E. coli*-Keime als typische Darmbewohner bevorzugen Temperaturen im Bereich von 37 °C für ihre Vermehrung. Somit ist eine nachträgliche Vermehrung der Keime in den gekühlten Proben in großer Zahl auszuschließen. Es kann also davon ausgegangen werden, dass die *E. coli*-Keime die UF-Membran zum Teil passieren. Dieser Schluss lässt sich aus den Daten der Gesamtkeimzahlen so nicht eindeutig ableiten. Die Werte könnten auch durch Wiederverkeimung über mehr als 2-3 Zehnerpotenzen in der Abkühlungsphase und auch in den gekühlten Proben innerhalb von 24 Stunden nach der Probennahme entstanden sein. Die hohen Gehalte an Restorganik in den UF-Filtraten bieten ein so großes Substratangebot, dass eine Rückverkeimung selbst im gekühlten Zustand in größerem Umfang stattfinden kann. Die Filtrate der Ultrafiltrationsstufe sind also aufgrund ihres hygienischen Zustandes einer weiteren Behandlung durch eine Umkehrosiosebehandlung zu unterziehen. Die Ergebnisse der hygienischen Untersuchungen nach der Behandlung durch 2 Umkehrosiosestufen sind in Abbildung 34 dargestellt. Die Proben wurden auf die Gesamtkeimzahl bei 22 °C, 36 °C, *E. coli*-Keime, Enterokokken und zusätzlich auf *Clostridium perfringens* untersucht. Der zusätzliche hohe Aufwand für die Untersuchung von anaerob zu kultivierenden Keimen (*Clostridium perfringens*) war nur sinnvoll

für die Qualitätskontrolle des Endproduktes.

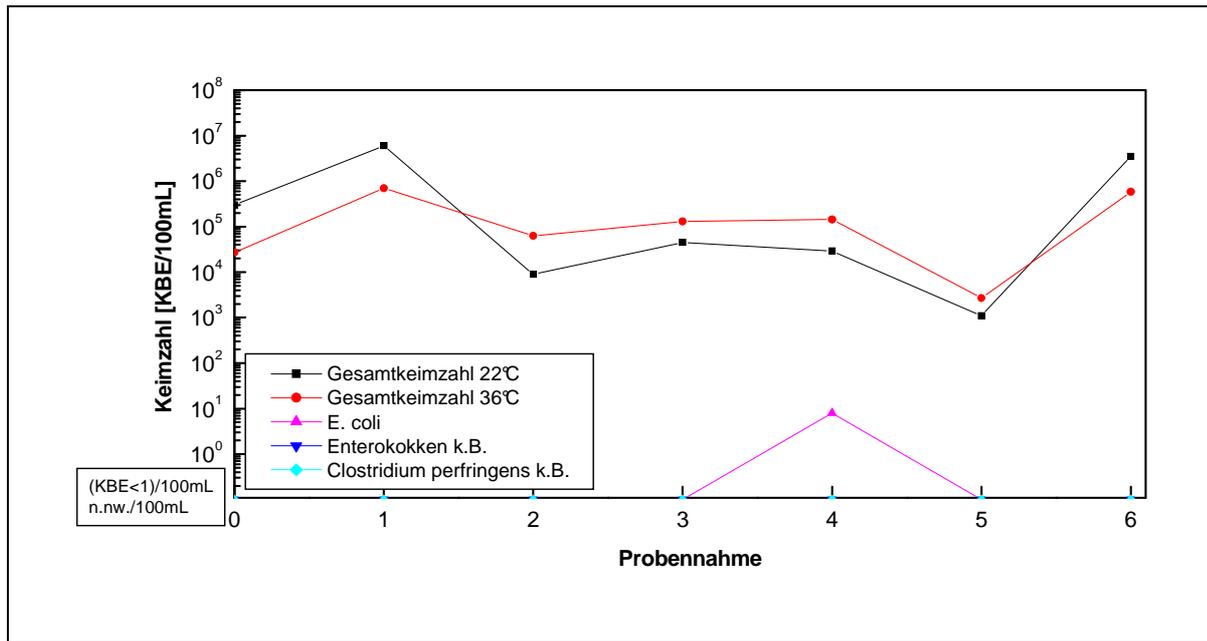


Abbildung 34: Keimbelastung der UO-Permeate

Die Probennahme erstreckte sich über mehrere Monate. Zwischen den einzelnen Probennahmen lagen jeweils mindestens 14 Tage. Die Gesamtkeimzahlen bei einer Temperatur von 22°C und 36°C schwankten zwischen  $1,1 \cdot 10^3$ - $6 \cdot 10^6$  KBE/100mL. Lediglich in einer Probe wurde eine geringfügige *E. coli*-Belastung gefunden. Enterokokken und *Clostridium perfringens* konnten in keiner Probe nachgewiesen werden. Da es sich um eine logarithmische Darstellung handelt und ein Wert von Null nicht darstellbar ist, wurde per Definition festgelegt, dass die untere Grenze der Skala folgende Bezeichnung entspricht: Nicht nachweisbar in 100 mL (n.nw./100 mL). Dieser Wert entspricht den Vorgaben der TVO.

Da lediglich in einer Probe eine geringfügige *E. coli*-Belastung gefunden wurde (8 *E. coli*/100 mL), kann nicht völlig ausgeschlossen werden, dass eine nachträgliche Kontamination durch die Probenbehandlung eingetreten ist. Dieser Befund würde wiederum darauf hinweisen, dass ein Teil der Keimbelastung nach der Umkehrosmostufe nicht durch Passieren der Membran entsteht. Die Keimbelastung der jeweiligen Proben kann zum Teil auf Rückverkeimungseffekte zurückgeführt werden. Obwohl die gekühlten Proben innerhalb der vorgegebenen 24 Stunden untersucht wurden, kann schon innerhalb dieser Zeit eine Veränderung der Proben stattgefunden haben.

In Tabelle 8 sind zusammenfassend die Ergebnisse der Untersuchung der Gesamtkeimzahl der UF- und UO-Proben bei einer Inkubationstemperatur von 22 °C und 36 °C dargestellt. Die Keimbelastung verringert sich nach der Behandlung in einer Umkehrosmostufe noch mal deutlich. Sowohl der hygienische Zustand als auch die Gesamtbelastung an organischen und anorganischen Störstoffen nimmt nach der UO-Behandlung sehr stark ab.

Tabelle 8: Bereich der Keimbelastung bei 22 und 36 °C nach den Membranstufen

	ULTRAFILTRATION	UMKEHROSMOSE
Gesamtkeimzahl (22 °C)	Ca. $10^5$ - $10^8$ KBE/100mL	Ca. $10^3$ - $10^6$ KBE/100mL
Gesamtkeimzahl (36 °C)	Ca. $10^5$ - $10^8$ KBE/100mL	Ca. $10^3$ - $10^6$ KBE/100mL

### 4.3.5 Untersuchung von Modellwasser mit einer Umkehrosmosstufe

Ziel dieser Untersuchung war die Überprüfung der Eintragungswege von Keimen in UO-Permeate. Dazu wurde ein Modellwasser mit *E. coli*-Keimen in hoher Konzentration ( $10^7$  KBE/100 mL) verwendet und mit einer Umkehrosmose-Laboranlage behandelt. Bei der Labor-Membranfiltrationsanlage handelte es sich um den Typ LONI, der Firma CSM (Kap. 3.5.3). Untersucht wurde die Durchlässigkeit der Membran in der Anlaufphase, der Einfluss unterschiedlicher Membrandrücke und die Geschwindigkeit der Rückverkeimung der Permeatproben.

Für das Modellwasser wurde 200 mL Nährlösung mit *E. coli*-Keimen angeimpft, 24 Stunden inkubiert und anschließend mit 100 L VE-Wasser vermischt. Der verwendete Modellkeim *E. coli* wurde in diesem Versuch ausgewählt, da er sich auf einem spezifischen Nährboden (Chromocult Coliform Agar von Merck) besonders gut wiederfinden lässt<sup>125</sup>. Selbst bei einer hohen Anzahl von unterschiedlichen Keimen, die normalerweise geringe Mengen an Restkeimen einer spezifischen Art überwuchern, zeigt der Chromocultnährboden durch eine deutliche Violettfärbung der Platte die Anwesenheit auch geringster Mengen an *E. coli*-Keimen an. Eine zusätzliche Möglichkeit der Identifizierung des eingesetzten Modellkeimes, ergibt sich aus der Vermessung der gefundenen Keime mit Hilfe der FT-IR-Spektroskopie. Dazu wurden die gefundenen violett gefärbten Kolonien auf einen weiteren Nährboden (DEV-Nährboden) überimpft, nach 24 Stunden mittels FT-IR vermessen und mit dem eingesetzten Modellkeim verglichen.

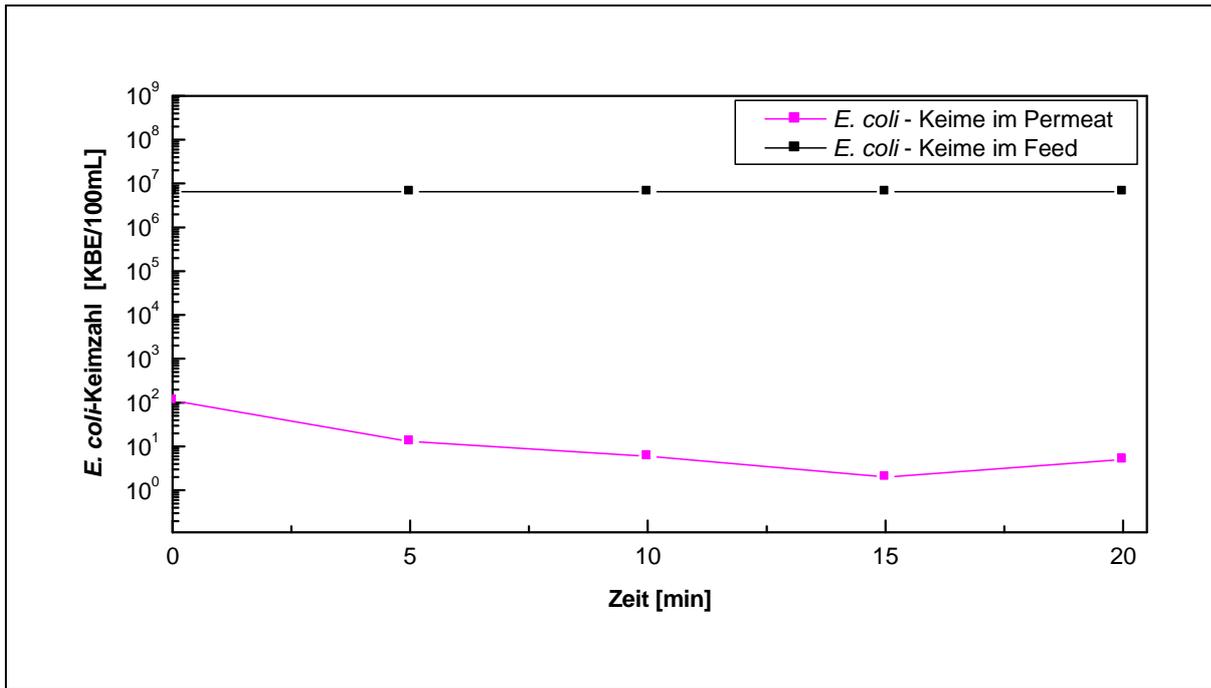


Abbildung 35: Verlauf der *E. coli*-Keimzahl während der Anlaufphase der Umkehrosmose bei 10 bar Transmembrandruck

Abbildung 35 zeigt den Verlauf der *E. coli*-Belastung im UO-Permeat während der Startphase der UO-Filtration. Als Transmembrandruck wurde bei diesem Versuch 10 bar gewählt. Zu Beginn der Umkehrosmosebehandlung wurde ein Wert von 112 KBE *E. coli* pro 100 mL festgestellt. Dieser Wert ist möglicherweise darauf zurückzuführen, dass in der Anfahrphase noch nicht ausreichend Druck auf den Dichtungen lastete, so dass minimale Keimmengen die Barriere überwinden konnten. Nach 10 Minuten kann der Betrieb der Anlage als stationär angesehen werden. Die geringe Belastung von 2-13 KBE *E. coli* pro 100 mL kann durch die Startbelastung und anschließender Adsorption und Desorption an Rohrwandungen nach der Membranpassage entstanden sein. Es ist aber auch möglich, dass die Membrandichtung weiterhin eine minimale Durchlässigkeit aufwies. Die Untersuchung mit der Modelllösung zeigte aber, dass *E. coli*-Keime in sehr hoher Feed-Konzentration sowohl im instationären als auch im stationären Zustand den Membranmodul nur in sehr geringen Mengen passieren konnten.

In einer weiteren Versuchsreihe wurde der Einfluss des Transmembrandruckes auf die Durchlässigkeit des Moduls getestet. Dafür wurden Transmembrandrücke von 10, 30 und 50 bar eingestellt.

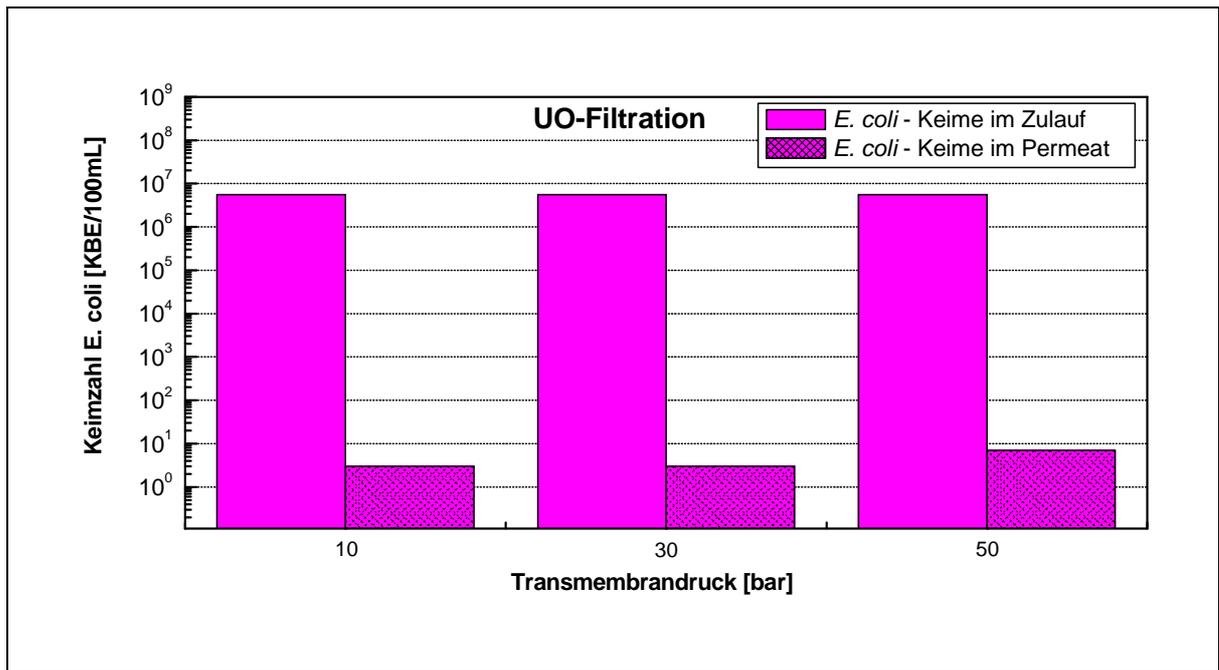


Abbildung 36: Verkeimung mit *E. coli* im Modellwasser vor und nach der UO-Filtration bei unterschiedlichen Transmembrandrücken

Abbildung 36 zeigt die Filtrationsleistung der Umkehrosmosemembran bei unterschiedlichen Transmembrandrücken. Die Belastungen der UO-Permeate mit *E. coli*-Keimen wiesen bei unterschiedlichem Membrandruck keine signifikanten Abweichungen auf. Bei den Versuchen mit höheren Transmembrandrücken konnte eine ähnlich große Anzahl an *E. coli*-Keimen wiedergefunden werden. Es ist unwahrscheinlich, dass diese noch aus der Anfahrphase stammten und für eine permanente gleich bleibende Kontamination des Permeates verantwortlich waren. Wahrscheinlicher ist, dass eine geringfügige Undichtigkeit an den Membranen oder Dichtungen zum Durchtritt einiger weniger *E. coli*-Keime geführt hat. Die Bestimmung der Gesamtkeimbelastung ergab Werte zwischen 1000-10000 KBE/100mL. Es handelte sich bei der Verkeimung aber nicht um die eingesetzten *E. coli*-Keime. Diese nicht näher identifizierten Keime stammten wahrscheinlich vom Bewuchs der Oberflächen mit einem Biofilm und einer anschließenden Wiederverkeimung zwischen der Probenahme und der Probenaufarbeitung. Ähnlich hohe Werte konnten zum Teil auch in den gekühlten UO-Permeatproben der Versuchsanlage auf dem Gelände eines lebensmittelverarbeitenden Betriebes gefunden werden. Das Rückverkeimungspotential in den filtrierte Proben ist aufgrund der noch verbleibenden geringfügigen organischen Matrix als existent einzustufen.

Um zu überprüfen, ob auch der Transmembrandruck einen Einfluss auf die Wiederverkeimungsgeschwindigkeit besitzt z.B. durch Veränderung der Zusammensetzung der organischen Matrix (Substratangebot), wurden unterschiedliche UO-Permeate hergestellt. Sehr hohe Drücke könnten dazu beitragen, dass kleinere Moleküle die Membran verstärkt passieren. Eine Veränderung des Nährstoffangebots könnte sich somit auf die Wachstumsgeschwindigkeit von Mikroorganismen auswirken. Gleichzeitig muss aber als Ziel eine hohe Raum-Zeit-Ausbeute beim Betrieb einer Umkehrosmoseanlage angestrebt werden, so dass hohe Transmembrandrücke und Volumenströme sinnvoll sind.

Um die Rückverkeimungsgeschwindigkeit der drei unterschiedlichen UO-Permeate (Transmembrandruck 10, 30, 50 bar) zu erfassen, wurden Versuche durchgeführt, die die Keimbelastung nach 0, 24, 48 und 120 Stunden zeigen. Dazu wurden die UO-Permeatproben in autoklavierten Glasgefäßen bei einer Temperatur von 22 °C inkubiert. Die Proben wurden dann auf die Gesamtkeimzahl bei 22 °C auf Hefeextraktnährböden untersucht, hierbei werden Keime erfasst, die sich typischerweise in Rohrleitungssystemen und anderen Transport- und Behältersystemen vermehren. Typische Darmbewohner (Fäkalkeime) können dagegen bei einer Temperatur von 36 °C erfasst werden.

Im Versuch 1 betrug der Transmembrandruck 10 bar bei einem Volumenstrom von 10,2 L/h, im Versuch 2 betrug der Transmembrandruck 30 bar bei einem Volumenstrom von 30,3 L/h und bei Versuch 3 betrug der Transmembrandruck 50 bar bei einem Volumenstrom von 51,2 L/h.

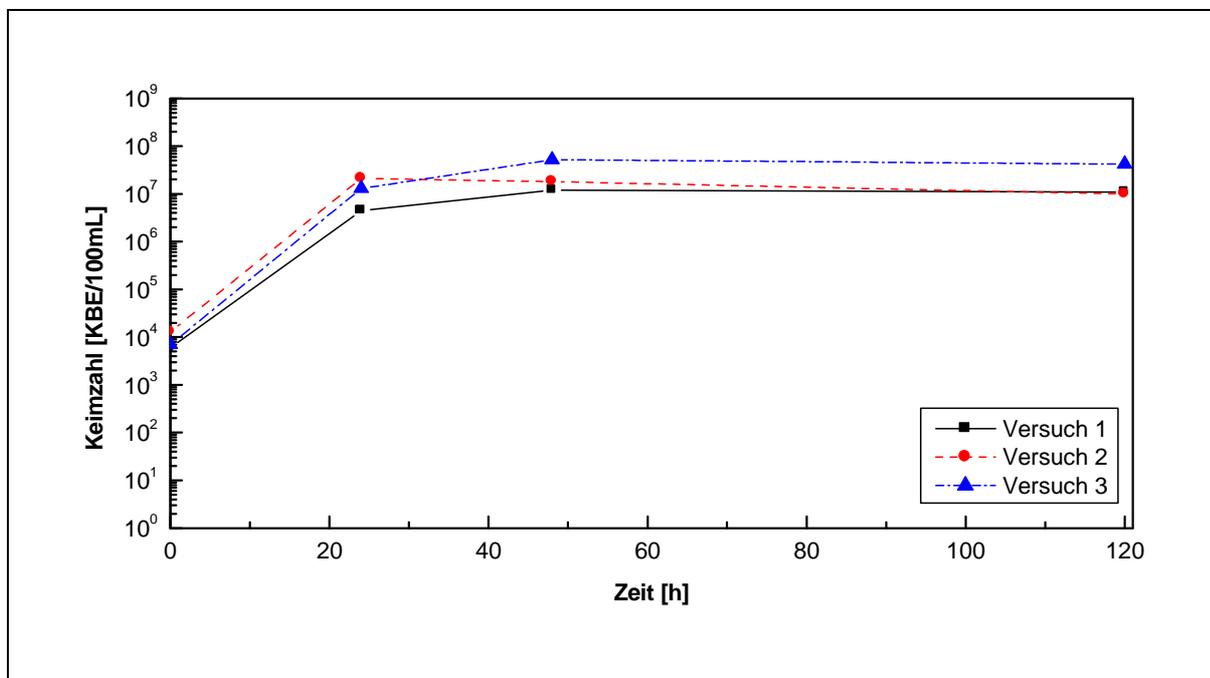


Abbildung 37: Rückverkeimung des Modellwassers bei einer Temperatur von 22°C und unterschiedlichen Transmembrandrücken

Abbildung 37 zeigt die Entwicklung der Gesamtkeimzahl in den UO-Filtratproben über einen Zeitraum von 120 Stunden. Die Variation des Transmembrandruckes von 10-50 bar führte zu keiner signifikanten Veränderung der Rückverkeimungsgeschwindigkeit bzw. der Gesamtkeimzahl. Es zeigte sich, dass alle drei Versuche zu einem ähnlichen Anstieg der Gesamtkeimzahl von ca.  $10^4$  KBE/100 mL als Startkonzentration bis  $10^6$ - $10^8$  KBE/100mL als Endkonzentration innerhalb von 120 Stunden führten. Diese Werte ähneln sehr stark den Werten, die in realen UO-Permeatproben gefunden wurden. Nach einer Standzeit von 120 Stunden bei 22 °C konnten auch bei realen Proben Gesamtkeimzahlen von ca.  $10^7$  KBE/100 mL festgestellt werden.

Die geringfügigen Abweichungen bei der Wiederverkeimung der drei UO-Permeate des Modellwassers sind durch unterschiedliche Faktoren zu erklären. Grundsätzlich sind auch bei

Mehrfachbestimmungen von biologischen Proben auf Nährböden geringfügige Abweichungen festzustellen, die bis zu einer halben Logarithmusstufe reichen können. Eine Beeinträchtigung der Wachstumsphase kann auch durch geringfügig variierende Starttemperaturen in den UO-Permeaten nach der Behandlung eintreten. Es ist auch denkbar, dass die Verteilung besonders vermehrungsfähiger Keime in den einzelnen Proben nicht völlig identisch war. Das obere Niveau (die Plateauphase) der Verkeimung stellte sich aber bei den drei untersuchten UO-Permeaten in einem ähnlichen Bereich von  $10^6$ - $10^8$  KBE/100mL ein.

Es besteht eine Abhängigkeit der Wachstumsrate der Keime von der vorliegenden Substratkonzentration und der Verwertbarkeit des Substrates (Monod-Kinetik), daraus ergibt sich eine Sättigungskurve. Im Allgemeinen wachsen Bakterien schon bei geringen Substratkonzentrationen mit sehr hoher Rate (z.B. 10 mg Glucose/L Nährlösung). Erst bei niedrigeren Substratkonzentrationen ergibt sich eine Abweichung der Wachstumsrate von ihrem maximalen Wert und sie wird in diesem Bereich substratabhängig<sup>126</sup>. Daraus ergibt sich die Forderung, eine möglichst geringe Substratmenge im UO-Permeat als Zielgröße zu definieren. In den realen UO-Permeaten konnte eine organische Restmatrix, erfasst als DOC-Wert, bis zu 4,4 mgC/L nachgewiesen werden, die eine hohe Wachstumsgeschwindigkeit von Keimen aufgrund eines signifikanten Substratangebotes ermöglichen kann. Dabei wird davon ausgegangen, dass die organische Matrix als Substrat für die Keime zumindest teilweise verfügbar war, da es sich um biologisch abbaubares Material in den Vorstufen handelte. Das erklärt die schnelle Rückverkeimungstendenz in den realen UO-Permeaten.

Es zeigte sich bei den Rückverkeimungsversuchen der drei UO-Permeate, dass keine signifikanten Unterschiede in der Wachstumsgeschwindigkeit auftraten. Daraus lässt sich der Rückschluss ziehen, dass in allen drei Proben noch ausreichend Substrat für eine hohe Rückverkeimungsrate vorhanden war und somit kein signifikanter Vorteil aus einem Betrieb mit geringerem Transmembrandruck abzuleiten ist. Unter ökonomischen Aspekten betrachtet kann dann eine möglichst hohe Raum-Zeit-Ausbeute beim Betrieb der UO-Anlage angestrebt werden. Eine hohe Raum-Zeit-Ausbeute ist bei hohen Flussraten bzw. hohen Transmembrandrücken erzielbar. Beschränkt wird die Raum-Zeit-Ausbeute lediglich durch den Aspekt, dass sehr hohe Drücke zwar die Volumenströme steigern, aber zu hohen Energiekosten führen. Außerdem ist bei der Materialwahl auf druckstabile Anlagenkomponenten zu achten. Zusätzlich wirkt sich ein hoher Fluss belastend auf die Membran aus. Üblicherweise werden UO-Filtrationen bei Drücken bis zu max. 100 bar durchgeführt. Mit der verwendeten Anlage konnten maximale Drücke bis ca. 60 bar erzielt werden. Daher ist ein Betrieb bei 50-60 bar in diesem Fall eine optimale Größe.

#### 4.4 Zusammensetzung des Modellwassers und Versuchsplanung

In Kapitel 4.3.2 wird die organische Restbelastung der UO-Permeate beschrieben. Für Desinfektionsverfahren besitzt der Anteil dieser zurückbleibenden organischen Matrix im Wasser für die erzielte Desinfektionsleistung einen relevanten Einfluss. In den folgenden Untersu-

chungen der Desinfektionsmethoden wird die Größe des Einflusses genauer untersucht. Dazu wurde ein Modellwasser angesetzt, dem unterschiedliche Mengen organischer Matrix und Keime zugefügt wurden.

In den UO-Permeaten, die bei der Behandlung der Realabwässer entstanden, konnten variable DOC- und CSB-Werte festgestellt werden. Die DOC-Werte variierten von etwa 1-5 mgC/L. Die CSB-Werte lagen in den meisten Fällen zwischen 0 und 10 mgO<sub>2</sub>/L nach der Kaliumdichromat-Methode (DIN 38409). Allerdings wurde in einer Probe auch ein CSB-Gehalt von 10,4 mgO<sub>2</sub>/L gemessen. Nach den Vorgaben der TVO ist ein Grenzwert für den CSB-Gehalt von 5 mgO<sub>2</sub>/L im Wasser vorgeschrieben. Dieser Wert bezieht sich auf eine Bestimmung mit Kaliumpermanganat. Die untersuchten Realwässer wurden mit Kaliumdichromat (DIN 38409) quantitativ bestimmt (siehe dazu auch Kap. 4.3.2). Diese Methode erfasst deutlich höhere Mengen schwer oxidierbarer organischer Verbindungen.

Um bei den Modellversuchen auch geringfügig höhere Werte zu erfassen, wurden daher auch Proben mit einem leicht über dem Grenzwert liegenden CSB-Wert untersucht. Die folgende Tabelle 9 zeigt die Zusammensetzung der untersuchten Modellwässer.

Tabelle 9: Zusammensetzung der untersuchten Modellwässer

Nährlösung/m <sup>3</sup>	200 mL N./m <sup>3</sup>	400 mL N./m <sup>3</sup>	600 mL N./m <sup>3</sup>	800 mL N./m <sup>3</sup>
DOC [mgC/L]	1,5	3	4,5	6
CSB [mgO <sub>2</sub> /L]	4,25	8,5	12,75	17

Für die Erstellung des Modellwassers wurden 200, 400, 600 bzw. 800 mL Standardnährbouillon mit ca. 1000 L VE-Wasser mindestens 60 Minuten vermischt und anschließend während der Entnahme aus dem 1000 L Vorrats- bzw. Dosierbehälter weiterhin durchmischt. Um möglichst aussagekräftige Daten zu produzieren, wurden die Nährlösungen mit Keimen angeimpft, die die größte Resistenz in Versuchen gegenüber dem Desinfektionsmittel aufwiesen. Auch die mikrobiologischen Untersuchungen nach der TVO enthalten ein Spektrum von Gram negativen Keimen bis hin zum Sporenbildner *Clostridium perfringens*. In Voruntersuchungen mit zwei unterschiedlichen Modellkeimen, nämlich *E. coli* als Gram negativer Keim und *Bacillus atrophaeus* als Gram positiver Keim, wies der Keim *Bacillus atrophaeus* die größere Resistenz gegenüber Desinfektionsbehandlungen auf.

Für die Desinfektionsversuche mit dem sehr resistenten Modellkeim *Bacillus atrophaeus*, der zu starker EPS-Bildung, Keimagglomeration und Sporenbildung neigt, kann idealisiert eine Optimierung der Desinfektion von stark verkeimten Wasserproben mit einer organischen Matrixbelastung, die den UO-Permeaten entsprach, aufzeigen. Die Zusammensetzung der realen Biozönose ist nur in einem kleinen Ausschnitt durch die Untersuchung der mikrobiologischen TVO-Parameter bekannt. Durch die Wahl dieses Modellkeims sollten aber viele weit weniger resistente Keime schon innerhalb der gewählten Dosismengen mit desinfiziert werden, so dass bei den realen Wässern schon geringere Dosen den gleichen Behandlungserfolg zeigen sollten. Als obere und untere Grenze der organischen Belastung wurde die tatsächliche Belastung der

UO-Permeate knapp über bzw. unterschritten. Häufig steigt auch die Keimbelastung bei Anwesenheit höherer Substratmengen, dies wurde durch eine steigende Keimkonzentration der Modellwässer umgesetzt. Somit beschreibt dieses Modell die Realität möglichst nah. Darüber hinaus wurde die Dosis bei der jeweiligen Desinfektionsmethode variiert. Dieser klassische Versuchsplan soll innerhalb realistischer Grenzen ein möglichst genaues Bild der Desinfektionsleistung aufzeigen. Daher wurden mehrere Messreihen und nicht nur die Eckpunkte der relevanten Parameter erfasst. Aufgrund des erforderlichen großen Volumens der Modelllösung und der aufwändigen Modellwassererstellung wurden die Daten jeweils unter Veränderung der Dosis innerhalb einer Versuchsreihe erfasst.

## 4.5 UV-Desinfektion

In diesem Kapitel wird die Anwendbarkeit einer UV-Desinfektion für die realen Wasserproben und Modellwässer untersucht. Von Bedeutung ist dabei der Transmissionsgrad der Wasserproben in einem bestimmten Wellenlängenbereich als auch die Erfassung von Störstoffen in den Proben. Anschließend wird die Desinfektionswirkung der UV-Behandlung mit Realproben (UF- Filtrate und UO-Permeate) und Modellwässern bei unterschiedlichen Betriebsweisen der Anlage überprüft.

### 4.5.1 Ermittlung des Transmissionsgrades

Im ersten Schritt wurden die Wasserproben dahingehend geprüft, ob sie für eine UV-Desinfektionsbehandlung geeignet sind. Dazu wurde der Transmissionsgrad bei unterschiedlichen Wellenlängen vermessen. Voraussetzung für eine effektive Mikroorganismeninaktivierung ist, dass das UV-Licht bis zum vorgesehenen Ziel, nämlich dem Zellkern des Mikroorganismus, eindringt. Daraus folgen wichtige Anforderungen an die Beschaffenheit des Wassers. Organische und anorganische Bestandteile können den Desinfektionsprozess stören. Besonders ungünstig wirken sich Schwebstoffe auf die Desinfektion aus, da sie häufig Mikroorganismen einschließen. Je nach Beschaffenheit des Schwebstoffes kann dadurch ein Schutzmechanismus gegen UV-Licht oder oxidative Prozesse entstehen (Abschattung). Allgemein kann durch die Behandlung eines Abwasserstroms in einer Umkehrosmoseanlage aber ausgeschlossen werden, dass Schwebstoffe im Permeat enthalten sind. Es sei denn, dass sich gebildete Biofilme von den Wandungen lösen oder Undichtigkeiten der Membran existieren. Weiterhin ist für eine erfolgreiche Behandlung mit einer UV-Desinfektionsanlage die Transmission bei 254 nm entscheidend. Richtwert zur Wasserqualität für die UV-Desinfektion ist eine Transmission von mindestens 70 %/cm.

Um den sinnvollen Einsatz einer UV-Desinfektion in diesem Fall zu untersuchen, wurden zwei reale UO-Permeatproben und eine reale UF-Filtratprobe im Wellenlängenbereich von 200-500 nm mit einem UV-Spektrometer der Fa. Perkin Elmer (Modell: Lambda 15 UV-VIS Spektrophotometer) vermessen. Die beiden UO-Permeat-Proben wiesen im sichtbaren Licht keinerlei Verfärbungen oder Trübung auf, während die UF-Probe eine leicht bräunliche Ver-

färbung aufwies. Augenscheinlich sind daher die UO-Permeat-Proben für den Gebrauch als Trinkwasser geeignet und die UF-Filtratprobe nicht. Allerdings lässt sich daraus noch keinerlei Aussage über die UV-Transmission ableiten.

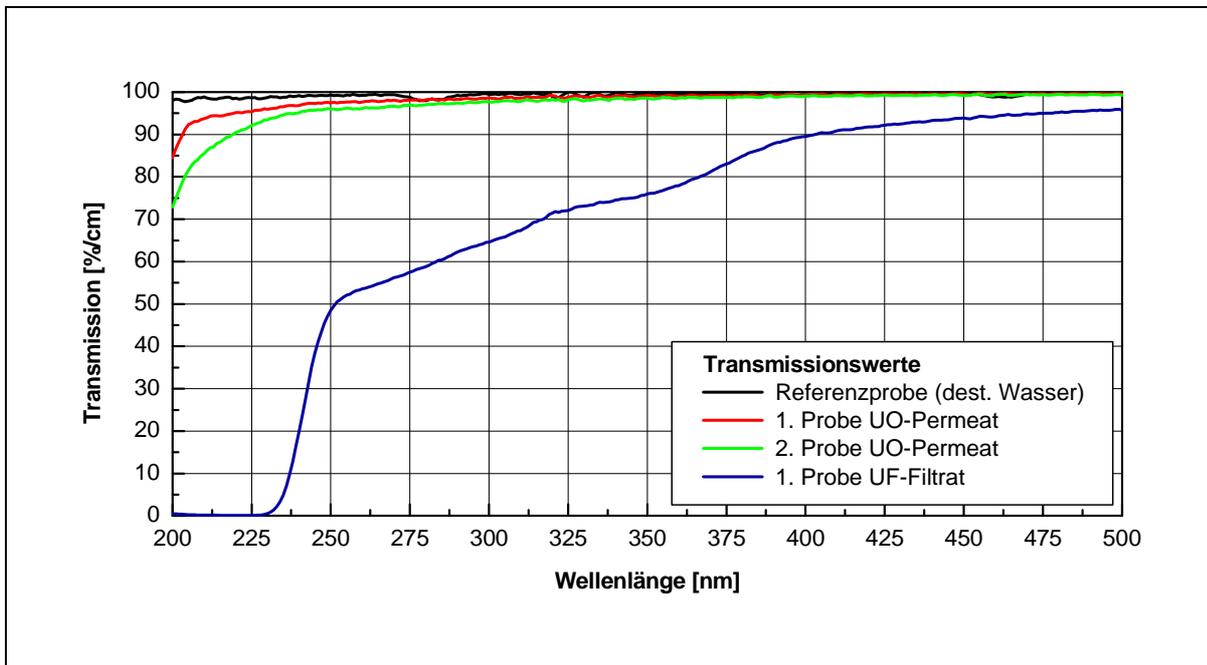


Abbildung 38: Transmissionswerte vs. Wellenlänge unterschiedlicher Proben

Abbildung 38 zeigt, dass die Transmission über einen weiten UV-Spektralbereich bei den UO-Permeatproben deutlich über 90 % liegen. Im relevanten Bereich von 254 nm konnte sogar ein Wert von über 95 % Transmission gemessen werden. Bei der UF-Filtratprobe konnte allerdings in diesem Bereich eine deutliche Schwächung der Transmission festgestellt werden. Bei der Ultrafiltrationsprobe ist ein deutlicher Absorptionseffekt erkennbar, der die Transmission der Probe mit UV-Licht über den gesamten Wellenlängenbereich erheblich abschwächt.

Für einen denkbaren Einsatz des UF-Filtrats für Reinigungszwecke in Bereichen mit geringen Ansprüchen an die Wasserqualität bei gleichzeitiger Einhaltung der hygienischen Parameter muss durch apparative Maßnahmen gewährleistet sein, dass eine ausreichende Durchdringung der Probe mit UV-Licht stattfindet. Auch bei Störfällen ist eine mikrobielle Kontamination des gesamten Rohrleitungssystems zu vermeiden. Bei der Auswahl einer Desinfektionsanlage sollte also darauf geachtet werden, dass eine geringe Filmdicke ( $FD < 1$  cm) gewährleistet wird, um auch bei geringen Transmissionsgraden ausreichende Sicherheit vorzuhalten.

Insgesamt bestätigen die erhaltenen Daten, dass sich eine UV-Desinfektionsmaßnahme für die UO-Permeatproben als eine mögliche Option zur Behandlung des Wassers anbietet. Darüber hinaus könnte eine Online-UV-Messung bei einer oder mehreren definierten Wellenlängen eine Möglichkeit darstellen, den Zustand des Wassers permanent in Echtzeit (z.B. im Permeatstrom der Umkehrosmoseanlage) zu überwachen. Bei Unterschreitung eines definierten Transmissionswertes besteht dann die Möglichkeit, auf Störfälle aufmerksam zu werden und den Prozess zu stoppen, oder die Desinfektionsmaßnahme zu intensivieren.

Grundsätzlich sollte in einer UV-Bestrahlungsanlage das zu behandelnde Medium in mög-

lichst geringem Abstand an einer oder mehreren UV-Lampen entlang geführt werden. Zur Behandlung von Wasser werden unterschiedlichste Bauformen verwendet<sup>98</sup>. Zum einen können geschlossene, zylinderförmige Röhrensysteme angewendet werden, bei denen in axialer Richtung der UV-Strahler umströmt wird (häufigste Bauform). In entsprechend großen Desinfektionsanlagen werden auch Strahler in einer senkrechten Ausrichtung zur Strömungsrichtung angeordnet. Es werden aber auch offene Gerinnesysteme verwendet, bei denen UV-Strahler oberhalb der Gerinne liegen. Gegen diese offenen Systeme im Bereich von Recyclingwasser spricht die Möglichkeit der Rückverkeimung durch Luftkeime, daher sollte in diesem Fall ein geschlossenes System mit geringer bestrahlter Filmdicke des Mediums bevorzugt werden, um auch Proben mit geringer Transmission ausreichend sicher zu behandeln.

#### 4.5.2 Eisen- und Mangangehalt

In der Literatur<sup>127</sup> wird eine weitere starke Beeinträchtigung der Wirksamkeit des UV-Behandlungsverfahrens durch das Vorhandensein vor allem von Eisen-(III)-hydroxid und Mangan-(IV)-dioxid beschrieben. Über einen längeren Zeitraum können in einer UV-Anlage durch diese Wasserinhaltsstoffe Ablagerungen auf den umspülten Wandungen des Tauchrohres entstehen und somit eine Beeinträchtigung der Bestrahlung verursachen. Der Grenzwert für Eisen beträgt 0,2 mg/L und der für Mangan 0,05 mg/L. Um diese beiden Einflussfaktoren zu untersuchen, wurden bei der Analyse der UO-Permeatproben auch die Gehalte an Eisen und Mangansalzen ermittelt. In Tabelle 10 sind die Parameter Eisen und Mangan von zwei UO-Permeatproben aufgeführt, die mit einem zeitlichen Abstand von 3 Monaten dem Permeatstrom entnommen wurden.

*Tabelle 10: Ergebnisse der chemischen Analyse von 2 UO-Permeat-Proben.*

Parameter/Probe	1. UO-Permeatprobe	2. UO-Permeatprobe
Eisen-Ionen	0,01 mg/L	0,03 mg/L
Mangan-Ionen	<0,001 mg/L	<0,001 mg/L

Die Konzentrationen sowohl an Eisen als auch an Mangan stellen kein Problem bei der UV-Behandlung dar. Beide Metallionen sollten nach einer UO-Behandlung auch nicht mehr in hoher Konzentration im Permeat enthalten sein. Das Permeat der UO-Stufe kann also unter diesem Aspekt als geeignet für eine UV-Behandlung eingestuft werden.

#### 4.5.3 Desinfektion von Realwasserproben im UV-Reaktor

##### 4.5.3.1 Ermittlung der Durchsatzvolumina und der Bestrahlungsdosen

Die UV-Desinfektionsanlage wurde mit Volumenströmen von 25-200 L/h betrieben. Geringere Ströme verursachen eine ausgeprägte Bypassströmung direkt vom Einlass zum Auslass (also kein gleichmäßiger spiralförmiger Fluss um den UV-Strahler), so dass eine breite Streu-

ung um die mittlere Verweilzeit im Reaktor verursacht wird. Ein höherer Volumenstrom konnte aufgrund der apparativen Voraussetzungen nicht umgesetzt werden. Zum einen waren die verwendeten Pumpen nicht für eine viel höhere Leistung ausgelegt (max. 230 L/h) und zum anderen könnten durch die Einstellung eines deutlich höheren Volumenstroms innerhalb des UV-Reaktors Drücke entstehen, denen die Dichtungen um den Tauchrohreinsatz der UV-Lampe nicht mehr standhalten. Es bestand die Gefahr, dass bei sehr hohem Druck der Tauchrohreinsatz aus der Halterung gedrückt wird. Um in der Apparatur trotzdem geringere Strahlungsdosen zu realisieren, mussten die Bestrahlungsflächen verringert werden. Durch Verwendung von Alupapier konnte eine Abdeckung der Strahlerfläche realisiert werden.

#### 4.5.3.2 UV-Reaktor ohne Rückfluss

Es wurde eine Realwasserprobe (UO-Permeat) einer Behandlung im UV-Reaktor unterzogen. Ziel war es, Daten zu ermitteln, die eine Aussage über die erforderliche Bestrahlungsdosis für Realwasserproben zulassen. Dazu wurde die Probe aus einem 5 L-Vorratsbehälter durch den UV-Reaktor gepumpt und die Keimzahl nach der UV-Behandlung bestimmt. Die eingestellten Volumenströme betragen 200 L/h, 100 L/h und 50 L/h. Das entspricht einer UV-Dosis von 216 mJ/cm<sup>2</sup>, 432 mJ/cm<sup>2</sup> und 864 mJ/cm<sup>2</sup>.

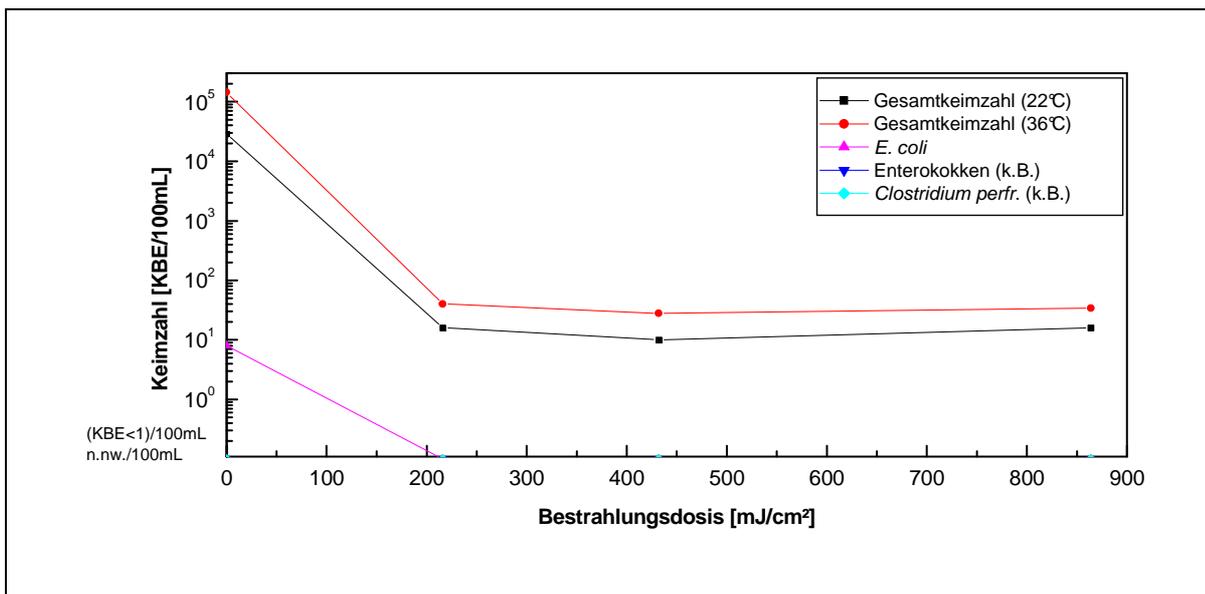


Abbildung 39: Keimbelastung einer UO-Permeatprobe nach einer UV-Behandlung mit unterschiedlichen Bestrahlungsdosen

In der Abbildung 39 ist die Keimzahl in Abhängigkeit der Bestrahlungsdosis dargestellt. Bei diesem Versuch wurde die Gesamtkeimzahl bei einer Temperatur von 22 °C und 36 °C sowie die Anzahl an vermehrungsfähigen *E. coli*-Keimen, Enterokokken und *Clostridium perfringens* bestimmt. Es zeigte sich, dass trotz Erhöhung der Bestrahlungsdosis von 216 mJ/cm<sup>2</sup> auf einen Wert von 864 mJ/cm<sup>2</sup> immer eine annähernd gleichbleibende Restmenge an Keimen in den Proben zu finden war. Die ursprünglich in der Probe vorhandenen acht *E. coli*-Keime/100mL (Membranfiltration) konnten nach der UV-Bestrahlung schon bei 216 mJ/cm<sup>2</sup> nicht mehr nachgewiesen werden. Auch bei höheren Strahlungsdosen konnten keine *E. coli*-

Keime mehr gefunden werden.

Die Restmengen an anderen nicht genauer identifizierten Keimen, bestimmt durch die Gesamtkeimzahl bei 22 °C und 36 °C, beliefen sich auf Werte von ca. 50-100 Keimen pro 100 mL. Auch bei Versuchen mit weiteren Proben, die eine leicht veränderte Startkonzentration an Keimen aufwiesen, konnten ähnliche Daten ermittelt werden.

Als Ursache für die Restkonzentration an Keimen kommt eine unvollständige Desinfektion in Frage, bei der resistenter Keime oder Keimagglomerate nicht erfasst wurden. Ein geringfügiger Keimeintrag kann auch direkt nach der UV-Behandlung in der Leitung erfolgen. Dieser Nachteil entsteht durch die nicht vorhandene Depotwirkung der UV-Bestrahlung. Zusätzlich besteht die Möglichkeit, dass die Keimzahlen durch eine Wiederverkeimung der Proben von der Probennahme bis zur Aufarbeitung trotz Kühlung wieder angestiegen sind, zumal eine Adaptionphase der überlebenden Keime im behandelten Wasser nicht zwingend notwendig ist. Bei gezielter Animpfung einer Nährlösung liegen normalerweise immer drei Wachstumsphasen vor. Zu Beginn kann eine so genannte „Lag-Phase“ beobachtet werden<sup>99</sup>. In dieser Phase müssen sich die Mikroorganismen an das Substratangebot adaptieren. Dabei findet nur ein geringes Wachstum an Keimen statt. Haben sich die Mikroorganismen an das Substratangebot adaptiert, findet anschließend ein exponentielles Wachstum statt, die so genannte „Log-Phase“. Je nach Generationszeit der vorhandenen Keime, dem Substratangebot, Temperatur etc. findet dann ein entsprechend steiler exponentieller Anstieg der Population statt. Erst bei einer gewissen Populationsdichte, bei der nicht mehr ausreichend Substratangebot vorhanden ist oder Stoffwechselprodukte eine weitere Vermehrung der Keime hemmen, verbleibt die Keimanzahl auf einem so genannten „Plateauwert“. Der Unterschied der hier untersuchten Proben zu diesem bekannten Mechanismus ist, dass die nach der UV-Bestrahlung im Wasser überlebenden und vermehrungsfähigen Keime an das Substratangebot schon angepasst sind. Eine schnelle Wiederverkeimung gibt also einen Hinweis auf eine kurze Adaptionphase mit schnellem Übergang in die exponentielle Wachstumsphase (Log-Phase).

Ein pH-Wert zwischen 6-8,5, Temperaturen zwischen 25 °C – 40 °C und DOC-Gehalte bis zu 4,5 mgC/L (mit hoher Substratverfügbarkeit der organischen Matrix) zeigen, dass sehr gute Bedingungen für ein schnelles, exponentielles Wachstum von Mikroorganismen vorherrschen.

Bei einer angenommenen Generationszeit der Keime von 20 Minuten kann durch die jeweilige Verdopplung der Keimzahlen pro Generationszeit schon nach einer Stunde aus einer Population von 10 Keimen/100 mL eine Population von 80 Keimen/100 mL entstanden sein. Trotz schnellstmöglicher Aufarbeitung der Proben und Abkühlung auf eine Temperatur von 3-4 °C ergeben sich dadurch gerade im Bereich dieser geringen Keimzahlen deutliche Streueffekte.

Es können auch Bypassströmungen bei geringen Strömungsgeschwindigkeiten im UV-Reaktor für verkürzte Verweilzeiten verantwortlich sein und eine zu geringe Strahlungsdosis bewirken, so dass Keime trotz Passage durch den UV-Reaktor vermehrungsfähig bleiben. Auch Reparatureffekte der Mikroorganismen-DNA sind als Ursache denkbar, um die weiterhin bestehende Vermehrungsfähigkeit einer geringen Menge Keime zu erklären.

### 4.5.3.3 UV-Reaktor mit Rückfluss

Um zu untersuchen, ob ein permanenter Betrieb der UV-Anlage als Außenschlaufenreaktor mit Rückfluss in den 5L-Vorratsbehälter insgesamt zu geringeren Keimzahlen führt, wurde eine 5 L-UO-Permeatprobe mit einer UV-Dosis von 2160 mJ/cm<sup>2</sup>, 4320 mJ/cm<sup>2</sup> und 8640 mJ/cm<sup>2</sup> behandelt. Der Volumenstrom im UV-Außenschlaufenreaktor betrug 200 L/h. Nach dem Durchlaufen der Außenschlaufe (jeweilige Bestrahlungsdosis 216 mJ/cm<sup>2</sup>) vermischte sich dieser bestrahlte Anteil wieder mit der Menge im Vorratsbehälter.

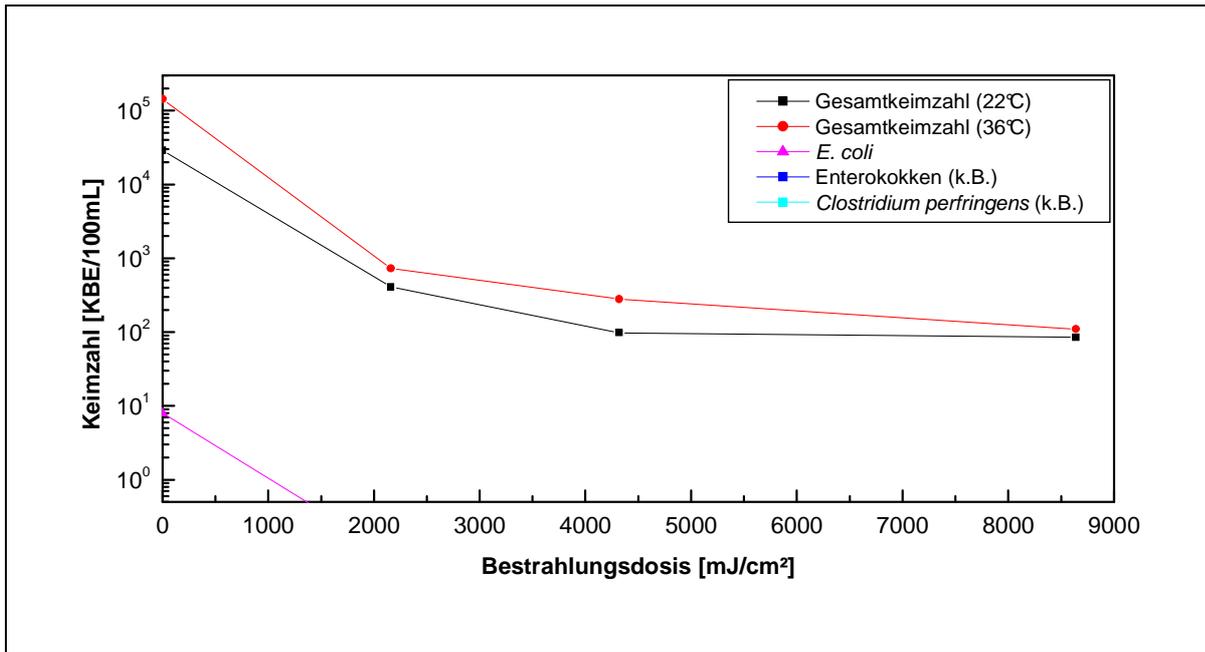


Abbildung 40: Keimbelastung einer UO-Permeatprobe nach einer intensiven UV-Behandlung mit unterschiedlichen Bestrahlungsdosen im Außenschlaufenbetrieb

Abbildung 40 zeigt die Keimbelastung einer UO-Permeatprobe nach einer intensiven UV-Behandlung mit unterschiedlichen Bestrahlungsdosen im Außenschlaufenbetrieb. Es wurde die Gesamtkeimzahl bei 22 °C und 36 °C sowie die Anzahl an *E. coli*-Keimen, Enterokokken und *Clostridium perfringens* bestimmt. Die beiden letztgenannten konnten allerdings in keiner Probe nachgewiesen werden. Es zeigte sich, dass mit zunehmender Zeit die Keimpopulation im Vorratsbehälter stark abnahm. Durch die Rückvermischung in dem Vorratsbehälter war aber ein deutlich höherer Behandlungsaufwand erforderlich, bis eine Unterschreitung der TVO Grenzen erzielt werden konnte. Die Ergebnisse zeigen, dass eine permanente UV-Behandlung mit Rückfluss in den Vorratsbehälter unter ökonomischen Aspekten nicht sinnvoll ist.

Zusätzlich wurde das schon intensiv mit UV-Strahlung behandelte Wasser im Vorratsbehälter (Dosis: 2160 mJ/cm<sup>2</sup>, 4320 mJ/cm<sup>2</sup> und 8640 mJ/cm<sup>2</sup> mit Rückvermischung) noch einmal in der UV-Anlage (Außenschlaufe) ohne anschließende Rückvermischung in dem Vorratsbehälter behandelt und jeweils eine Probe direkt aus der Rückflussleitung zum Vorratsbehälter untersucht. Es sollte geprüft werden, ob bei reduzierter Startkonzentration vermehrungsfähiger Keime im Vorratsbehälter eine weitgehende Absenkung vermehrungsfähiger Keime direkt

nach der UV-Bestrahlung (ohne Rückvermischung) erzielbar ist. Bei dem eingesetzten Volumenstrom von 200 L/h wird dann eine zusätzliche Bestrahlungsdosis von 216 mJ/cm<sup>2</sup> angewendet.

*Tabelle 11: Keimbelastung einer UO-Permeatprobe nach einer intensiven UV-Behandlung mit unterschiedlichen UV-Dosen ohne Rückvermischung mit dem Vorratsbehälter.*

Dosis [mJ/cm <sup>2</sup> ]	2160 + 216	4320 + 216	8640 + 216
Gesamtkeimzahl 22°C	26	32	17
Gesamtkeimzahl 36°C	29	12	24

Tabelle 11 zeigt die Keimbelastung einer UO-Permeatprobe nach einer intensiven UV-Behandlung mit unterschiedlichen Bestrahlungsdosen im Außenschlaufenbetrieb ohne Rückfluss/Rückvermischung mit dem Vorratsbehälter. Es zeigte sich in den Versuchen, dass in allen drei Proben sowohl bei der Untersuchung auf die Gesamtkeimzahl bei 22 °C und 36 °C weiterhin zwischen 12-32 Keime aufzufinden waren, ohne dabei eine klare Tendenz erkennen zu können. Diese Restmenge an Keimen reicht aber aus, um eine schnelle Rückverkeimung zu verursachen. *E. coli*, Enterokokken und *Clostridium perfringens* konnten in diesen Proben nicht nachgewiesen werden.

Trotz des deutlich erhöhten Behandlungsaufwandes und der damit verbundenen geringeren Startkonzentration an vermehrungsfähigen Keimen konnte kein wesentlicher Vorteil bei den Desinfektionsergebnissen direkt an der Entnahmestelle nach dem UV-Reaktor erzielt werden. Die geringfügige zusätzliche Absenkung der Keimzahlen gegenüber einer einmaligen Durchströmung des UV-Reaktors mit einer Dosis von 216 mJ/cm<sup>2</sup> (siehe Abbildung 39) ist angesichts von schnellen Rückverkeimungstendenzen der Proben als nicht so relevant einzustufen, als dass der zusätzliche Aufwand mit deutlich höheren Dosen zu rechtfertigen wäre.

#### 4.5.4 Störfallsimulation - Desinfektion von UF-Proben

Um die Leistungsfähigkeit der UV-Desinfektion weitgehend zu eruieren, wurde ein Desinfektionsversuch mit einer UF-Filtratprobe durchgeführt. Die eingestellten Volumenströme betragen 200 L/h, 100 L/h und 50 L/h. Das entspricht einer UV-Dosis von 216 mJ/cm<sup>2</sup>, 432 mJ/cm<sup>2</sup> und 864 mJ/cm<sup>2</sup>. Bei diesem Versuch wurde die Gesamtkeimzahl bei einer Temperatur von 22 °C und 36 °C sowie die Anzahl an vermehrungsfähigen *E. coli*-Keimen bestimmt. In Abbildung 41 ist die Keimzahl in Abhängigkeit der Bestrahlungsdosis dargestellt.

Als besondere Herausforderung für die UV-Desinfektion war dabei der erhöhte DOC-Wert (370 mgC/L) der Probe zu betrachten, der eine Schwächung der Transmissionswerte verursacht. Bei dieser Untersuchung handelt es sich um eine Störfallsimulation, da schon die erhöhten DOC-Werte die Verwendung als Trinkwasser ausschließen. Es ist in dem vorgesehenen Recyclingprozess aber auch eine undichte oder beschädigte UO-Membran denkbar, die zu einer starken Kontamination der nachfolgenden Anlagenteile führen kann, so dass diese Daten für eine angemessene Vorgehensweise nach einem Störfall herangezogen werden können.

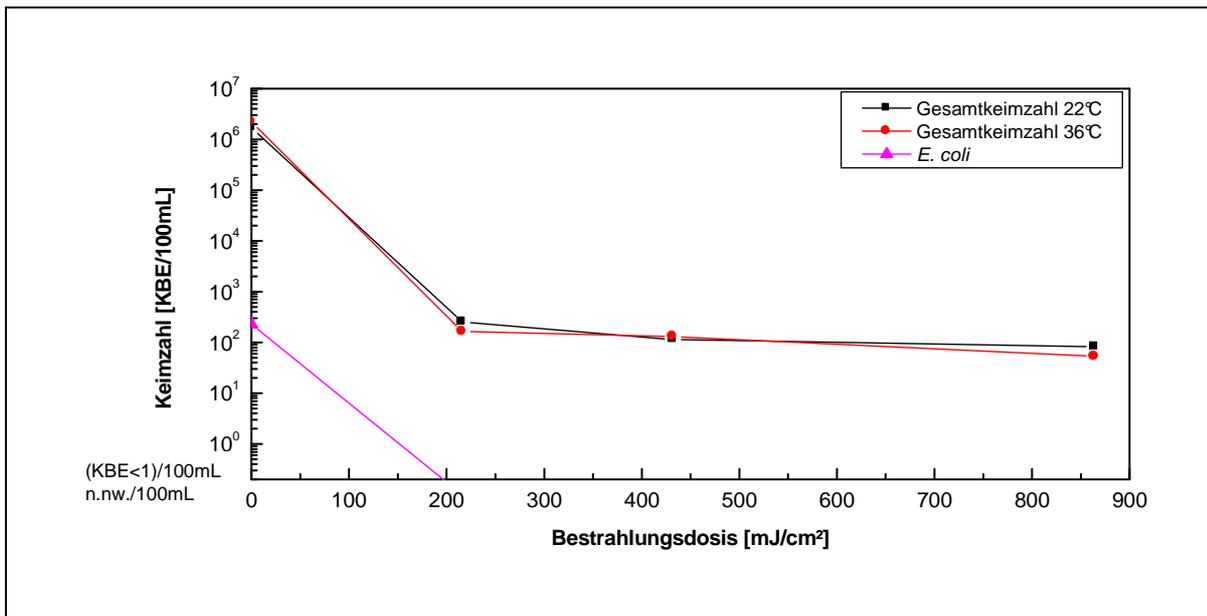


Abbildung 41: Verlauf der Keimzahl in einer Ultrafiltrations-Filtratprobe nach einer UV-Behandlung mit unterschiedlichen Bestrahlungsdosen

Abbildung 41 zeigt, dass trotz der hohen DOC-Werte und der damit verbundenen geringeren Transmission als auch der hohen Startkonzentration an Keimen bei diesen Parametereinstellungen der UV-Anlage eine erfolgreiche Desinfektion der Probe möglich ist. Die Probe wies bei den Gesamtkeimzahlen Werte von  $10^6$ - $10^7$  KBE/100mL auf und es wurden 230 vermehrungsfähige *E. coli*-Keime im Filtrat der Ultrafiltration gefunden. Der DOC-Wert betrug 370 mgC/L. Die Verdopplung bzw. Vervierfachung der Strahlungsdosis zeigt allerdings nur einen geringen zusätzlichen Nutzen. Insgesamt reichen die Ergebnisse fast an die Desinfektionserfolge der UO-Permeate heran. Da der DOC-Wert (und damit wahrscheinlich auch das Substratangebot) hier um ca. das Hundertfache höher ist als in den UO-Permeaten, muss mit einer schnelleren und höheren Rückverkeimung gerechnet werden. Eine UV-Entkeimung kann also bei Undichtigkeit einer UO-Membran zumindest eine weitgehende Primärdesinfektion gewährleisten, so dass bei einem solchen Störfall nicht massenhaft vermehrungsfähige Keime in nachgeschaltete Anlagenteile eindringen. Aufgrund des hohen DOC-Wertes ist das Wasser aber auf keinen Fall für den Trinkwassergebrauch geeignet und müsste bei einer Leckage der UO-Membran abgeleitet werden. Leckagen verursachen höhere Salzgehalte in den UO-Permeaten, die mit erhöhter Leitfähigkeit einhergehen. Die Überwachung der UO-Permeate kann deshalb sehr schnell und sicher z.B. durch eine permanente Leitfähigkeitsmessung im Regelkreis erfolgen, die bei Bedarf, die Anlage abschaltet. Geringfügige Kontaminationen können sicher desinfiziert werden.

#### 4.5.5 UV-Desinfektionsbehandlung unterschiedlicher Keime

Für die Untersuchung der erforderlichen UV-Bestrahlungsdosen und der Optimierung des Desinfektionsverfahrens wurden Modellwässer verwendet. Um eine Abschätzung vornehmen zu können, welche UV-Dosen für die Inaktivierung der Modellkeime *E. coli* und *Bacillus*

*atrophaeus* erforderlich sind und welcher Keim sich am besten für weitere Untersuchungen eignet, wurde jeweils ein Versuch mit den beiden Modellkeimen durchgeführt. Um entsprechend geringe UV-Dosen mit der hier verwendeten Apparatur zu erzielen, mussten apparative Veränderungen vorgenommen werden. Weil der Volumenstrom nicht beliebig erhöht werden konnte, musste die Bestrahlungsdosis durch Verkleinerung der Bestrahlungsfläche mit Hilfe von Alupapier erzielt werden. Bei 1/10 der Bestrahlungsfläche wurde der Volumenstrom auf 200 L/h, 150 L/h, 100 L/h und 50 L/h eingestellt, das entspricht einer Bestrahlungsdosis von 21.6 mJ/cm<sup>2</sup>, 28.8 mJ/cm<sup>2</sup>, 43.2 mJ/cm<sup>2</sup>, 86.4 mJ/cm<sup>2</sup>. Diese Maßnahme war nur bei diesen beiden Versuchen erforderlich, da es sich bei den weiteren Versuchen um eine Optimierung der Behandlung von resistenten Restkeimen handelte. Dafür sollte dann aber eine höhere UV-Dosis eingesetzt werden. Bei voller Bestrahlungsfläche wurde in dieser Versuchreihe bei Werten von 200 L/h und 100 L/h gemessen, das entspricht einer Bestrahlungsdosis von 216 mJ/cm<sup>2</sup> und 432 mJ/cm<sup>2</sup>. Die organische Matrix wurde in Form des DOC-Wertes erfasst. Es wurde bei beiden Versuchsreihen ein DOC-Wert von ca. 3 mgC/L angewendet. Die Startkonzentration an Keimen lag bei diesen Versuchen bei  $6,5 \cdot 10^6$  und  $9,2 \cdot 10^6$  Keimen/100mL (Startkonzentration *Bacillus atrophaeus* und Startkonzentration *E. coli*).

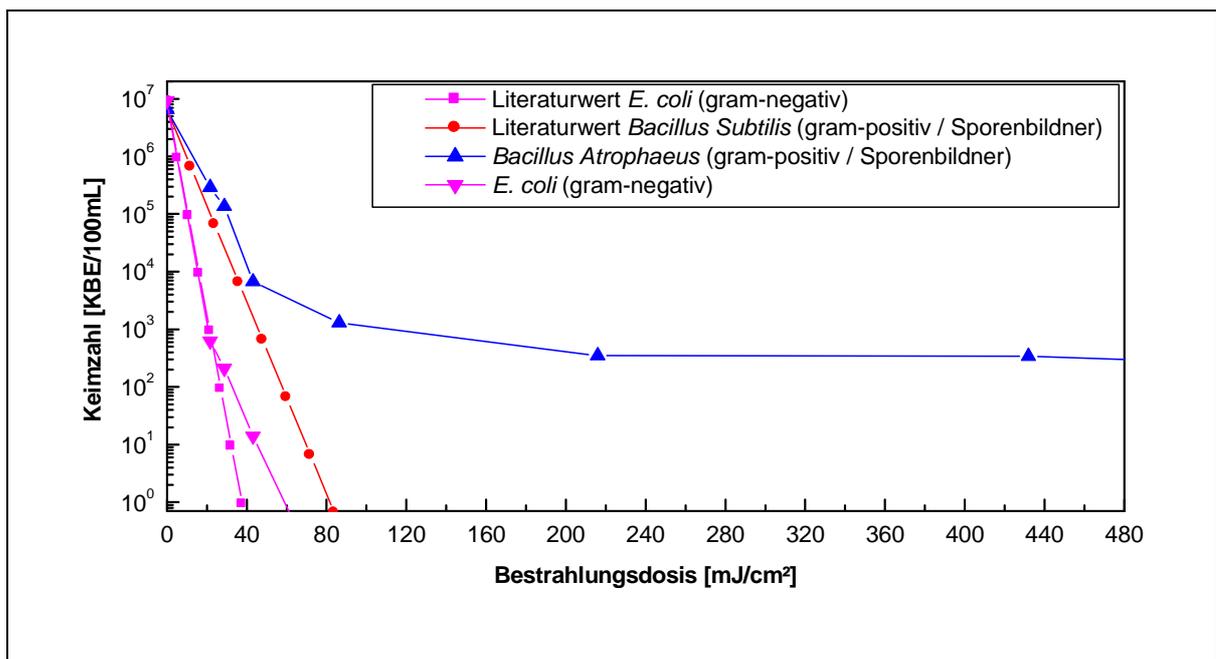


Abbildung 42: Keimzahlverlauf von unterschiedlichen Keimen in Abhängigkeit der UV-Dosis

Abbildung 42 zeigt den Keimzahlverlauf von unterschiedlichen Keimen in Abhängigkeit der UV-Dosis. Für die zwei Keimarten *E. coli* und *Bacillus subtilis* sind die theoretisch aus Gl. 9, Kap. 3.5.1.3 ermittelten exponentiellen Abnahmen dargestellt. Für die Berechnung der theoretischen Werte wurden als Startkonzentration die jeweils praktisch gefundenen Werte zugrunde gelegt. Diese theoretischen Daten dienen lediglich der Veranschaulichung der Problematik. Daraus lässt sich mit Hilfe der spezifischen Konstante für die beiden Keime eine logarithmische Abnahme der Keimzahl ermitteln. Die hier angewendete spezifische Konstante K entspricht derjenigen aus der Berechnung der Inaktivierungskinetik in Gl. 9, Kap. 3.5.1.3. Die K-Werte für die Keime *E. coli* ( $K = 5,4 \text{ mJ/cm}^2$ ) und *Bacillus subtilis* ( $K = 12 \text{ mJ/cm}^2$ ) sind ver-

öffentlichem Daten der Fa. Lenntech entnommen<sup>128</sup>. Wird diese theoretisch berechnete Inaktivierungsgerade verglichen mit den praktisch erhaltenen Daten, so lässt sich für den Keim *Bacillus atrophaeus* zu Beginn der logarithmischen Abnahme ein ähnlicher Zusammenhang (ähnlich großer K-Wert) erkennen. Allerdings weichen die Daten ab einer Dosis von 86,4 mJ/cm<sup>2</sup> (3-4 Logarithmusstufen bzw. nach 99,9-99,99 % Abtötung) vom theoretischen Verlauf einer logarithmischen Abnahme deutlich ab. Ein Erklärungsansatz für dieses Resistenzverhalten im Bereich geringer Keimzahlen ist die Konsistenz der gebildeten organischen Matrix. *Bacillus atrophaeus*-Keime bilden eine EPS-Schicht aus, die deutlich auf angeimpften Nährlösungen nach etwa 24 h Wachstumsphase zu beobachten ist. Diese führt zu größeren geschützten Agglomeraten, in denen sich Keime und EPS befinden. Trotz der Rühr- und Pumpbewegungen können diese Agglomerate nicht vollständig aufgelöst werden. Möglicherweise bietet sich dadurch bei der Bestrahlung der Proben eine größere Resistenz in diesen Zellverbänden gegenüber dem UV-Licht aus. Diese Eigenschaft ähnelt dem Verhalten von agglomerierten Zellverbänden nach deren Herauslösen aus Biofilmen. Solche Biofilme und herausgelöste Zellagglomerate bilden eine hohe Resistenz gegenüber Desinfektionsmaßnahmen aus, weil ein Durchdringen der äußeren Schichten selbst mit oxidativen Verfahren nur sehr schwer möglich ist (siehe dazu Kap. 2.4.2). Daher bietet sich gerade dieser Keim besonders gut für eine Untersuchung an, die eine Optimierung der Keimreduktion im Bereich der resistenten Restkeime zum Ziel hat.

Ein anderes Verhalten konnte bei den angeimpften *E. coli*-Modellkeimen beobachtet werden. Auch für diese Messungen wurde nur 1/10 der Bestrahlungsfläche genutzt, so dass bei einem Volumenstrom von 200 L/h der kleinste UV-Dosiswert bei 21,6 mJ/cm<sup>2</sup> lag. Bei diesem Wert konnten nur noch 630 Modellkeime *E. coli* nachgewiesen werden. Schon bei einem Volumenstrom von 50 L/h konnte aber kein *E. coli*-Modellkeim mehr pro 100 mL (Membranfiltration) nachgewiesen werden. Bei noch höheren Dosen bestätigte sich dieses Ergebnis. Eine weitere Verkleinerung der Bestrahlungsfläche zur Erfassung von Daten im Bereich des exponentiellen Abfalls der Keimzahlen erschien nicht mehr sinnvoll. Ansatzweise lässt sich auch mit diesen Daten eine exponentielle Abnahme der Keimzahlen nachvollziehen. Für eine Untersuchung, die eine Optimierung des Desinfektionsverfahrens zum Ziel hat, eignet sich der *E. coli*-Keim aufgrund seiner Empfindlichkeit nicht besonders gut. Aus diesem Grund wurde die Untersuchung und die Darstellung der Ergebnisse nur für den Keim *Bacillus atrophaeus* durchgeführt.

#### 4.5.6 UV-Desinfektionsbehandlung von *Bacillus atrophaeus*-Keimen

Mit Hilfe der Daten, die aus den Versuchen mit den zwei unterschiedlichen Modellkeimen gewonnen werden konnten, wurden mit dem resistenten Keim *Bacillus atrophaeus* noch weitere umfangreiche Untersuchungen geplant und durchgeführt. Ziel dieser Versuche war es, den Einfluss unterschiedlicher Startkonzentrationen an Keimen bei gleichzeitiger Erhöhung der DOC-Konzentration zu testen. Bedingt durch den Eintrag von Keimlösung in das VE-Wasser wurden DOC-Werte von 1.5 mgC/L, 3 mgC/L, 4.5 mgC/L und 6 mgC/L erreicht, dementsprechend erreichte die Keimkonzentration im zweiten, dritten und vierten Ansatz je-

weils das doppelte, dreifache und vierfache Niveau.

Das Hauptaugenmerk bei dieser Untersuchung galt der Absterbekinetik nach der exponentiellen Abnahme der vermehrungsfähigen Keime, also dem linearen Bereich, der durch den Tailing-Effekt beschrieben wird. Die jeweiligen UV-Dosen wurden durch die Variation der Verweilzeiten im UV-Reaktor erzielt. Gemessen wurde bei allen Versuchsreihen mit einer UV-Dosis von 216 mJ/cm<sup>2</sup>, 432 mJ/cm<sup>2</sup>, 648 mJ/cm<sup>2</sup> und 864 mJ/cm<sup>2</sup>. Diese Werte entsprechen einem Volumenstrom von 200 L/h, 100 L/h, 66,67 L/h und 50 L/h des Modellwassers im UV-Durchflussreaktor.

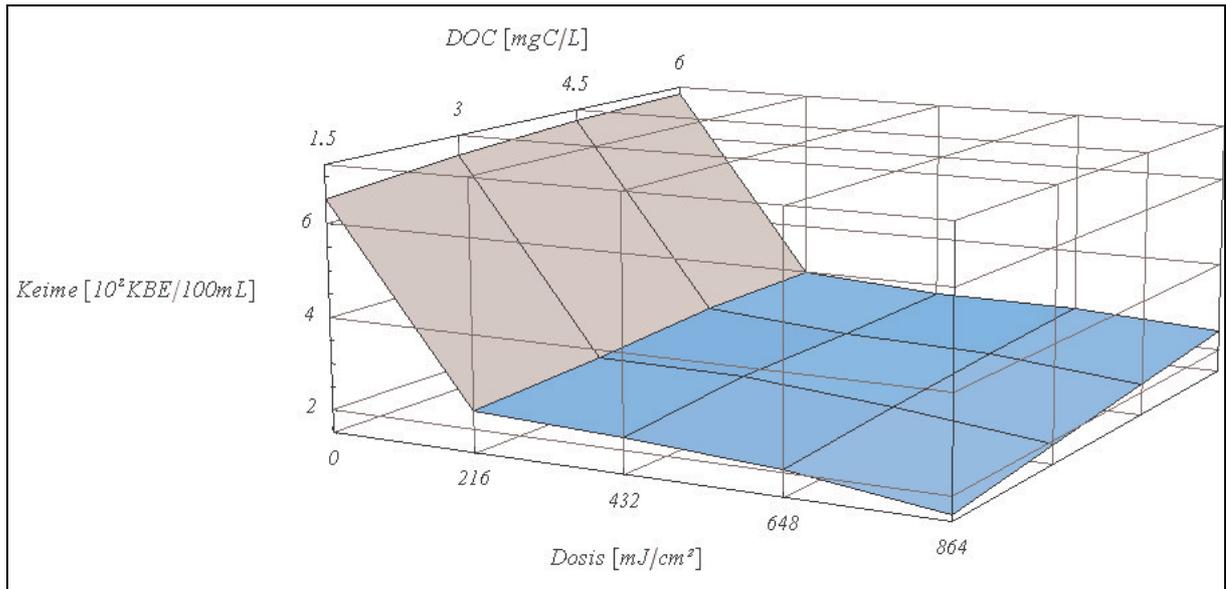


Abbildung 43: Keimzahlverlauf nach einer UV-Bestrahlung in Abhängigkeit der UV-Dosis und des DOC-Gehaltes

Abbildung 43 zeigt den Keimzahlverlauf (Z-Achse:  $10^7$  KBE/100mL) während einer UV-Bestrahlung in Abhängigkeit der UV-Dosis und des DOC-Gehaltes. Oberhalb eines Dosiswertes von 216 mJ/cm<sup>2</sup> findet keine exponentielle Abnahme der Keimzahl mehr statt. Aus den Ergebnissen, die in Abbildung 42 dargestellt sind, geht hervor, dass unter experimentellen Bedingungen beim Keim *Bacillus atrophaeus* der Übergang von der exponentiellen in einen linearen Abnahmebereich zwischen 100-200 mJ/cm<sup>2</sup> zu finden ist. Bei Dosen oberhalb von 216 mJ/cm<sup>2</sup> wurde bei allen DOC-Werten nur noch ein linearer Abfall der Keimzahlen beobachtet. Es lässt sich in der Abbildung 43 gut erkennen, dass trotz Vervielfachung der zugegebenen Keimlösung auf die doppelte, dreifache und vierfache Menge und der damit auch erhöhten DOC-Konzentration nur ein geringer Unterschied in der Desinfektionsleistung auftritt. Es konnten Keimzahlen zwischen 43-710 KBE/100mL gemessen werden. Der höchste Keimzahlwert nach der Behandlung stellte sich bei der höchsten DOC-Menge (6 mgC/L) und der niedrigsten UV-Dosis (216 mJ/cm<sup>2</sup>) ein. Die niedrigste Keimbelastung war beim geringsten DOC-Wert und der höchsten UV-Bestrahlungsdosis zu finden. Dieser Wert lag bei 43 KBE/100mL. Durch die logarithmische Darstellung der Ergebnisse lassen sich die Tendenzen deutlich aufzeigen, wenn auch innerhalb der jeweiligen Versuchsreihen (gleiche DOC-Werte und steigende UV-Dosis) keine streng lineare Abnahme festzustellen ist. Je geringer die Start-

konzentration und damit auch der DOC-Wert und je höher die Bestrahlungsdosis ist, umso niedriger werden die Konzentrationen an vermehrungsfähigen Keimen. Insgesamt erstrecken sich die Differenzen zwischen den einzelnen Ergebnissen der Keimzahlwerte aber nur über etwas mehr als eine Zehnerpotenz. Diese Restkeimkonzentration wies im Gegensatz zu der großen Mehrheit an Keimen eine besondere Resistenz auf. Die Abweichung von der anfänglich exponentiellen Abnahme der vermehrungsfähigen Keime (bis ca. 100-200 mJ/cm<sup>2</sup>) kann mit unterschiedlichen Phänomenen erklärt werden:

1. Die Bildung von frei beweglichen Agglomeraten verhindert eine komplette Durchstrahlung aller Keime und Sporen auch im Inneren dieser Zellansammlungen.
2. Resistente Keime überleben auch deutlich höhere UV-Dosen als 200 mJ/cm<sup>2</sup>.
3. Biofilme in den Leitungen und Totzonen nach der Bestrahlungsbehandlung können als Verursacher geringer Keimkontamination fungieren.

#### **4.5.7 Zusammenfassung der Ergebnisse**

In den vorangehenden Versuchsreihen wurde die Wirkung einer UV-Desinfektion auf das Permeat einer Umkehrosmoseanlage, auf das Filtrat einer Ultrafiltrationsanlage sowie auf Modellwässer untersucht. Es zeigte sich, dass der Transmissionsgrad der UO-Permeate (über 90 %) für eine UV-Behandlung auf jeden Fall ausreichend ist, während das untersuchte UF-Filtrat höhere Absorptionsgrade aufwies. Es konnten in den UO-Permeaten keine Störstoffe detektiert werden, die den längerfristigen Betrieb einer UV-Desinfektionsanlage behindern. Darüber hinaus konnte gezeigt werden, dass die UV-Desinfektion eine Möglichkeit darstellt, eine erfolgreiche Primärdesinfektion selbst bei hohen DOC-Werten und hoher Startkonzentration an Keimen, wie sie bei UF-Filtraten zu finden sind, gewährleisten kann. Eine permanente UV-Behandlung mit Rückfluss und Vermischung im Vorratsbehälter ist ökonomisch nicht sinnvoll.

Versuche mit Modellwasser zeigten, dass eine deutliche Erhöhung der Bestrahlungsdosis auf eine geringe Restmenge vermehrungsfähiger *Bacillus atrophaeus*-Keime zwar noch eine Keimzahlreduzierung bewirkt, dass aber keine exponentielle Abnahme mehr erfolgt. Eine Erhöhung der Bestrahlungsdosis über einen Wert von etwa 200 mJ/cm<sup>2</sup> stellte sich als ökonomisch nicht mehr sinnvoll heraus. Innerhalb der hier verwendeten DOC- und Keimkonzentrationen konnte eine erfolgreiche Desinfektion aber keine komplette Sterilisation durchgeführt werden. Die Keim- und DOC-Werte des Modellwassers entsprachen den Belastungen, die in den UO-Permeaten gefunden wurden, allerdings ist der Modellkeim etwas resistenter.

### **4.6 Desinfektion durch oxidative Verfahren**

Ziel der weiteren Untersuchungen ist die Erfassung von Daten, die einen sicheren Betrieb einer diskontinuierlich bzw. kontinuierlich betriebenen Ozondesinfektionsanlage gewährleisten.

---

Dazu sind für den kontinuierlichen Betrieb im Detail folgende Ziele zu realisieren:

- Suche nach der effektivsten Desinfektionsmethode/Desinfektionsmittel im Rahmen der TVO-Vorgaben.
- Suche nach einem geeigneten Modellkeim, Erarbeitung eines Modells mit einem widerstandsfähigen Modellkeim.
- Untersuchung der Einflussparameter auf die Desinfektionswirkung unterschiedlicher Desinfektionsmittel (z.B. erforderliche Behandlungsdosis, Verweilzeit, DOC-Gehalt, Ermittlung des Desinfektionsmittelbedarfs und des Umsatzes bei Vorhandensein definierter Mengen organischer Matrix, Art der Keime etc.)
- Gewährleistung einer sicheren Desinfektion auch unter worst-case-Bedingungen.
- Einhaltung der chemischen und hygienischen Parameter der TVO während und nach der Desinfektionsbehandlung auch bei höheren DOC-Werten (z.B. maximale Ozondosis, Ozonflüssigphasenkonzentration, Keimkonzentration etc.).
- Optimierung der Reaktionsführung in Bezug auf Raum-Zeit-Ausbeute
- Verfahrenstechnische/Anlagentechnische Optimierung des Reaktors
- Untersuchung von Kombinationsverfahren, Festlegung der Reihenfolge der Behandlungsschritte (Ozon + UV- oder UV + Ozon-Behandlung).
- Rückverkeimungsverhalten der behandelten Proben
- Kostenermittlung- und -optimierung der einzelnen Desinfektionsmethoden.

In den folgenden Kapiteln wird die Leistungsfähigkeit von oxidativen Methoden ermittelt. Dazu wurden reale Proben (UF-Filtrate und UO-Permeate) und Modellwässer in unterschiedlichen Reaktoren und bei unterschiedlichen Betriebsweisen untersucht. Aufgrund der begrenzten Menge an realem Probenmaterial wurden die Optimierungsversuche dann mit Modellwässern fortgesetzt, wenn diese eine besondere Herausforderung darstellten. Es wurden die folgenden Versuche durchgeführt:

- a) Desinfektion durch Wasserstoffperoxid im Batchreaktor
- b) Mischverhalten in einem Semibatchreaktor
- c) Ozonbehandlung von UO-Permeaten und UF-Filtraten im 5 L-Semibatchreaktor
- d) Ozonbehandlung von Modellkeimen im 100 L-Semibatchreaktor
- e) Ozonungsversuche in der instationären Anfahrphase der Blasensäule (Semibatch)
- f) Ozonungsversuche beim stationären und kontinuierlichen Betrieb der Blasensäule.
- g) Desinfektion durch Kombination einer Blasensäule und eines UV-Reaktors im kontinuierlichen Betrieb
- h) Rückverkeimungsverhalten nach unterschiedlichen Behandlungsmethoden
- i) Kostenermittlung- und -optimierung der einzelnen Desinfektionsmethoden.

### 4.6.1 Desinfektion durch Wasserstoffperoxid im Batchreaktor

Bei der Suche nach einem geeigneten oxidativ wirkenden Desinfektionsmittel wurden zuerst Versuche mit Wasserstoffperoxid durchgeführt. Wasserstoffperoxid wird als 3 Gew.-%ige Lösung zur Flächendesinfektion verwendet und greift Biofilme oxidativ an. Es ist auch durch die TVO zugelassen als Oxidationsmittel für die Trinkwasseraufbereitung, allerdings mit der Einschränkung einer Maximaldosis von 17 mgH<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/L. Für die vorab durchgeführte Desinfektion des Reaktorbehälters für UV-Versuche konnte eine Behandlung mit 3 Gew.-%iger Wasserstoffperoxidlösung über 72 Stunden erfolgreich angewendet werden. Aus diesem Grund sollten auch Untersuchungen durchgeführt werden, die eine Verwendung von Wasserstoffperoxid mit deutlich geringeren Konzentrationen (10 mg H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) für stark verkeimte Modellwässer beinhalten.

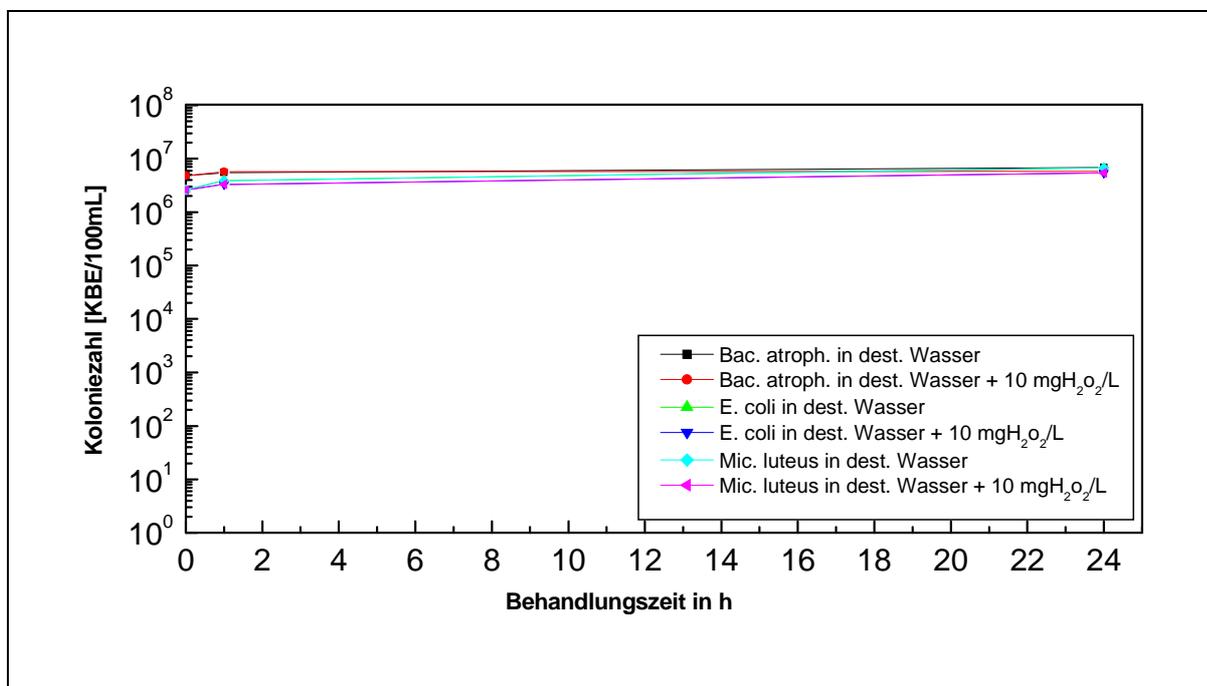


Abbildung 44: Keimzahlverlauf von drei Testkeimen während einer 24 stündigen Desinfektionsbehandlung mit 10 mgH<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/L in dest. Wasser und jeweils einer Referenzprobe in dest. Wasser.

Abbildung 44 zeigt den Keimzahlverlauf von drei Testkeimen während einer 24 stündigen Desinfektionsbehandlung mit Wasserstoffperoxid mit einer Konzentration von 10 mg H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/L. Die im Versuch angewendeten Keimzahlen entsprechen den Keimzahlen, die auch in realen Proben nach einer längeren Rückverkeimungszeit gefunden werden konnten. Die Testkeime wurden jeweils in VE-Wasser (Referenztest) und in VE-Wasser mit einem Zusatz von 10 mgH<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/L Wasserstoffperoxid gegeben. Die Ergebnisse mit und ohne Wasserstoffperoxidbehandlung sind nahezu identisch. Die Behandlung erwies sich bei Raumtemperatur innerhalb von 24 Stunden als ineffektiv. Es konnte auch nach 24 Stunden mit einem Wasserstoffperoxidschnelltest kaum eine Verringerung der Wasserstoffperoxidkonzentration nachgewiesen werden. Ohne zusätzliche Aktivierung des Wasserstoffperoxids scheint das Oxidationspoten-

tial nicht auszureichen, um eine effektive Wirkung zu erzielen.

Eine weitere mögliche Ursache für die mangelnde Effektivität dieses Desinfektionsmittels in geringer Konzentration kann das Enzym Katalase bzw. Peroxidase sein<sup>130</sup>. Die meisten aeroben und fakultativ anaeroben Bakterien wie auch Pilze besitzen dieses Enzym, das imstande ist, das für die Zellen giftige  $H_2O_2$  zu spalten, bevor es einen Schaden an der Zelle anrichten kann. Pro Sekunde kann sie die hundertfache Menge an reinem Wasserstoffperoxid zersetzen. In die Zelle vorgedrungene Wasserstoffperoxidmoleküle zerfallen weitgehend wirkungslos, der wirksame aktive Sauerstoff verwandelt sich in unkritischen molekularen Sauerstoff.

Alternativ bietet sich z.B. für eine intervallartig durchzuführende Oberflächen- und Rohrleitungsdesinfektion Peressigsäure an. Katalase zeigt bei PES keine Wirkung. Es wird aufgrund der hervorragenden Wirkung für die Trinkwasserdesinfektion im Katastrophenschutz verwendet<sup>129</sup>. Als Routinedesinfektionsmittel wird es nicht eingesetzt, da es in höheren Dosen negative Auswirkung auf den Verdauungstrakt und eine Reizwirkung der Schleimhäute bewirkt. Ursache für die Wirksamkeit ist die Lipidlöslichkeit von PES-Molekülen. Sie durchdringen alle Zellmembranen, gelangen zu den oxidationsempfindlichen Stoffwechsellenzymen und trennen hier den aktiven Sauerstoff für eine Reaktion ab<sup>130</sup>. Die Strukturelemente mit SH- oder -S-S-Gruppen werden bevorzugt oxidiert und verlieren unwiederbringlich ihre Funktion. Der Zellstoffwechsel wird dadurch beendet. Im Bereich der kontinuierlichen Trinkwasserdesinfektion würde durch eine Behandlung mit PES allerdings die organische Belastung wieder ansteigen. Festzuhalten bleibt, dass die toxische Wirkung des Wasserstoffperoxids in diesem Konzentrationsbereich offensichtlich nicht ausreicht, um eine erkennbare Desinfektionswirkung zu erzielen. Für die Oxidation von organischen Wasserinhaltsstoffen idealerweise in Kombination mit einer UV-Strahlungsquelle kann Wasserstoffperoxid in vielen Anwendungen verwendet werden. PES eignet sich nur für kurzfristige Spülvorgänge. Daher wurden keine weiteren Versuche mit diesen beiden Peroxiden als Desinfektionsmittel durchgeführt.

#### **4.6.2 Mischverhalten in einem Semibatch-Reaktor (Blasensäule)**

Um eine sichere Aussage über die Keim- und Ozonkonzentration im Vorratsbehälter bzw. im Reaktionsbehälter zu erhalten, muss bei der Probennahme gewährleistet werden, dass eine repräsentative Probe erfasst wird. Bei einer homogenen Durchmischung des Reaktionsbehälters ist diese Vorgabe gewährleistet. Durch stoßweise Zugabe eines Farbstoffs wurde die Durchmischung in der 5 L und der 100 L Blasensäule überprüft. Schon nach wenigen Sekunden konnte bei den verwendeten Gasvolumenströmen eine homogene Verteilung des Farbstoffes beobachtet werden.

#### **4.6.3 Ozonbehandlung eines UF-Filtrates im 5 L-Semibatchreaktor**

Bei diesem Versuch wurde eine UF-Filtratprobe einer Ozondesinfektionsbehandlung unterzogen. Ziel dieser Untersuchung ist die Überprüfung der Leistungsfähigkeit der Ozonbehandlung mit einer Probe, die einen hohen DOC-Wert und eine hohe Startkonzentration an ver-

mehrfachfähigen Keimen aufweist. Der DOC-Gehalt betrug in dieser Probe 450 mgC/L. Dieser Versuch entspricht somit einer extremen Störfallsimulation bei der die Auswirkungen einer fehlerhaft arbeitenden oder komplett zerstörten UO-Membran erprobt werden soll.

Für die Ozondesinfektion wurde ein 5 L-Semibatchreaktor (Blasensäule) verwendet. Der 5 L-Filtratprobe wurde eine Ozonkonzentration von 20 mgO<sub>3</sub>/L über einen Zeitraum von 20 Minuten zugeführt bei einem Gasvolumenstrom von 6 L/h und einer O<sub>2</sub>-Konzentration von 50 gO<sub>3</sub>/Nm<sup>3</sup>. Die Ozondosis in diesem Versuch entspricht der doppelten Dosis, die nach der TVO für die Aufbereitung von Trinkwasser vorgesehen ist. Die erhöhte Ozondosis wurde aufgrund des hohen DOC-Wertes gewählt, damit das Ozon nicht schon durch Konkurrenzreaktionen mit der organischen Matrix weitgehend aufgezehrt wird.

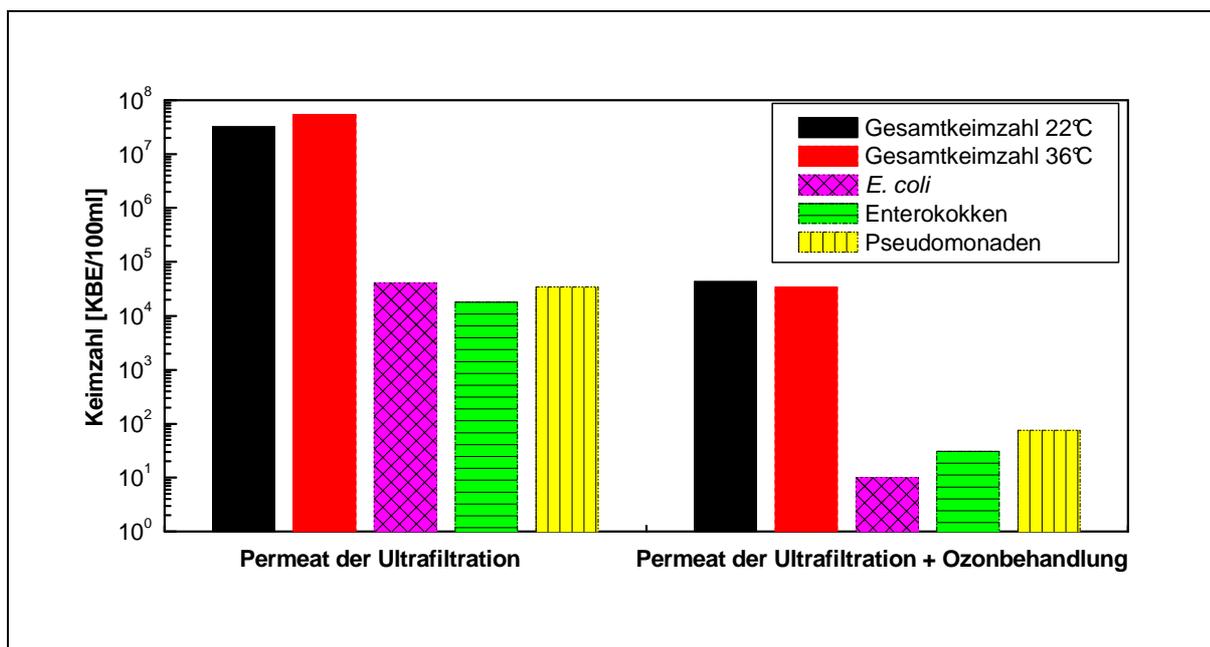


Abbildung 45: Keimzahl in einer UF-Filtratprobe vor und nach Behandlung mit Ozon

Abbildung 45 zeigt die Keimzahlen in einer UF-Filtratprobe vor und nach einer Ozonbehandlung. Nach der zwanzig minütigen Ozonbehandlung konnte noch eine Ozonflüssigphasenkonzentration von 260 µgO<sub>3</sub>/L gemessen werden. Nach 30 Minuten konnte kein Ozon mehr festgestellt werden. Die Restozonmenge wurde durch Ozonzerfall und durch die hohe organische Belastung als Konkurrenzreaktion zur Desinfektion verbraucht. Aufgrund der hohen organischen Belastung der UF-Filtratprobe konnte bei dieser gewählten Ozondosierung keine ausreichende Desinfektionswirkung nach TVO-Kriterien erzielt werden. Der hohe DOC-Wert schließt die Verwendung des Wassers für eine Trinkwasseranwendung ohne weitere Behandlung vollkommen aus. Aber auch die Nutzung für Zwecke bei denen nur eine geringere Qualität erforderlich ist, also z.B. als Reinigungswasser von Oberflächen auf dem Betriebsgelände, scheidet ohne zusätzliche Desinfektionsbehandlung aus. Eine weitere deutliche Absenkung der organischen Belastung ist in jedem Fall erforderlich, um mit einer Ozonbehandlung eine erfolgreiche Keimreduktion zu erzielen.

#### 4.6.4 Ozonbehandlung von UO-Permeaten im 5 L-Semibatchreaktor

In weiteren Versuchen wurde die Desinfektionswirkung von Ozon auf Proben mit deutlich geringeren DOC-Gehalten untersucht. Die UO-Permeate wiesen DOC-Konzentrationen von maximal 5 mgC/L auf. Aufgrund der deutlich geringeren organischen Fracht in den UO-Proben wurde die Probe bei diesem Versuch mit einer geringeren Ozonmenge als bei den UF-Filtraten behandelt. Innerhalb von fünf Minuten wurde eine Ozondosis von 5 mgO<sub>3</sub>/L zugegeben, bei einem Volumenstrom von 6 L/h und einer Omgaskonzentration von 50 g/Nm<sup>3</sup>. Das entspricht der Hälfte der Maximaldosis, die nach der TVO vorgesehen ist. Die Proben wurden vor und nach der Desinfektionsbehandlung mit Ozon auf die Parameter Gesamtkeimzahl bei 22 °C und bei 36 °C, als auch auf *E. coli*, Enterokokken und *Clostridium perfringens* untersucht.

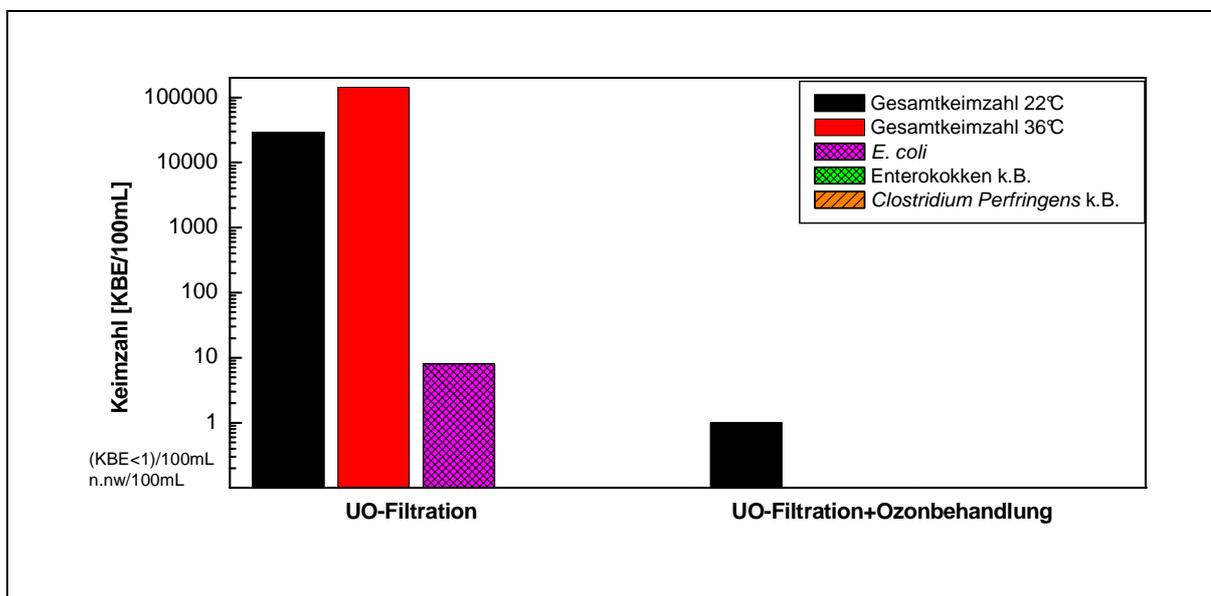


Abbildung 46: Keimzahl in einer UO-Permeatprobe vor und nach einer Ozonbehandlung

Abbildung 46 zeigt die Keimzahlen im UO-Permeat und nach der zusätzlichen Ozonbehandlung. In der Probe wurde als Startkonzentration eine Gesamtkeimzahl zwischen 10<sup>4</sup>-10<sup>5</sup> KBE/100mL bei 22 °C und 36 °C nachgewiesen. Darüber hinaus wurde eine geringe Kontamination durch acht Keime *E. coli* nachgewiesen. Es gab keinen Befund an Enterokokken und *Clostridium perfringens*, weder vor noch nach der Ozonbehandlung. Nach der Desinfektionsmaßnahme konnte lediglich bei der Untersuchung der Gesamtkeimzahl bei 22 °C noch ein einziger vermehrungsfähiger Keim pro 100 mL nachgewiesen werden. Zusätzlich wurde nach der einminütigen Ozonzugabe die Ozonkonzentration in der Flüssigphase bestimmt. Sie betrug 724 µgO<sub>3</sub>/L. Nach 2 Stunden konnte kein Ozon mehr in der Flüssigphase nachgewiesen werden.

Die Desinfektion mit Ozon konnte also sehr erfolgreich eingesetzt werden. Die in der UO-Permeatprobe vorhandenen Keime wurden im Rahmen der Vorgaben der chemischen TVO mit deutlich weniger als dem Grenzwert von 10 mgO<sub>3</sub>/L (exakt der Hälfte: 5 mgO<sub>3</sub>/L) sehr effektiv abgetötet.

In weiteren drei Versuchen konnten diese Ergebnisse trotz geringfügig variierender Startkonzentrationen an Keimen bestätigt werden. In keinem der Versuche wurden mehr als zehn Keime bei der Gesamtkeimzahl bei 22 ° und 36 °C bei dieser Dosierung nachgewiesen. In allen weiteren untersuchten Proben konnten keine *E. coli*-Keime, Enterokokken und *Clostridium perfringens* nachgewiesen werden. Es zeigte sich, dass die von der TVO vorgegebenen Dosisleistungen für eine optimale Desinfektion der UO-Permeate ausreichend sind. Es reichte sogar die Hälfte der maximal zulässigen Ozondosis nach der TVO. Eine zusätzliche Behandlung mit UV-Licht ist bei diesen UO-Permeaten nicht zwingend erforderlich. Eine Restozonreduktion kann durch Zerfall z.B. in einem Zwischenpuffer oder im Rohrleitungsnetz innerhalb kurzer Zeit (max. zwei Stunden) erfolgen.

Aufgrund der variierenden Startkonzentrationen an Keimen und DOC-Mengen im Realwasser sowie der umfangreichen hygienischen Untersuchungsparameter, die durch die TVO vorgegeben werden, beschränken sich die Untersuchungen mit dem Realwasser auf die notwendigerweise zu erfüllenden Vorgaben der TVO. Die wesentlichen Vorgaben sind die Unterschreitung von bestimmten in der TVO aufgeführten chemischen und hygienischen Parametern, eine maximale Ozondosierung pro Wasservolumen und eine maximale Restozonkonzentration an der Entnahmestelle. In den folgenden Kapiteln werden umfangreiche Untersuchungen mit Modellkeimen zur Verfahrensoptimierung durchgeführt. Eine Optimierung ist nur mit definierten, vergleichbaren Bedingungen, die durch Modellwasser erzielt wird, möglich. Um eine hohe Sicherheit des Verfahrens zu garantieren muss das Modellwasser den schlechtesten zu erwartenden Fall abdecken. Dieser Fall wird durch die Auswahl des verwendeten Keims und der Menge an organischer Matrix erfasst.

#### 4.6.5 Ozonbehandlung von Modellkeimen im 100 L-Semibatchreaktor

Zur Untersuchung der Desinfektion des Modellwassers wurden mehrere Versuchsreihen durchgeführt. Das Ziel dieser Versuchsreihen im Semibatchreaktor (Blasensäulenreaktor) war die Bestimmung der erforderlichen Ozonflüssigphasenkonzentration und Verweilzeiten für eine erfolgreiche Desinfektion. Mit diesen Daten kann dann auch ein kontinuierlicher Betrieb einer Blasensäule entsprechend ausgelegt werden. Die Ozonflüssigphasenkonzentration sollte so hoch liegen, dass eine zeitlich schnelle Desinfektion innerhalb von maximal 5-10 Minuten für unterschiedliche Modellkeime gewährleistet werden kann.

Es wurden zwei Modellkeime (*Bacillus atrophaeus* und *E. coli*) stoßweise in eine mit ca. 100 L VE-Wasser gefüllte und ozonisierte Blasensäule gegeben. Der Versuch fand bei einer Wassertemperatur von 22 °C statt. Es wurden 600 mL Nährlösung mit den entsprechenden Keimen zugeführt, so dass sich im 100 L Blasensäulenreaktor ein DOC-Wert von 4,5 mgC/L und eine Keimkonzentration von  $10^7$ - $10^8$  KBE/100mL einstellte. Diese Daten entsprechen den real vorgefundenen Verhältnissen in den UO-Permeaten.

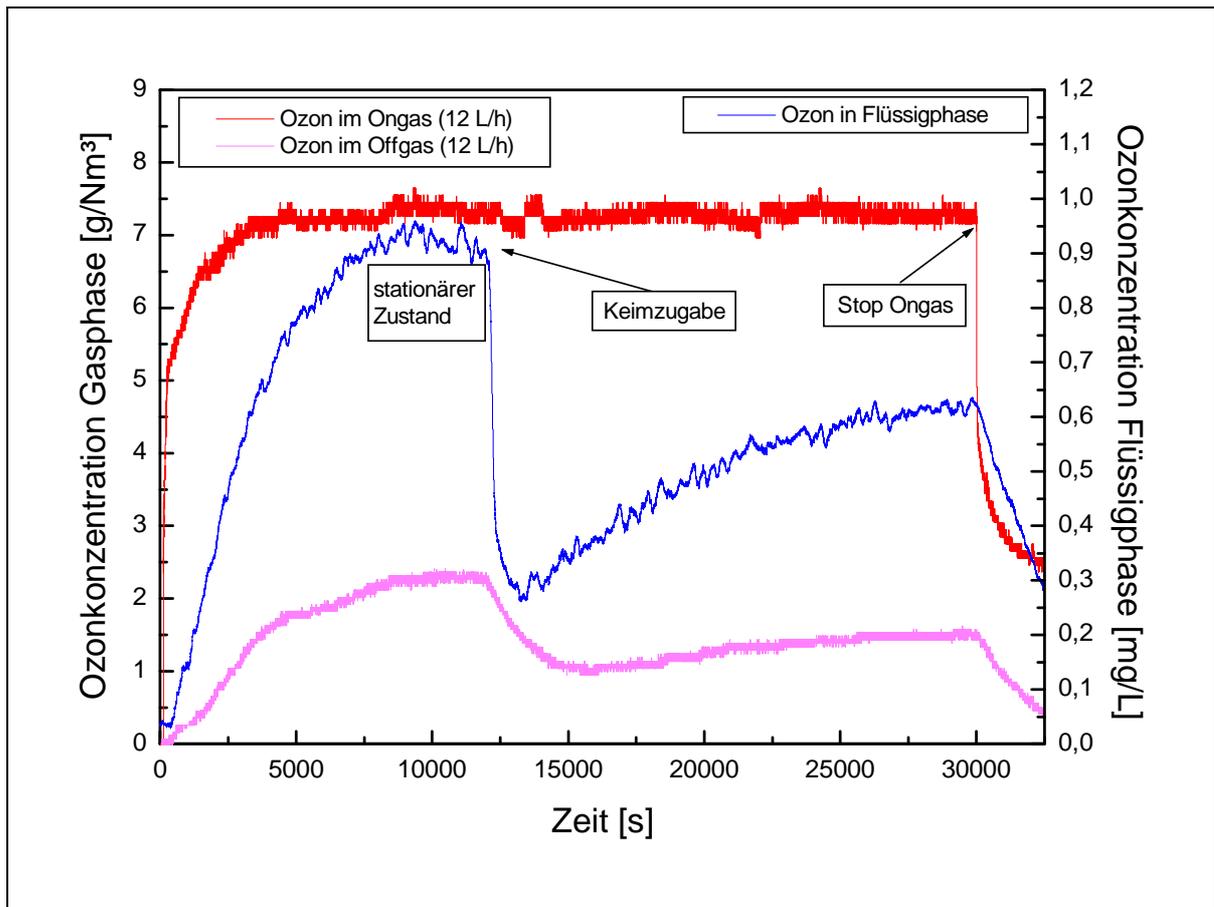


Abbildung 47: Verlauf der Ozonkonzentrationen während eines Desinfektionsversuches im 100 L Semibatchreaktor

Abbildung 47 zeigt exemplarisch den Verlauf der Ozonwerte während eines Desinfektionsversuchs. Die On- und Offgaskonzentration ist auf der linken Ordinate abzulesen ( $\text{g}/\text{Nm}^3$ ), die Konzentration des Ozons in der Flüssigphase auf der rechten Ordinate ( $\text{mg}/\text{L}$ ). Bei dem dargestellten Versuch wurde bei einem Ozongasvolumenstrom von 12 L/h eine Ongaskonzentration von  $7,2 \text{ g}/\text{Nm}^3$  eingestellt. Dadurch wurde im stationären Zustand eine Ozonflüssigphasenkonzentration von etwa  $950\text{-}1000 \mu\text{gO}_3/\text{L}$  erreicht. Der nicht vom Wasser aufgenommene Ozonanteil befindet sich im Offgas. Zur Erzielung eines stationären Zustandes der Ozonkonzentrationen war es erforderlich, die Blasensäule mehrere Stunden zu betreiben. Nach dem Erreichen des stationären Zustands, bei dem die zugeführte konstante Menge an Ozon keine weitere Erhöhung der Ozonkonzentration in der Flüssigphase bewirkt und sich auch bei der Offgaskonzentration ein Gleichgewicht eingestellt hat, wird die Keimlösung in einem Stoß (innerhalb von 5 Sekunden) zugegeben. Die Zugabe der Keime markiert den Zeitpunkt  $t=0$  in den folgenden Abbaukurven (siehe Abbildung 48, 49, 50) der Keime. Kurzfristig führen die schnellen Ozonreaktionen dazu, dass ein Großteil der in der Flüssigphase befindlichen Ozonmenge abreagiert. Die Konzentration an organischer Matrix bewirkt somit innerhalb weniger Sekunden einen starken Abfall der gelösten Ozonkonzentration. Erst nach Beendigung der schnellen Ozonreaktionen steigt die Konzentration in der Flüssigphase durch weitere Ozonzuführung wieder langsam an. Durch diese Vorgehensweise ist es möglich, anhand von unterschiedlich hohen Startkonzentrationen an gelöstem Ozon, Rückschlüsse auf die erforderliche

Ozonflüssigphasenkonzentration für einen Semibatchbetrieb zu ermitteln. Diese Daten können aber auch für einen kontinuierlich betriebenen Reaktor wertvolle Hinweise auf die erforderliche Ozonflüssigphasenkonzentration geben. Es kann dann eine kontinuierliche und sichere Desinfektion bei einem konstanten Ozonflüssigphasenwert eingestellt werden. Wird dieser Wert unterschritten, kann die Ozonzufuhr nachgeregelt werden.

Für die Behandlung des wenig resistenten *E. coli*-Keimes wurde eine Ozonflüssigphasenkonzentration von 250  $\mu\text{gO}_3/\text{L}$  gewählt. Nach Betrachtung der Ergebnisse wurde im ersten Schritt eine Vervierfachung der Ozonflüssigphasenkonzentration auf 1000  $\mu\text{gO}_3/\text{L}$  gewählt, um die Behandlungszeiten entscheidend zu verkürzen und den Behandlungserfolg zu steigern. Nach Überprüfung der Ergebnisse wurde im nächsten Schritt nur noch eine Erhöhung um 500  $\mu\text{gO}_3/\text{L}$  auf 1500  $\mu\text{gO}_3/\text{L}$  durchgeführt. Für den resistenten *Bacillus atrophaeus*-Keim wurde die Ozonflüssigphasenkonzentration jeweils in 1000  $\mu\text{gO}_3/\text{L}$  Schritten erhöht, ausgehend von 1500  $\mu\text{gO}_3/\text{L}$  auf 2500  $\mu\text{gO}_3/\text{L}$  und schließlich auf 3500  $\mu\text{gO}_3/\text{L}$ . Die Ergebnisse der Ozonbehandlung der zwei Modellkeime sind in Abbildung 48 und Abbildung 49 dargestellt.

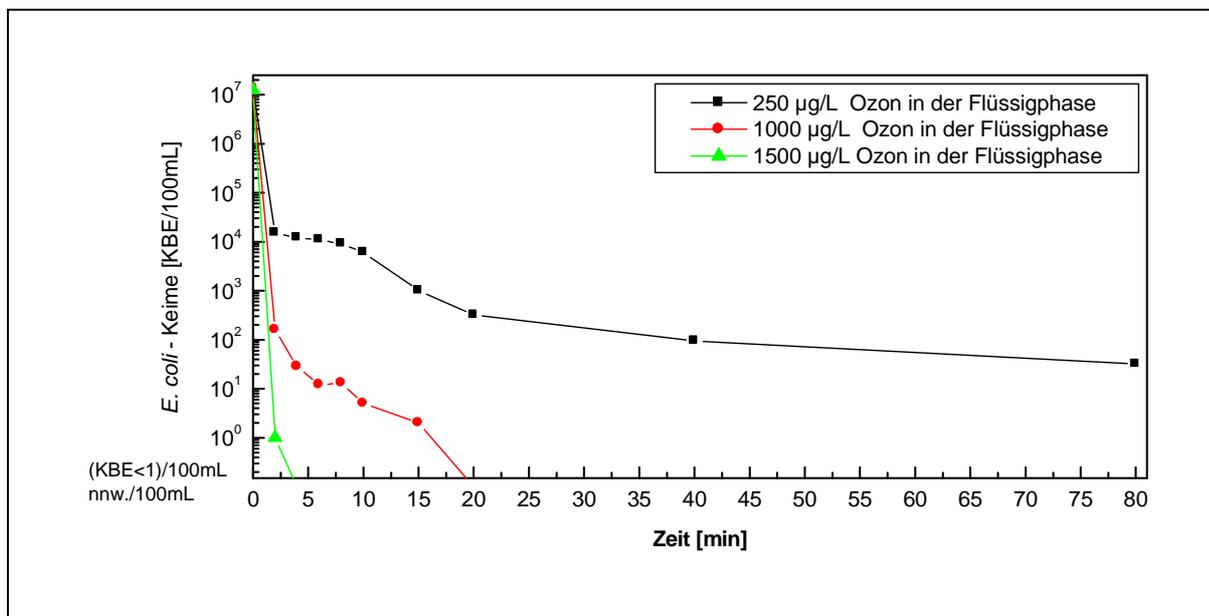


Abbildung 48: Keimzahlverlauf im Modellwasser während der Desinfektion von *E. coli* Keimen durch Ozon im 100 L-Semibatchreaktor

Die durchgeführten Untersuchungen zeigen einen schnellen Abfall der Keimzahlen von einer Startkonzentration, die in beiden Fällen zwischen  $10^7$ – $10^8$  KBE/100mL lag. Diese Werte entsprechen den in rückverkeimten Realproben aufgefundenen Keimkonzentrationen. Es zeigte sich in den Versuchsreihen mit dem Modellkeim *E. coli*, dass eine Ozonflüssigphasenkonzentration von 250  $\mu\text{gO}_3/\text{L}$  nicht ausreicht, um eine effektive Desinfektion innerhalb einer kurzen Verweilzeit zu gewährleisten. Bei 1000  $\mu\text{gO}_3/\text{L}$  konnte nach 20 Minuten kein *E. coli*-Keim pro 100 mL mehr nachgewiesen werden und bei einer Startkonzentration von 1500  $\mu\text{gO}_3/\text{L}$  konnte schon nach fünf Minuten kein *E. coli*-Keim pro 100 mL mehr nachgewiesen werden. Es konnte also eine effiziente Desinfektion innerhalb kurzer Verweilzeit durchgeführt werden.

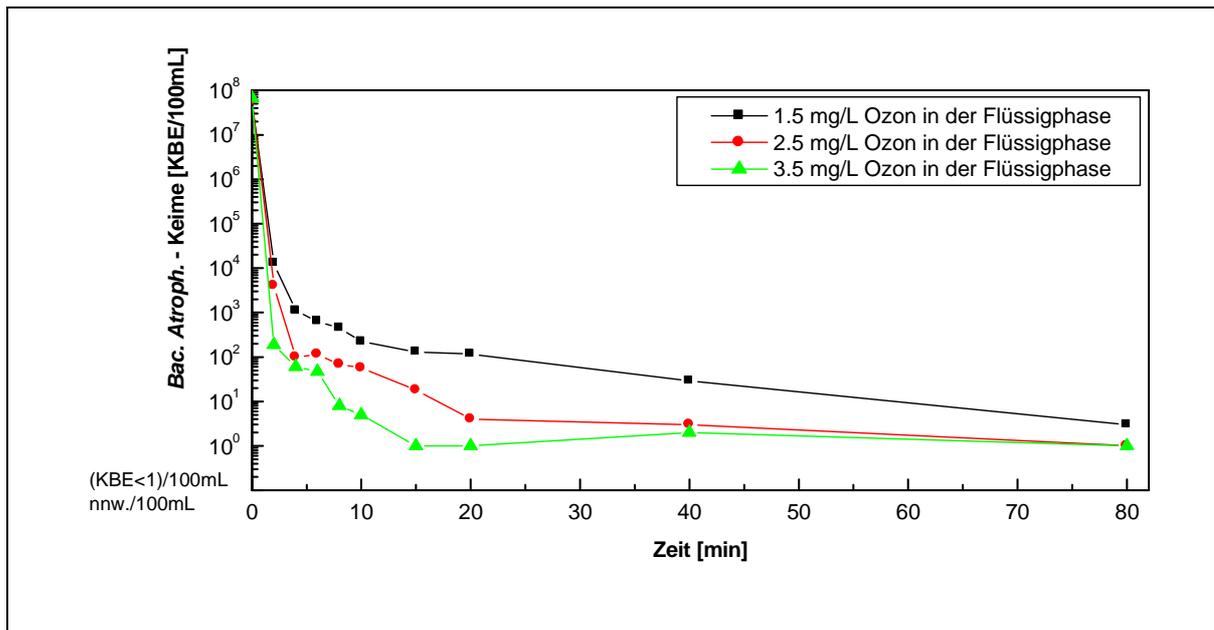


Abbildung 49: Keimzahlverlauf im Modellwasser während der Desinfektion von *Bacillus atrophaeus*-Keimen durch Ozon im 100 L-Semibatchreaktor

Abbildung 49 zeigt den Desinfektionserfolg einer Ozonbehandlung von *Bacillus atrophaeus*-Keimen. Schon in den ersten fünf Minuten konnte ein Großteil der Keime abgetötet werden. Eine vollständige Abtötung der Keime erwies sich jedoch trotz hoher Verweilzeiten und weiterer kontinuierlicher Zugabe von Ozon als extrem schwierig. Die Ursache für diese außerordentliche Resistenz im Bereich geringer Keimkonzentrationen ist der in **Kap. 2.1.2.4.5** beschriebene Tailingeffekt, der unter anderem durch die Agglomeration von Keimen zu Zellverbänden entstehen kann. Aufgrund der intensiven EPS-Bildung von *Bacillus atrophaeus*-Keimen entsteht eine zusätzliche Adhäsionswirkung der Keime untereinander und führt zu größeren Zellagglomeraten, die wiederum schwieriger oxidativ zu zerstören sind. Dieser Mechanismus gilt auch für abgespaltene Fragmente eines Biofilms und dem Biofilm selbst. Daher sind dort deutlich höhere Dosismengen erforderlich als bei anderen Keimen.

Grundsätzlich konnte in allen Versuchen ein eindeutiger Dosis-Einwirkzeit-Zusammenhang festgestellt werden. Die Desinfektionsleistung erhöhte sich mit der gelösten Ozondosis und der Einwirkzeit. Die BA-Werte nach 80 Minuten bei 2500 und 3500  $\mu\text{gO}_3/\text{L}$  stellen eine Ausnahme dar, die im Bereich von 1-5 verbleibenden Restkeimen pro 100 mL auch durch eine Streuung erklärt werden kann. Es zeigte sich aber, dass eine Erhöhung der Ozonflüssigphasenkonzentration bei den resistenten *Bacillus atrophaeus*-Keimen auf 3500  $\mu\text{gO}_3/\text{L}$  keinen wesentlichen Vorteil gegenüber einer niedrigeren Dosierung von 2500  $\mu\text{gO}_3/\text{L}$  aufweist. Dieses Erkenntnis führte dazu, dass für einen weiteren Versuch mit Keimen, die aus dem UO-Permeat stammten, eine Dosierung von 2500  $\mu\text{gO}_3/\text{L}$  in der Flüssigphase als vollkommen ausreichend erachtet wurde.

Im folgenden Versuch wurde überprüft, ob die Ergebnisse bzw. der ermittelte Wert auch geeignet ist für die Desinfektion einer Keimpopulation, die aus einer realen UO-Permeatprobe stammt. Diese reale UO-Permeatprobe wurde zur Animpfung einer Nährbouillon verwendet

und 96 Stunden bei 22 °C inkubiert. Diese künstlich hergestellte Keimpopulation stellt zwar nicht eine identische Nachbildung der ursprünglichen Biozönose dar, aber auch die Verkeimung aus der UO-Permeatprobe wird zum großen Teil durch Wiederverkeimung und exponentielles Wachstum nach der UO-Filtration erzeugt. Daher kann angenommen werden, dass dieses Modell der Realität noch näher kommt als die Untersuchung mit Modellkeimen. Genau wie bei den Versuchen mit den Modellkeimen wurde auch hier 600 mL der verkeimten Nährbouillon stoßweise in den Blasensäulenreaktor gegeben, nachdem die Ozonflüssigphasenkonzentration einen stationären Zustand erreicht hatte. Die organische Matrix im 100 L-Blasensäulenreaktor entspricht damit ungefähr den in realen UO-Permeatproben vorgefundenen Daten. Der Versuch wurde mit einer Ozonflüssigphasenkonzentration von 2500 µgO<sub>3</sub>/L durchgeführt. Um den Probenaufwand zu minimieren wurde in diesem Fall die Gesamtkeimzahl bei 22 °C untersucht. Üblicherweise werden typische Fäkalverunreinigungen wie Darmbakterien eher bei einer Inkubationstemperatur von 36 °C detektiert. Es zeigte sich aber bei den Untersuchungen der realen UO-Permeatproben, dass die Gesamtkeimzahl bei 22 °C und 36 °C nicht so stark differierten, als dass sich daraus ein völlig unterschiedliches Desinfektionsverhalten ableiten lässt, somit scheint die Reduzierung des Probenumfangs an dieser Stelle gerechtfertigt.

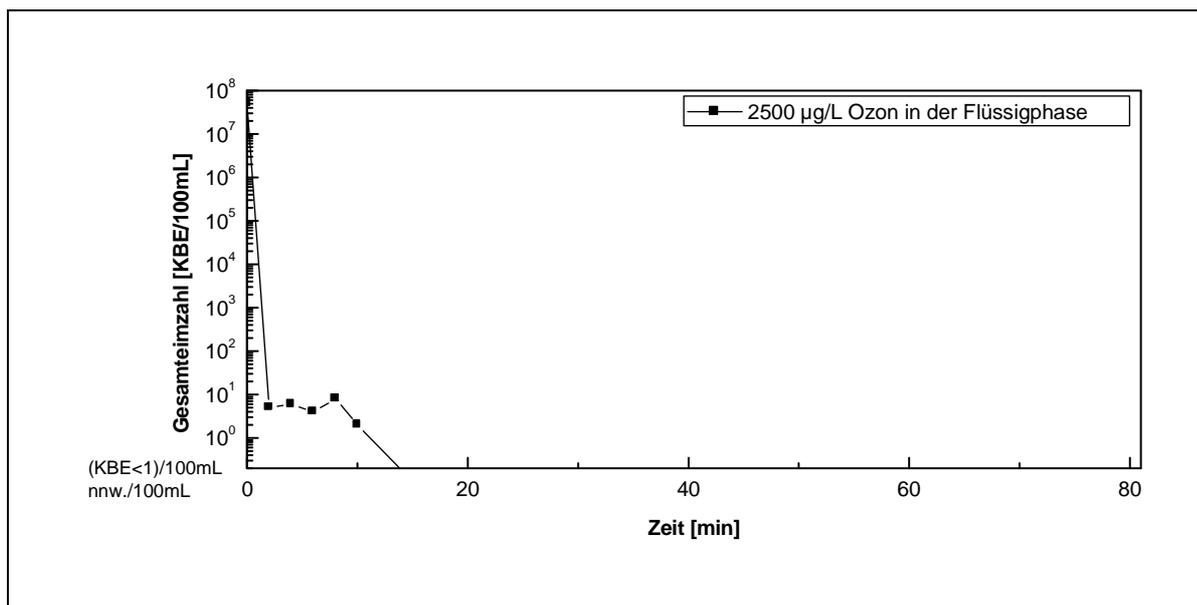


Abbildung 50: Keimzahlverlauf einer angereicherten UO-Permeat-Keimpopulation während einer Ozondesinfektion im 100 L-Semibatchreaktor.

Abbildung 50 zeigt, dass bei dem Desinfektionsversuch einer realen angereicherten Keimpopulation des UO-Permeates innerhalb kürzester Zeit eine weitreichende Desinfektion erzielt werden kann. Aber auch hier erwies sich eine Restmenge von unter 10 KBE/100mL als besonders schwierig zu desinfizieren. Geringfügige Streuungen in biologischen Proben werden immer wieder beobachtet. Erst nach 15 Minuten konnte in einer 100 mL-Probe (durch Anreicherung auf einem Membranfilter) kein Keim mehr nachgewiesen werden. Im Vergleich zu den sensiblen *E. coli*-Keimen erwiesen sich die Keime in der realen Proben als resistenter gegenüber einer höheren Dosis des Desinfektionsmittels. Die größte Herausforderung für die

Desinfektion stellen allerdings die *Bacillus atrophaeus*-Keime dar. Daher wurde in den folgenden Versuchen nur noch dieser Keim für weitere intensive Optimierungsversuche ausgewählt.

Die Messung der Ozonflüssigphasenkonzentrationen, die direkt durch den zugeführten Ozonongasstrom beeinflusst wird, stellt eine gute Methode dar, Prognosen für die Desinfektionswirkung einer Ozonbehandlung zu erzielen. In den folgenden Versuchen wird die Relevanz der Messung der Ozonflüssigphasenkonzentration in Bezug auf die Ozonzehrung durch eine variierende organische Matrix und der daraus resultierenden Desinfektionsleistung der eingesetzten Ozonmenge noch stärker verdeutlicht.

Darüber hinaus konnten diese in Bezug auf den Flüssigkeitsvolumenstrom diskontinuierlichen Versuche (Semibatchversuche) wertvolle Anhaltspunkte auf die erforderliche Ozondosis und Einwirkzeit für die Auslegung und Optimierung einer kontinuierlich betriebenen Blasensäule liefern.

#### **4.6.6 Ozonungsversuche während der instationären Startphase der Blasensäule im Semibatchbetrieb**

In dieser Versuchsreihe sollte der hygienische Zustand des Wassers in der Anfahrphase der Blasensäule getestet werden. Nach einem Stillstand der Anlage können durch Wiederverkeimung hohe Keimbelastungen entstehen. Die durchgeführten Versuche geben Aufschluss darüber, wie in einer Anfahrphase eines gefüllten Blasensäulenreaktors optimale und sichere Betriebsbedingungen erfüllt werden können, bis ein Übergang in eine kontinuierliche Betriebsweise erfolgt. Darüber hinaus soll geprüft werden, ob eine Optimierung der Ozondosierung möglich ist. In der Startphase wird der Reaktor im Semibatchbetrieb gefahren. Nach 40 Minuten geht der Versuch in eine kontinuierliche Fahrweise über und wird dann in diesem Zustand bis zum Erreichen eines stationären Zustandes betrieben. Die Ergebnisse dieser Versuche werden aber erst im nächsten Kapitel 4.6.7 dargestellt. Im kontinuierlichen Betriebszustand werden dann sowohl permanent Ozon als auch verkeimtes Wasser der Blasensäule zugeführt. Die Versuchsreihen zeigen bei den Semibatchversuchen und bei den kontinuierlichen Versuchen den Einfluss des DOC-Gehaltes, der Startkonzentration der Keime und der Dosiergeschwindigkeit- und Menge des Ozons auf. Es wurde Modellwasser mit *Bacillus atrophaeus*-Keimen mit unterschiedlichen Startkonzentrationen an Modellkeimen und an DOC-Werten verwendet. Es wurde jeweils mit einem Gasvolumenstrom von 12 L/h die Blasensäule durchströmt. Die Konzentration des Ongases war bei geringer Dosierung 35 gO<sub>3</sub>/Nm<sup>3</sup> und bei hoher Dosierung 70 gO<sub>3</sub>/Nm<sup>3</sup>. Die Versuchszeit betrug jeweils 40 Minuten in beiden Versuchen. Die Proben wurden im Abstand von zehn Minuten der Blasensäule entnommen. Somit sind bei gleicher Ozondosierung die Daten der Paare 10 Minuten bei hoher Dosierung und 20 Minuten bei niedriger Dosierung vergleichbar sowie bei 20 und 40 Minuten.

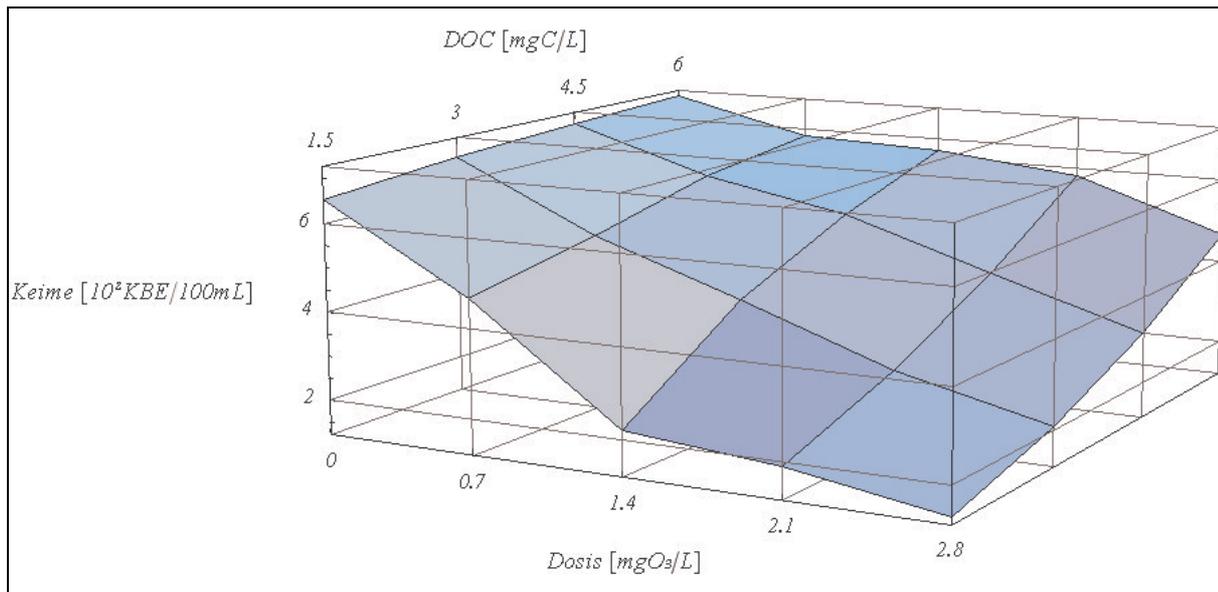


Abbildung 51: Keimzahlverlauf im Wasser während eines Semibatchversuchs (mit niedriger Ozondosierung) in Abhängigkeit der Ozondosierung und des DOC-Wertes

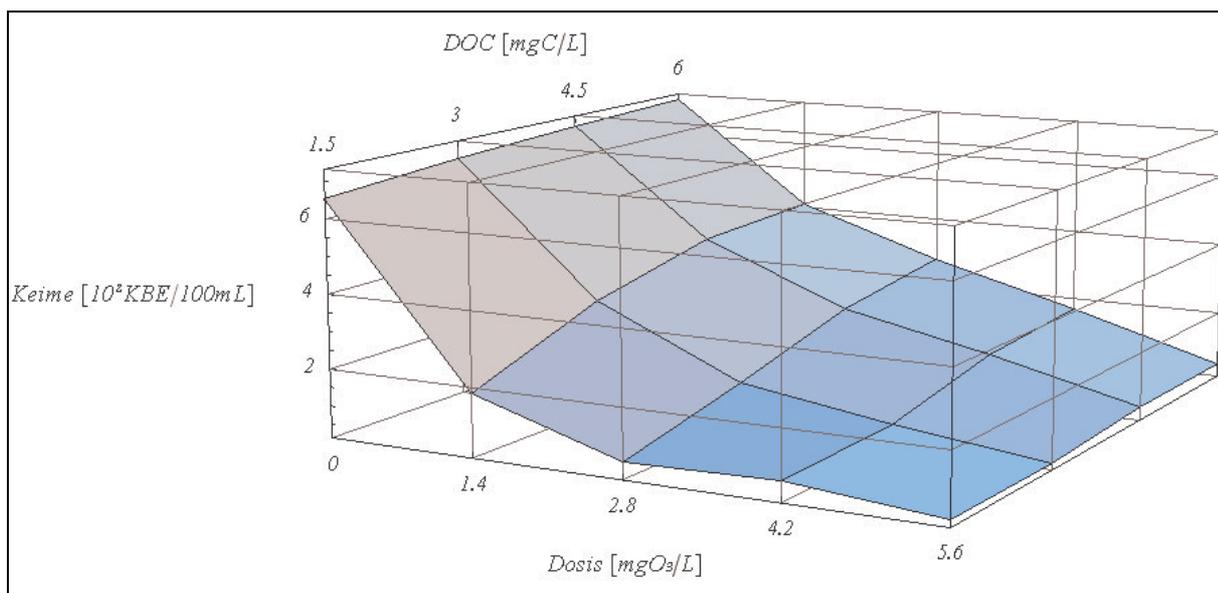


Abbildung 52: Keimzahlverlauf im Wasser während eines Semibatchversuchs (mit doppelter Ozondosierung) in Abhängigkeit der Ozondosierung und des DOC-Wertes

In Abbildung 51 und Abbildung 52 sind die Gesamtkeimzahlen des verwendeten Keimes *Bacillus atrophaeus* in KBE/100 mL (z-Achse) gegen die Ozondosierung (x-Achse) aufgetragen. Die dritte Dimension (y-Achse) beschreibt die DOC-Werte. Es zeigte sich bei der geringen Dosierung (Abbildung 51), dass innerhalb von 40 Minuten im Bereich der hohen DOC-Konzentrationen keine ausreichende Desinfektionsleistung erzielt werden konnte. Der Ozonverbrauch war so groß, dass für die Desinfektion nicht mehr ausreichend Kapazität an Ozon zur Verfügung stand. Eine Verbesserung ergibt sich durch die schnelle (hohe) Dosierung.

Die Abbildung 53 und Abbildung 54 zeigen den Verlauf der gelösten Ozonkonzentration, die bei den durchgeführten Untersuchungen erzielt worden sind. Innerhalb von 40 Minuten wurden 2,8 mgO<sub>3</sub>/L (Abbildung 53) bzw. 5,6 mgO<sub>3</sub>/L (Abbildung 54) in den Blasensäulenreaktor dosiert.

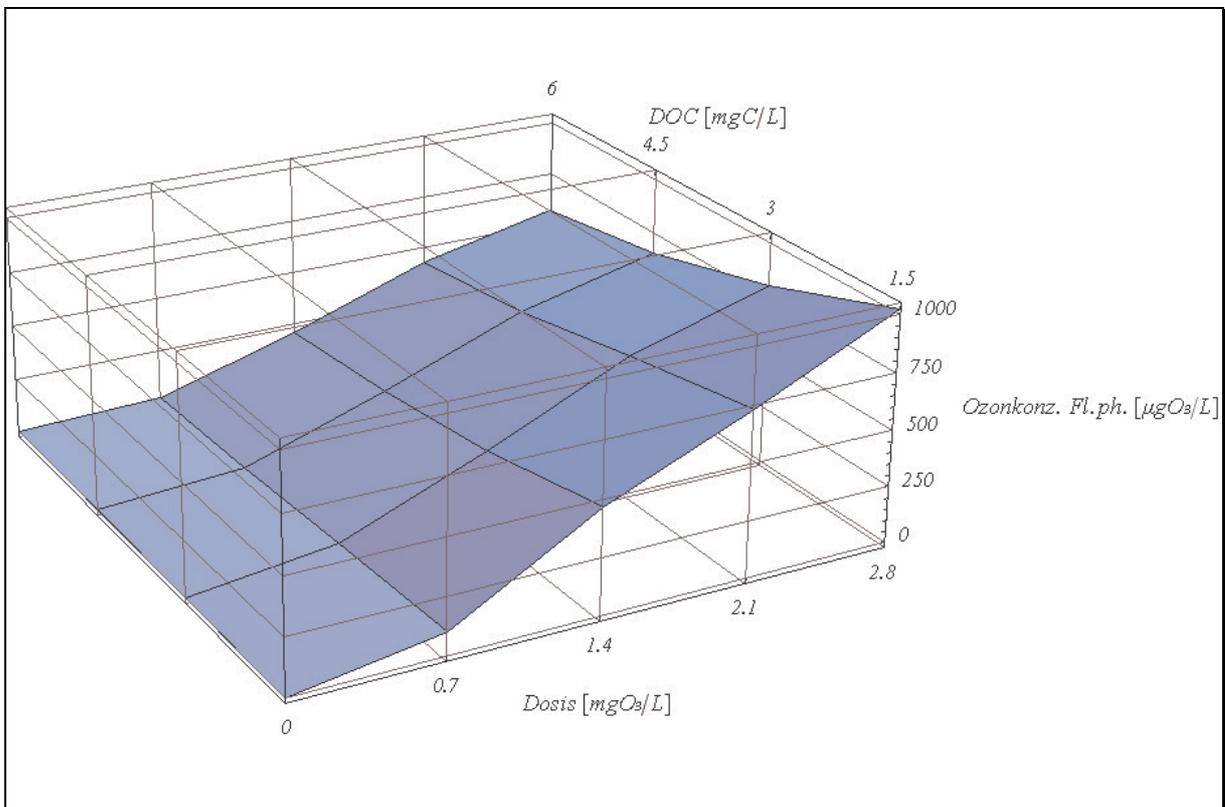


Abbildung 53: Ozonkonzentration in der Flüssigphase bei einer einfachen Ozondosierung beim Semibatchbetrieb in Abhängigkeit des DOC-Gehaltes

Zu Beginn der Dosierung, also in den ersten 10 Minuten, findet eine starke Ozonzehrung in der Flüssigphase durch die organische Matrix statt. Das erklärt den langsamen Anstieg der Ozonflüssigphasenkonzentration. Nach Abklingen der schnellen Ozonreaktionen nimmt die gelöste Ozonkonzentration deutlich stärker zu. Werden die Ozonflüssigphasenwerte bei gleicher Ozondosierung aber unterschiedlicher Dosierungsgeschwindigkeit verglichen (einfache Dosierung nach 40 Minuten in Abbildung 53, doppelte Dosierung nach 20 Minuten in Abbildung 54), ist bei der schnellen Dosierung ein deutlich höherer Wert zu erkennen. Der Anteil an Zerfallsreaktionen und die Umsetzung mit organischer Matrix führt, wie zu erwarten war, bei der langsamen Dosierung zu einer geringeren Ozonflüssigphasenkonzentration. Die schnellere Ozondosierung führt auch hier wieder dazu, dass eine effektivere Keimreduktion erfolgt. Es bestätigt sich also, dass bei gleicher Ozondosierung, diejenige zu einem besseren Desinfektionseffekt führt, bei der die Ozonflüssigphasenkonzentration möglichst hoch ist und das wird in diesem Fall bei gleichen Dosis-mengen durch eine schnelle intensive Ozondosierung erzielt. Das Desinfektionsergebnis wird also nicht nur durch die Dosis-Wirkzeitbeziehung beeinflusst, sondern auch zusätzlich durch die tatsächlich erreichte maximale Ozonflüssigphasenkonzentration.

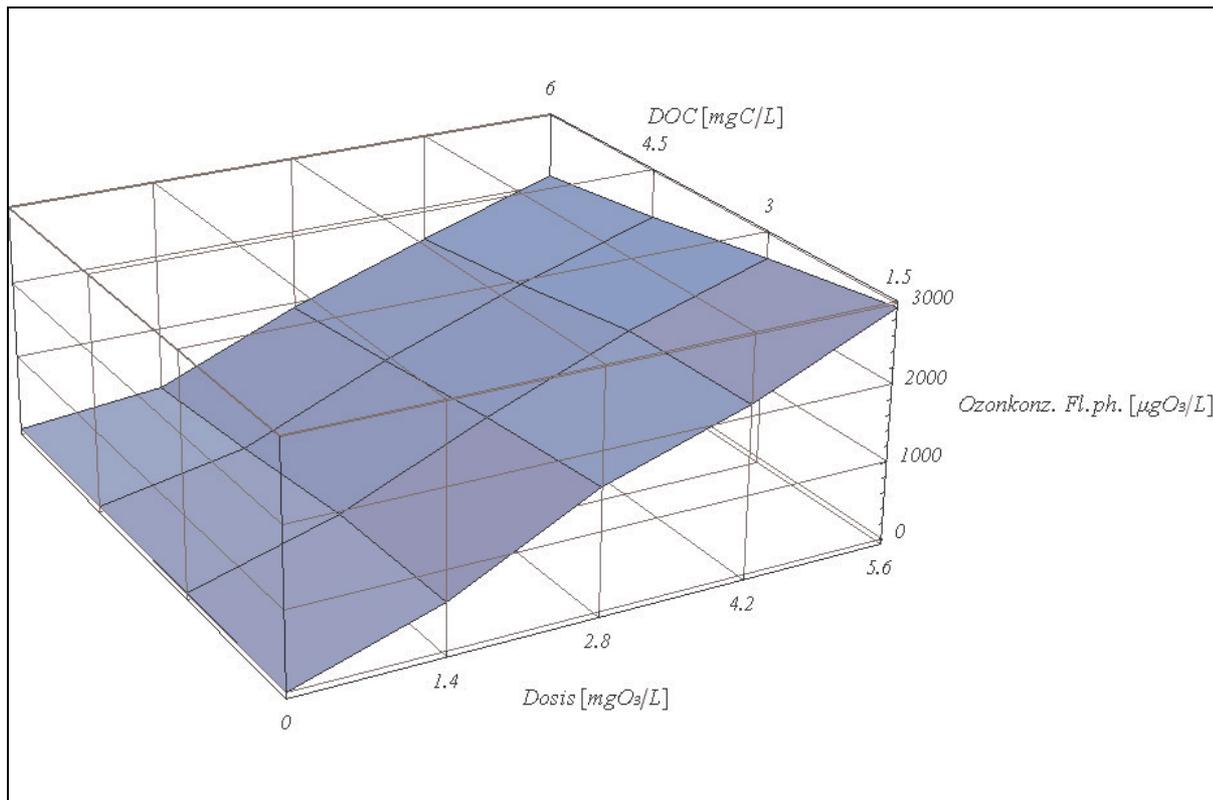


Abbildung 54: Ozonkonzentration in der Flüssigphase bei einer doppelten Ozondosierung (Vergl. Abb. 53) im Semibatchbetrieb in Abhängigkeit des DOC-Gehaltes

Insgesamt zeigte sich, dass bei den Semibatchversuchen schon mit geringeren Ozonmengen eine hohe Desinfektionsleistung erzielt wird. Ein wesentlicher Grund dafür ist, dass keine Austragung des gelösten Ozons durch den Abfluss in ein Leitungsnetz erfolgt und somit hohe Ozonflüssigphasenkonzentrationen in der Blasensäule erzielt werden können.

Im folgenden Kapitel werden Versuche während eines kontinuierlichen Betriebes einer Blasensäule beschrieben. Bei diesen Versuchen wird über die kontinuierliche Austragung von Wasser aus der Blasensäule auch gelöstes Ozon abtransportiert, so dass die Ozonflüssigphasenkonzentration innerhalb des Reaktors bei gleicher Ozondosierung geringer ist.

#### 4.6.7 Ozonungsversuche während des stationären und kontinuierlichen Betriebs der Blasensäule

In dieser Versuchsreihe wurde die Desinfektionsleistung einer kontinuierlich betriebenen Blasensäule im stationären Betrieb untersucht. Die Versuche wurden mit unterschiedlichen Konzentrationen an organischen Inhaltsstoffen durchgeführt. Es wurden jeweils Proben verwendet, die einen DOC von 1,5, 3, 4,5 und 6  $\text{mgC}/\text{L}$  aufwiesen. Zusätzlich wurden zwei unterschiedliche O<sub>2</sub>gaskonzentrationen (35 und 70  $\text{gO}_3/\text{Nm}^3$ ) bei ansonsten unveränderten Gasvolumenströmen von 12  $\text{L}/\text{h}$  eingestellt. Es sollte geprüft werden, ob die Dosierungsgeschwindigkeit einen Einfluss auf die Desinfektionsleistung hat. Die Verweilzeiten im Blasensäulenreaktor betragen bei den unterschiedlichen Einstellungen 30, 60, 90 und 120 Minuten. Bei

einer Ongaskonzentration von  $35 \text{ gO}_3/\text{Nm}^3$  wird eine Menge von  $2,1 \text{ mgO}_3/\text{L}$  nach 30 Minuten Verweilzeit in den Reaktor dosiert, entsprechend  $4,2 \text{ mgO}_3/\text{L}$  nach 60 Minuten Verweilzeit,  $6,3 \text{ mgO}_3/\text{L}$  nach 90 Minuten und  $8,4 \text{ mgO}_3/\text{L}$  nach 120 Minuten. Bei der Dosierung von  $70 \text{ gO}_3/\text{Nm}^3$  werden dementsprechend die doppelten Mengen  $\text{O}_3$  pro L erzielt. Abbildung 59 zeigt den Keimzahlverlauf in Abhängigkeit der Ozondosis und des DOC-Gehaltes bei einer Ongaseinstellung  $35 \text{ gO}_3/\text{Nm}^3$ . Daraus ergibt sich bei einer mittleren Verweilzeit von maximal 120 Minuten die auf der x-Achse dargestellte Ozondosis. Bei einer mittleren Verweilzeit von 120 Minuten entspricht das einem Volumenstrom von  $50 \text{ L/h}$  der verkeimten wässrigen Lösung, die in einem  $100 \text{ L}$ -Reaktor zu- und ablaufen. Entsprechend sind Volumenströme von  $66,67 \text{ L/h}$  bei einer Verweilzeit von 90 Minuten,  $100 \text{ L/h}$  für 60 Minuten sowie  $200 \text{ L/h}$  für 30 Minuten Verweilzeit einzustellen. Die nach der TVO maximal zulässige Ozondosis beträgt  $10 \text{ mgO}_3/\text{L}$ . Somit sind bei dieser Versuchsreihe alle Werte deutlich unterhalb dieser Maximaldosis.

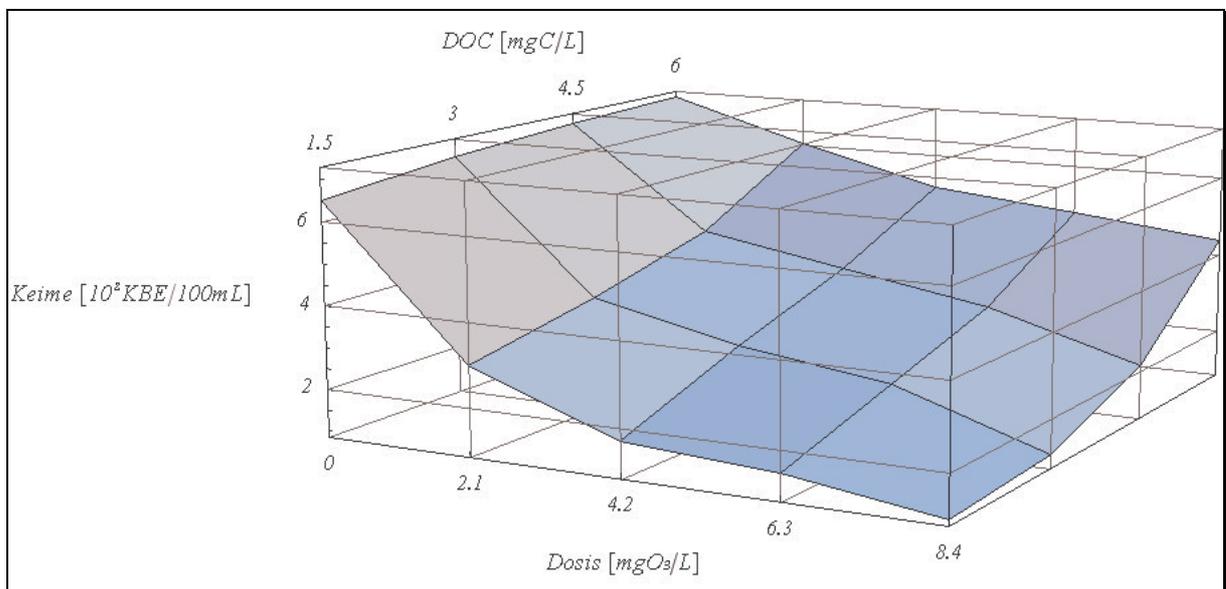


Abbildung 55: Keimzahlverlauf während einer Ozonbehandlung mit einer Ongaskonzentration von  $35 \text{ gO}_3/\text{Nm}^3$  in Abhängigkeit des DOC-Gehaltes und der Ozondosis.

Die durchgeführten Untersuchungen zeigen, dass sich mit zunehmender Ozondosis die Desinfektionsleistung erwartungsgemäß steigern lässt. Steigende DOC-Konzentrationen und damit auch steigende Gesamtkeimzahlen führten zu deutlich schlechteren Desinfektionsergebnissen. Offensichtlich sind durch die hohen DOC-Werte so viele Nebenreaktionen und Zerfallsreaktionen des Ozons möglich, dass eine Unterschreitung der Grenzwerte bei einem DOC-Wert von  $6 \text{ mgC/L}$  und bei dieser Parametereinstellung nicht mehr gewährleistet ist. Somit wird bei der Ozonung ein deutlicher Einfluss des DOC-Wertes und der Keimkonzentration festgestellt. Die nächste Versuchsreihe sollte klären, welchen Einfluss eine Verdopplung der Ongaskonzentration auf  $70 \text{ gO}_3/\text{Nm}^3$  hat. Dazu wurden Messdaten von Verweilzeiten von 0, 30, 60, 90 und 120 Minuten erfasst. Auch der Vergleich von Daten mit gleicher Ozondosis aber unterschiedlichen Verweilzeiten ist durch diese Messung möglich. Gleiche Ozondosen weisen die Versu-

che 60 Minuten (Abbildung 56) mit doppelter Dosierung mit den Versuchen bei 120 Minuten bei einfacher Dosierung (Abbildung 55) auf. Abbildung 56 zeigt die Ergebnisse des Versuchs mit doppelter Dosierung ( $70 \text{ gO}_3/\text{Nm}^3$ ).

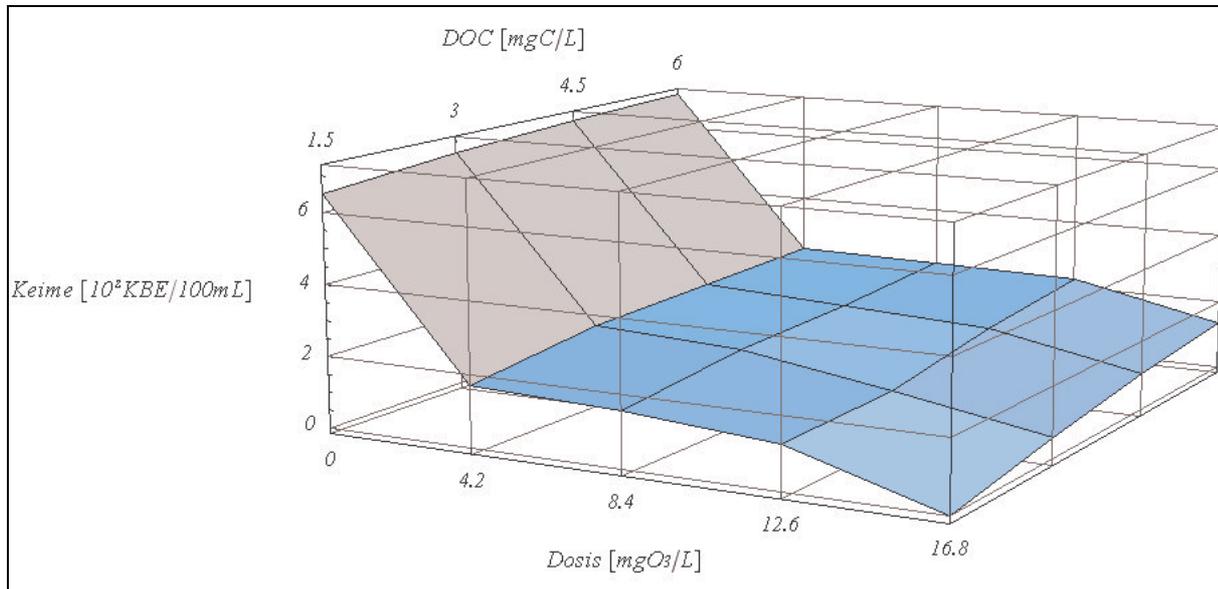


Abbildung 56: Keimzahlverlauf während einer Ozonbehandlung mit einer Ongaskonzentration von  $70 \text{ gO}_3/\text{Nm}^3$  in Abhängigkeit des DOC-Gehaltes und der Ozondosierung.

Mit steigender Ozondosis konnten erwartungsgemäß bessere Desinfektionsergebnisse erzielt werden. Auch die Verringerung der organischen Matrix hat eine positive Auswirkung auf die Desinfektionsleistung. Der Unterschied zu den Ergebnissen des vorherigen Versuchs besteht darin, dass auch bei hohen DOC-Konzentrationen und niedriger Dosierung relativ geringe Keimzahlen erzielt wurden. Bei einer schnellen bzw. doppelten Ozondosis ( $70 \text{ gO}_3/\text{Nm}^3$ ) konnten schon bei der geringsten Dosismenge von  $4,2 \text{ mgO}_3/\text{L}$  Werte auf einem sehr niedrigen Plateauwert von ca.  $10^2 \text{ KBE}/100 \text{ mL}$  erzielt werden. Diese Ozonmenge wird bei der geringen Dosierung ( $35 \text{ gO}_3/\text{Nm}^3$ ) erst nach 60 Minuten erreicht und führt mit ca.  $10^5 \text{ KBE}/100 \text{ mL}$  zu einem deutlich höheren Wert. Es zeigte sich auch hier, dass eine schnelle Ozondosis offensichtlich effektiver wirkt als eine langsame Ozondosis. Eine längere Verweilzeit bei gleicher Ozondosis weist somit bei diesen relativ widerstandsfähigen Keimen keine Vorteile auf. Die effektivere Keimabtötung bei schneller Dosierung könnte mit der Fähigkeit der Mikroorganismen zusammenhängen, einem geringen oxidativen Stress durch eine Agglomeration von Keimen begegnen zu können. Auch eine verstärkte Ozonzehrung durch Nebenreaktion mit der vorhandenen organischen Matrix ist denkbar und führt bei einer langsamen Dosierung zu einem uneffektiven Ozonverbrauch für die organische Matrix. Zu berücksichtigen ist auch, dass es sich bei dem Versuch im kontinuierlichen Betrieb angenähert um einen optimal durchmischten Reaktor handelt, bei dem sich sehr schnell einheitliche Bedingungen in allen Volumenelementen des Reaktors einstellen, vergleichbar mit dem Konzentrationsprofil eines Rührkessels. Im Idealfall herrscht in der Nähe des Zulaufs die gleiche Keimkonzentration wie am Ablauf. Bei dieser Betrachtung kann davon ausgegangen werden,

dass aufgrund der Verweilzeitverteilung der Keime im Reaktor einige davon nur kurzfristig mit Ozon in Berührung kommen. Offenbar muss die Ozonflüssigphasenkonzentration erst einen gewissen Schwellwert überschreiten, um eine schnelle effektive Zerstörung dieser Keime zu bewirken.

Bei gleicher Versuchsdurchführung mit einer DOC-Konzentration von 6 mgC/L mit *E. coli*-Keimen mit gleichgroßer Anzahl wie bei den *Bacillus atrophaeus* Keimen konnte schon nach einer Ozonflüssigphasenkonzentration von 1 mgO<sub>3</sub>/L kein *E. coli*-Keim pro 100 mL mehr nachgewiesen werden. Die Differenz der Ozonresistenzen zwischen diesen beiden Keimen ist enorm hoch. Möglicherweise lässt sich das auf die Gram-Eigenschaften und den damit verbundenen unterschiedlichen Zellwandaufbau zurückführen. Daher ist es auch von besonderem Interesse, wie sich die Biozönose bei einer Rückverkeimung nach einer Ozonungsbehandlung hauptsächlich zusammensetzt. Bei einer Rückverkeimung, bei der Gram negative Keime in großen Mengen anwachsen, reicht möglicherweise eine deutlich geringere Ozondosis, um das gespeicherte Wasser keimfrei zu halten. Bei Gram positiven Keimen wäre eine höhere Desinfektionsmittelmenge erforderlich. Hinweise auf eine vermehrte Rückverkeimung von Gram negativen Keimen ergab die in Kap. 4.1.6 durchgeführte FT-IR-Untersuchung einer Wasserprobe, bei der nach einer Ozonbehandlung und einer 96 stündigen Rückverkeimungsphase in der größten Verdünnungsstufe nur noch Gram negative Keime nachgewiesen werden konnten. Auch das Substratangebot<sup>131,132</sup> und eine dadurch abweichende biochemische Zusammensetzung der Keime haben Auswirkungen auf die Resistenzneigung unterschiedlicher Keime.

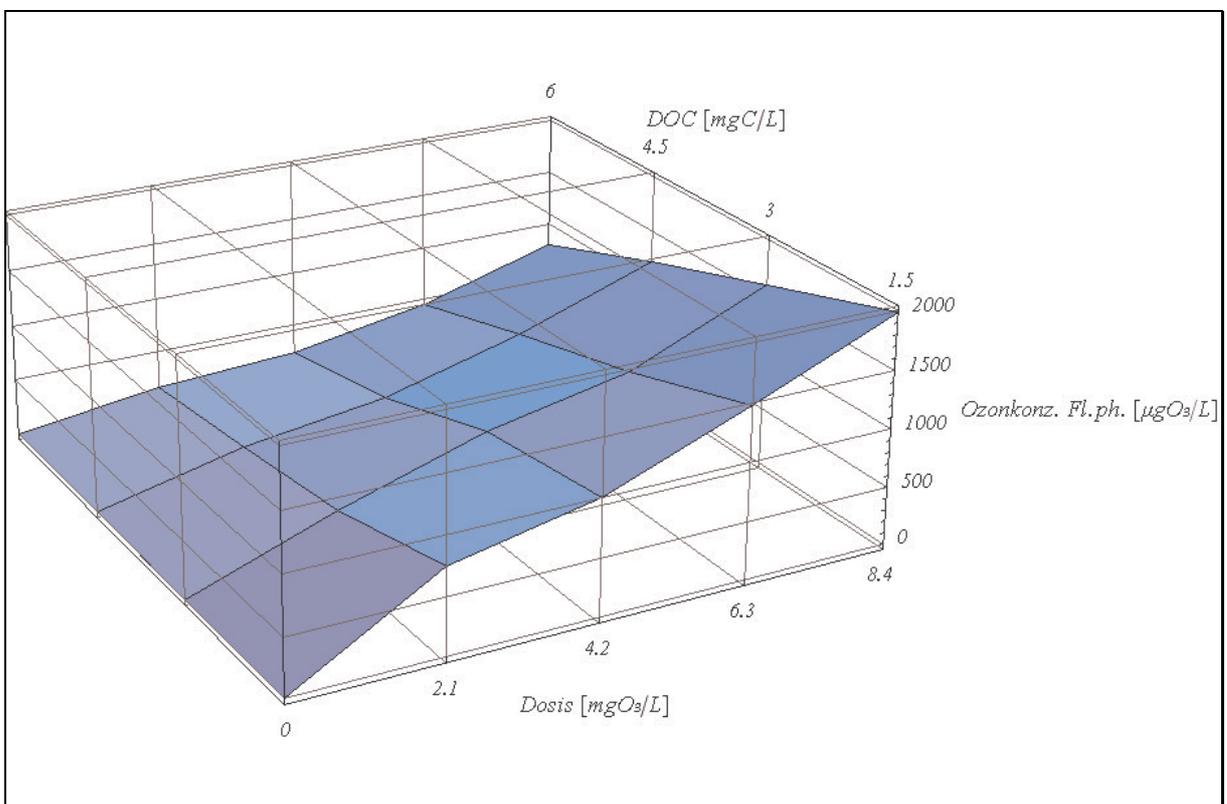


Abbildung 57: Ozonkonzentration in der Flüssigphase bei einer Ozondosierung von 0, 2,1, 4,2, 6,3 und 8,4 mgO<sub>3</sub>/L (entspricht Verweilzeiten von 0, 30, 60, 90 und 120 Minuten u. 35 gO<sub>3</sub>/Nm<sup>3</sup> im Ogasstrom) in Abhängigkeit des DOC-Gehaltes.

Abbildung 57 und Abbildung 58 zeigen die Konzentration des Ozons in der Flüssigphase nach entsprechender Zudosierung des Ozons (Abbildung 57 einfache Dosis  $35 \text{ gO}_3/\text{Nm}^3$  / Abbildung 58. doppelte Dosis  $70 \text{ gO}_3/\text{Nm}^3$ ) innerhalb von 120 Minuten in Abhängigkeit des DOC-Gehaltes. Diese Messergebnisse sind parallel zu den vorangegangenen Versuchen zur Abnahme der Keimzahlen durchgeführt worden.

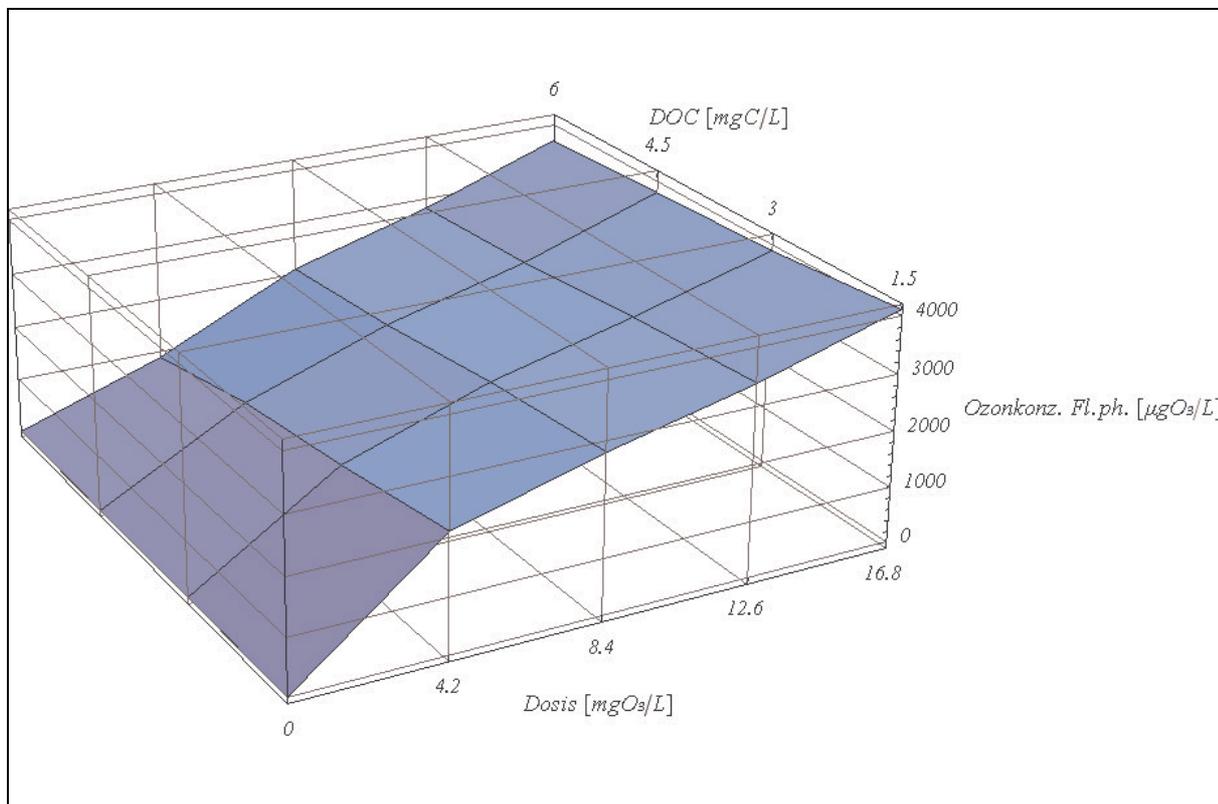


Abbildung 58: Ozonkonzentration in der Flüssigphase bei einer Ozondosierung von 0, 4,2, 8,4, 12,6 und 16,8  $\text{mgO}_3/\text{L}$  (entspricht Verweilzeiten von 0, 30, 60, 90 und 120 Minuten u.  $70 \text{ gO}_3/\text{Nm}^3$  im Ongasstrom) in Abhängigkeit des DOC-Gehaltes.

Die ursprüngliche Erwartung, dass eine längere Einwirkzeit, also eine doppelt so große Verweilzeit bei halber Ongaskonzentration, einen positiven Effekt auf die Desinfektionsleistung hat, konnte nicht bestätigt werden. Eine mögliche Erklärung ist die resultierende Konzentration an Ozon in der Flüssigphase bei steigender Ongaskonzentration. Bei der Betrachtung der Flüssigphasenkonzentration bei gleicher Ongasdosierung ist zu erkennen, dass sich bei langsamer Ozondosierung eine niedrigere Flüssigphasenkonzentration einstellt (verglichen werden die Werte 60 Minuten doppelte Dosierung mit 120 Minuten einfache Dosierung etc.). Dieser Effekt ist durch die Nebenreaktionen mit der organischen Matrix und mit Zerfallsreaktionen des Ozons zu erklären. Offensichtlich wird selbst bei diesen geringen DOC-Werten schon so viel Desinfektionsmittel durch Nebenreaktionen verbraucht, dass die verbleibende Ozonflüssigphasenkonzentration nicht ausreicht, um die Zellwand der Mikroorganismen effektiv zu zerstören.

Aus den Abbildungen 57 und 58 lässt sich Folgendes deutlich erkennen:

1. In allen Fällen gilt, dass mit zunehmender Verweilzeit und gleichbleibendem On-gasstrom eine zunehmende Ozonflüssigphasenkonzentration auftritt. Innerhalb von 120 Minuten konnte noch kein stationärer Zustand erreicht werden.
2. In den Abbildungen wird der Einfluss der Ozondosierung deutlich. Höhere Dosierungen bewirken erwartungsgemäß höhere Ozonflüssigphasenkonzentrationen. Allerdings führt die doppelte Ozondosierung nicht zu einer verdoppelten Ozonflüssigphasenkonzentration. Der Einfluss durch organische Inhaltsstoffe ist bei der geringen Dosierung so relevant, dass ein großer Teil des gelösten Ozons abreagiert und nicht mehr durch die Messung erfasst wird. Bei höheren Ozondosierungen ist dieser Anteil prozentual gesehen kleiner, so dass sich insgesamt ein überproportional großer Anstieg ergibt.
3. Es ist bei der einfachen Ozondosierung ( $35 \text{ gO}_3/\text{Nm}^3$ ) zu erkennen, dass die größte Ozonzehrung zu Beginn der Dosierung stattfindet. Nach längerer Ozonzugabe ist ein stärkerer Anstieg der Ozonflüssigphasenkonzentration zu erkennen. Das lässt sich auf die hohe Reaktionsgeschwindigkeit bei Ozonreaktionen zurückführen. Zu Beginn dominiert gerade bei den hohen DOC-Werten die Ozonzehrung und ein flacher Anstieg der gelösten Ozonkonzentration ist zu beobachten. Danach reichert sich das Ozon in der Flüssigphase an und anschließend findet eine Gleichgewichtseinstellung zwischen Ozonzufuhr, Ozonreaktion und Zerfall statt. Bei der einfachen Ozondosierung ( $35 \text{ gO}_3/\text{Nm}^3$ ) ist innerhalb des Diagramms noch keine Gleichgewichtseinstellung bzw. ein stationärer Zustand zu erkennen. Bei der doppelten Dosierung ( $70 \text{ gO}_3/\text{Nm}^3$ ) ist eine Verlangsamung des Anstiegs der Ozonflüssigphasenkonzentration schon nach 30 Minuten erkennbar. Die zugeführte und absorbierte Ozonmenge und die Reaktion mit der organischen Matrix, der Ozonzerfall und die Desorption des Ozons bewirken nach einem anfänglich steilen Anstieg der Ozonflüssigphasenkonzentration eine Abflachung des Anstiegs. Die Ozonflüssigphasenkonzentration nähert sich immer mehr einem Gleichgewicht an. Der Einfluss der organischen Matrix (DOC-Werte) ist bei der höheren Dosierung selbst bei den hohen DOC-Werten im Gegensatz zur einfachen Dosierung kaum noch zu erkennen.
4. Erwartungsgemäß steigt auch die Ozonzehrung durch steigende Organikgehalte im Wasser und führt zu geringeren Ozonflüssigphasenkonzentrationen. Ein Vergleich der unterschiedlichen Organikkonzentrationen bei gleicher Ozondosierung zeigt diesen Trend eindeutig auf.
5. Selbst geringe Organikkonzentrationen von maximal  $6 \text{ mgC/L}$  und Ozondosierungen bis  $10 \text{ mg/L}$ , die innerhalb der Grenzen der TVO liegen, können aufgrund der unterschiedlichen Ozonzehrung durch die organische Matrix zu sehr unterschiedlichen Ozonflüssigphasenkonzentrationen führen.
6. Die Restozonvernichtung zur Einhaltung der TVO-Grenzwerte muss schon bei diesen sehr unterschiedlichen Restmengen flexibel eingesetzt werden. Die Restozonvernichtung kann nur durch entsprechende Verweilzeiten und Zerfall des Ozons, durch Anre-

gung des Ozons durch UV-Licht oder durch eine Temperaturerhöhung erfolgen. Die Behandlung mit A-Kohle zur Senkung der Ozonwerte birgt das Risiko, dass sich auf der A-Kohle Mikroorganismen immobilisieren z.B. in Form eines Biofilms<sup>69</sup>. Darüber hinaus müsste eine Abtrennung der A-Kohle erfolgen, die apparativ aufwändiger ist. An dieser Stelle bietet sich eher die Behandlung mit einem UV-Niederdruckstrahler an, der für die Anregung und den Zerfall von Ozon geeignet ist. Zusätzlich ergibt sich dadurch eine weitere Barriere für Mikroorganismen in diesem System.

Als Fazit dieser kontinuierlichen Versuche kann festgehalten werden, dass ein möglichst niedriger DOC-Wert und eine schnelle Dosierung des Ozons die Desinfektionsleistung deutlich verbessert. Bei schneller Dosierung konnte bei diesen sehr widerstandsfähigen Keimen selbst bei hohen DOC-Werten eine ausreichende Desinfektionswirkung mit 4.2 mgO<sub>3</sub>/L erzielt werden. Die hohen Restmengen an Ozon in der Flüssigphase sind durch geeignete Maßnahmen beim Übergang in das Rohrleitungsnetz, spätestens aber vor der Entnahmestelle, effektiv zu senken. Allerdings bieten hohe Flüssigphasenkonzentrationen Schutz vor Rückverkeimungen sowohl im Rohrleitungsnetz als auch in Pufferspeichern. Es ist dabei nicht relevant, ob die Dosierung in einer Zulaufleitung durch eine Venturidüse oder direkt in den Reaktor in Form einer Blasensäule erfolgt.

## 4.7 Desinfektion durch eine kombinierte Ozon- und UV-Behandlung

Unter der Annahme, dass eine Permanentozonung zur Unterdrückung der Rückverkeimung im Vorratsbehälter durchgeführt wird, muss gewährleistet werden, dass die Ozonkonzentration an den Entnahmestellen unter den Grenzwert von 50 µgO<sub>3</sub>/L liegt. Zur Einhaltung der notwendigen Grenzwerte im Prozesswasser kommen grundsätzlich unterschiedliche Verfahren für die Restozonvernichtung in Frage. Ozon kann sowohl thermisch, mit Hilfe von A-Kohle als auch durch die Behandlung mit UV-C Licht entfernt werden.

Besonders gut eignet sich eine UV-Behandlung. Die Kombination einer Ozonisierung und nachträglichen UV-Behandlung hat den Vorteil, dass simultan die Restozonkonzentration und Restkeimkonzentration gesenkt werden kann. Der Einsatz von UV-Anlagen bietet gegenüber anderen Verfahren, wie z.B. thermischer Ozonzerstörung, mehrere Vorteile. Die UV-Behandlung ist ein sehr effizientes und kostengünstiges Verfahren, da das Absorptionsmaximum des Ozons (254 nm) sehr gut mit der wesentlichen UV-C-Emission von UV-Niederdruckstrahlern (254 nm) übereinstimmt.

Für die Restozonvernichtung können nach der Ozonungsanlage zur Desinfektion von Trink- und Prozesswasser UV-C-Niederdruckstrahler nachgeschaltet werden. Dabei reichen schon Bestrahlungsdosen von 100 mJ/cm<sup>2</sup> bis 200 mJ/cm<sup>2</sup>, um eine merkliche Ozonreduzierung zu erzielen. In diesem Bereich der Strahlungsdosis lassen sich auch Keime weitgehend reduzieren. Diese zusätzliche letzte Sicherheitsstufe gewährleistet bei einem Ausfall des Ozonungssystems schon eine weitgehende Desinfektionsleistung. Um diese These zu überprüfen, wurde

der kontinuierlich betriebenen Blasensäule ein Durchfluss-UV-Reaktor nachgeschaltet. Der Volumenstrom in beiden Reaktoren war identisch. Somit konnte gewährleistet werden, dass bei einer hohen Ozondosierung auch eine entsprechend hohe UV-Restozonvernichtung stattfindet. Mit dieser Versuchsreihe sind realistische Verhältnisse für einen routinemäßigen Dauerbetrieb gegeben. Es können Daten produziert werden, die eine sichere Auslegung von Anlagen gewährleisten.

Das Ziel dieser Versuchsreihe ist, eine optimale Verweilzeit zu ermitteln, die primär eine möglichst weitreichende Desinfektionsleistung bewirkt, sekundär aber auch die Restozonkonzentration soweit reduziert, dass eine möglichst schnelle Einsetzbarkeit des Wassers im Betrieb gewährleistet ist. Geringfügige Überschreitungen des Grenzwertes werden im Verlauf der Durchleitung durch ein Rohrleitungsnetz sehr schnell durch oxidative Prozesse und Zerfall des Ozons abgebaut und tragen dort zur Zerstörung möglicherweise vorhandener Biofilme bei.

Im kontinuierlichen Betrieb wurde dazu neben den erzielten Keimzahlreduktionen auch die Ozonkonzentration nach der UV-Bestrahlung erfasst. Die Abbildung 59 und die Abbildung 60 zeigen die Ergebnisse der Desinfektionsversuche (Keimzahlreduktion) mit unterschiedlich hohen Ozon- und UV-Dosen bei variablen DOC-Werten. Die Abbildung 61 und Abbildung 62 zeigen die Ozonflüssigphasenkonzentration nach der UV-Bestrahlung in Abhängigkeit der Ozon + UV-Dosis und des DOC-Wertes. Bei geringen Verweilzeiten im kontinuierlich betriebenen Blasensäulenreaktor werden hohe Volumenströme durch die Anlage geleitet. Somit wird bei geringen Verweilzeiten auch nur entsprechend wenig Ozon dosiert. Die Verweilzeit im UV-Reaktor zur Restozonreduktion kann dann dementsprechend kurz gehalten werden. Bei dem eingestellten Volumenstrom entspricht eine Verweilzeit von 30 Minuten im Blasensäulenreaktor bei der gewählten Anlagenkonzeption einer UV-Dosis der nachgeschalteten UV-Anlage von 216 mJ/cm<sup>2</sup>, entsprechend 432 mJ/cm<sup>2</sup> bei 60 Minuten, 648 mJ/cm<sup>2</sup> bei 90 Minuten und 864 mJ/cm<sup>2</sup> bei 120 Minuten. Grundsätzlich gilt bei dieser Darstellung, dass bei geringer Verweilzeit folglich auch eine geringere Ozonflüssigphasenkonzentration im Blasensäulenreaktor vorliegt. Je nach Ozondosierung differieren aber auch diese Werte wegen der Ozonzehrung der organischen Inhaltsstoffe stark. Prinzipiell dient die Untersuchung der gelösten Ozonkonzentration nach der UV-Behandlung lediglich der Abschätzung, wie die Verfahrensschritte optimal aufeinander abgestimmt werden können. Ziel ist die sichere Keimreduzierung und die bedenkenlose Verwendung des Wassers nach Dosierung des Oxidationsmittels Ozon.

Abbildung 59 zeigt den Keimzahlverlauf während einer kombinierten Behandlung von Ozon und UV-Licht. Definitionsgemäß sind Befunde, bei denen kein Keim pro 100 mL nachgewiesen worden sind, in dieser logarithmischen Darstellung als  $< 10^0$  ( $10^0=1$ ) dargestellt. Es kann aber nicht ausgeschlossen werden, dass in 1000 mL noch Keime auffindbar sind. Um eine dreidimensionale Darstellung zu ermöglichen, wurden in den folgenden Abbildungen diese Werte definitionsgemäß auf den Wert 0,1 gesetzt.

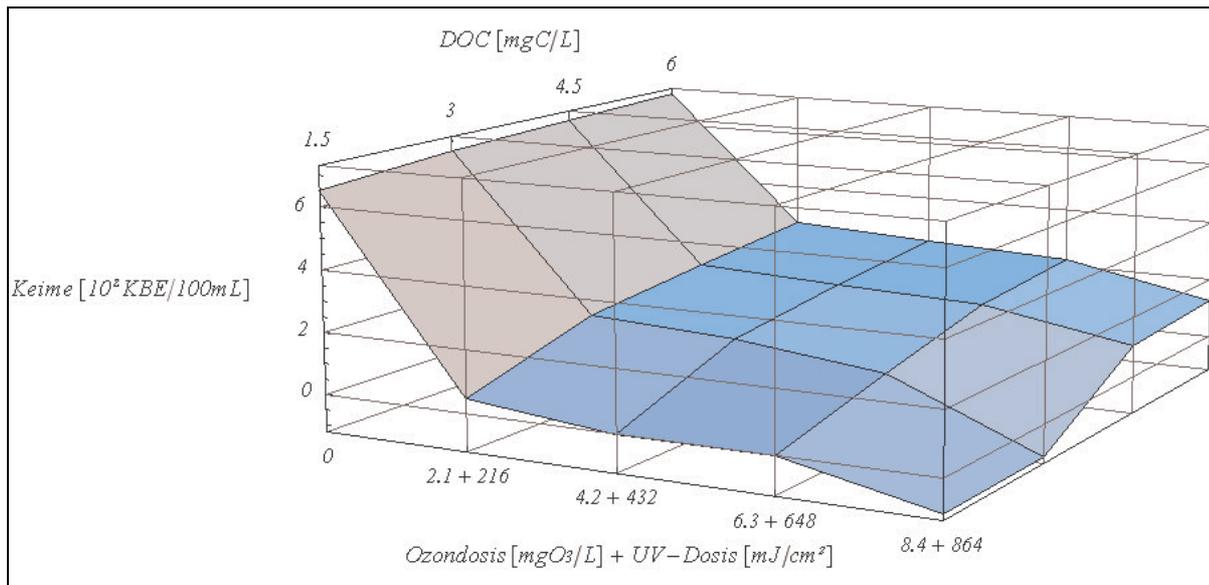


Abbildung 59: Keimzahlverlauf während einer kombinierten Behandlung mit Ozon + UV-Licht in Abhängigkeit der Ozon- und UV-Dosis und des DOC-Gehaltes (einfache Ozondosierung + einfache UV-Dosis)

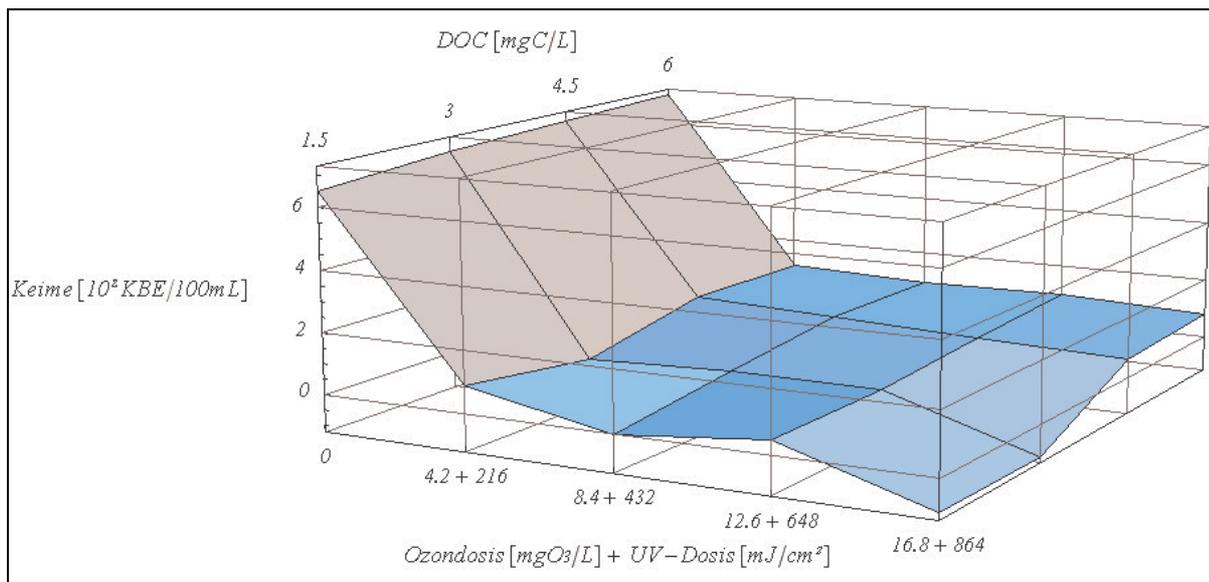


Abbildung 60: Keimzahlverlauf während einer kombinierten Behandlung mit Ozon + UV-Licht in Abhängigkeit der Ozon- und UV-Dosis und des DOC-Gehaltes (doppelte Ozondosierung + einfache UV-Dosis)

Es zeigte sich, dass eine kombinierte Behandlung von Ozon (einfache Dosis) und UV-Licht im kompletten Bereich der DOC-Werte gegenüber einer reinen UV-Behandlung (siehe Abbildung 43) bzw. einer reinen Ozonbehandlung (siehe Abbildung 55) noch eine deutliche Verbesserung liefert. Zum Teil konnten gar keine oder nur noch wenige Keime/100 mL nachgewiesen werden. Es zeigte sich aber auch, dass bei den hohen DOC-Werten und geringen Ozon- + UV-Dosierungen (Ozondosis + UV-Dosis: 2,1  $\text{mgO}_3/\text{L}$  + 216  $\text{mJ}/\text{cm}^2$ ) noch bis zu 450 KBE/100 mL gefunden werden. Im Vergleich dazu konnte ein Wert von 710 KBE/100

mL bei einer reinen UV-Behandlung und ca.  $10^6$  KBE/100 mL bei einer reinen Ozonbehandlung ermittelt werden. Bei einer doppelt so hohen Ozondosierung (siehe Abbildung 60) ist eine Reduzierung der Keimzahlen bei den hohen DOC-Werten und niedrigen Desinfektionsdosen sogar auf Werte von maximal 13 KBE/100 mL möglich. In einigen Fällen konnten gar keine Keime mehr nachgewiesen werden. Bei der reinen UV-Behandlung konnte im Gegensatz zur Kombinationsbehandlung durch eine deutliche Steigerung der Dosis nur noch ein geringer Verbesserungseffekt erzielt werden. Vorteilhaft beim zusätzlichen Einsatz von Ozon ist auch die oxidative Zerstörung der Keime und der desodorierende Effekt.

Die Abbildung 61 und die Abbildung 62 zeigen die Ozonflüssigphasenkonzentrationen nach der Ozondosierung und der zusätzlichen UV-Behandlung.

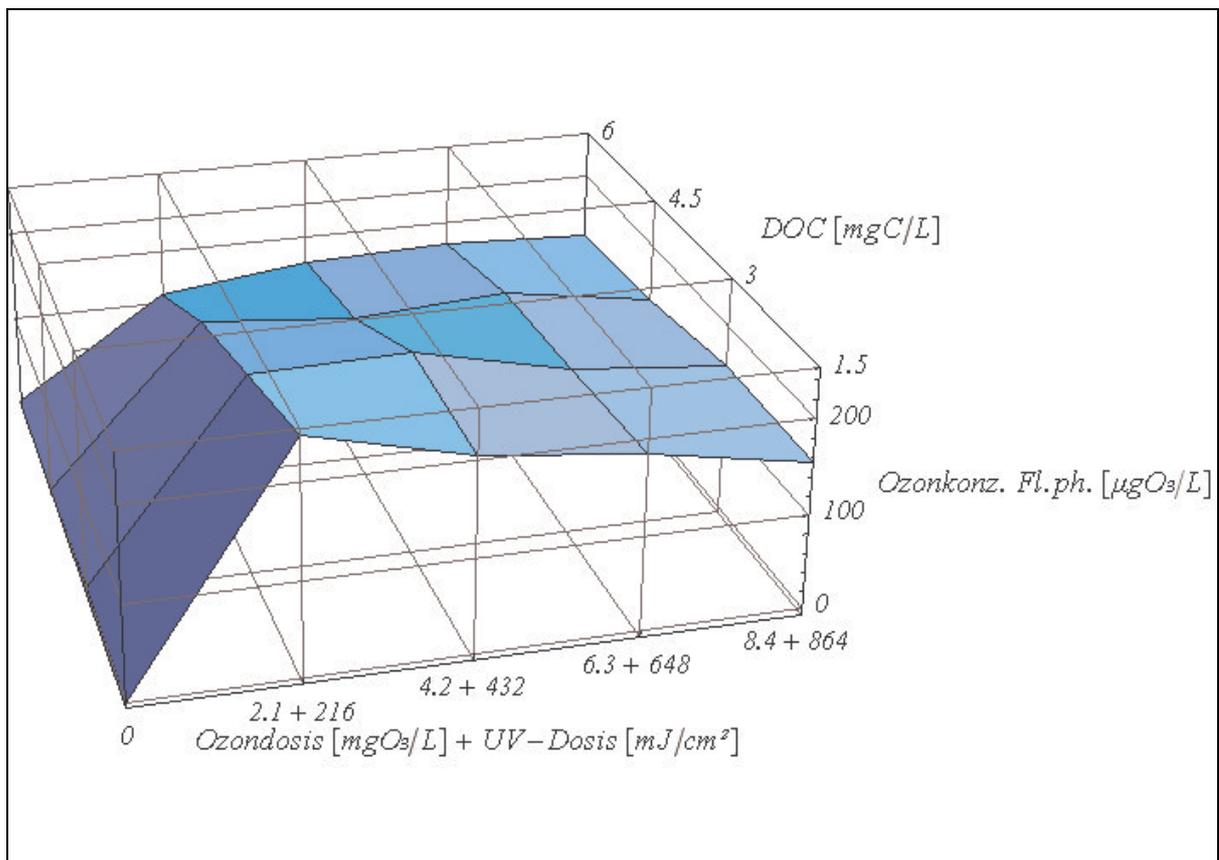


Abbildung 61: Ozonkonzentration in der Flüssigphase nach einer einfachen Ozondosierung ( $35 \text{ gO}_3/\text{Nm}^3$ ) und einer anschließenden UV-Behandlung

Abbildung 61 zeigt, dass bei der einfachen Ozondosierung alle Werte auf etwa 100-250  $\mu\text{gO}_3/\text{L}$  abgesenkt werden konnten. Die UV-Dosis ist durch die verwendeten Volumenströme und den UV-Reaktor festgelegt und könnte nur durch einen zusätzlichen UV-Reaktor vergrößert werden, mit dem eine noch weitergehende Absenkung der Ozonrestmengen möglich ist. Da die Halbwertszeit des Ozons im wässrigen Medium bei etwa 20 Minuten liegt, ist schon nach kurzer Verweilzeit im Rohrleitungsnetz mit einer ausreichenden Reduzierung unter den Grenzwert von  $50 \mu\text{gO}_3/\text{L}$  zu rechnen. Zusätzlich finden im bewegten Zustand des Wassers noch eine Desorption des Ozons sowie Zerfallsreaktionen und Reaktionen mit der organischen Matrix statt. Diese Effekte bewirken auch schon auf dem etwa 1,5 m langen Weg zum UV-

Reaktor eine Abnahme der Ozonkonzentration. Es ist davon auszugehen, dass die UV-Strahlung nicht ausschließlich die komplette Reduzierung verursacht, sondern mehrere Effekte additiv wirken. Außerdem kann durch eine geringe Menge Ozon im Leitungsnetz die Bildung bzw. eine Zerstörung eines vorhandenen Biofilms bewirkt werden.

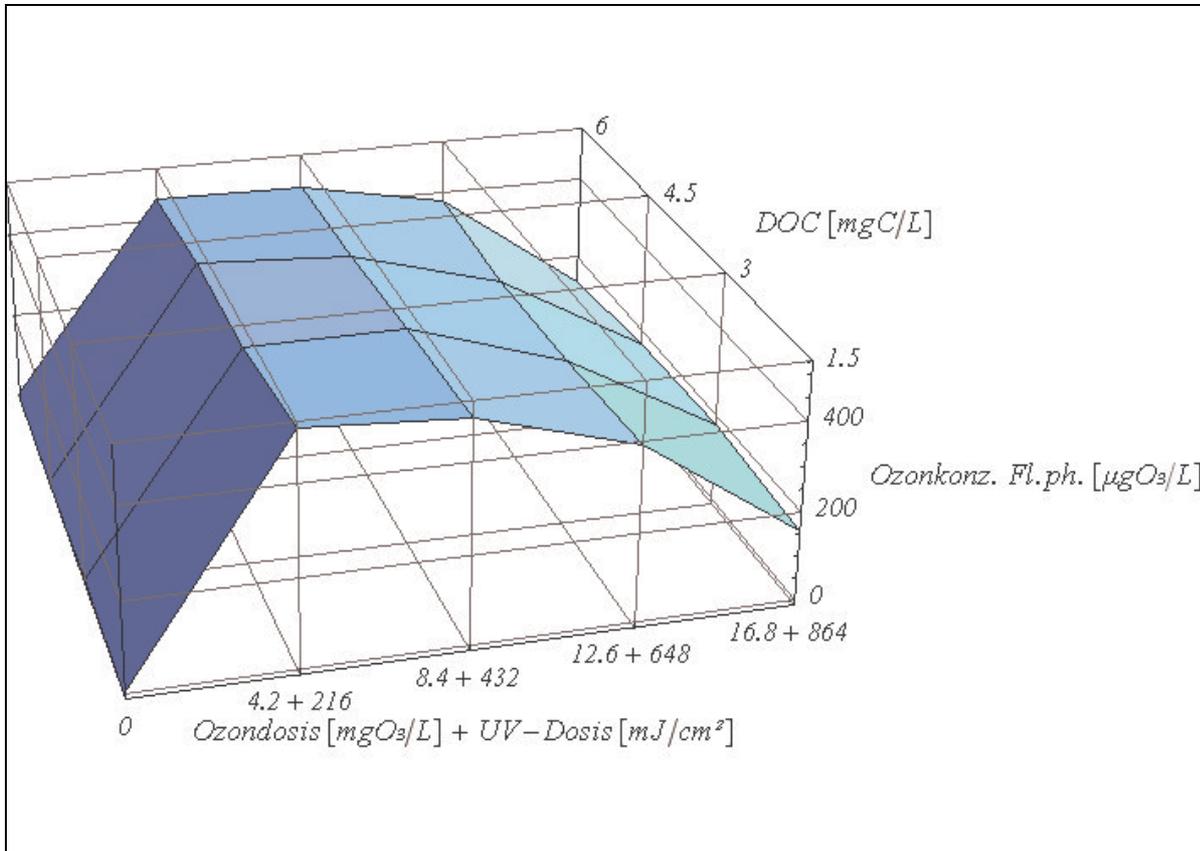


Abbildung 62: Ozonkonzentration in der Flüssigphase nach einer doppelten Ozondosierung ( $70 \text{ gO}_3/\text{Nm}^3$ ) und einer anschließenden UV-Behandlung

Abbildung 62 zeigt die Werte, die nach der doppelten Ozondosierung und der gleichen UV-Behandlung wie in Abbildung 61 entstanden sind. Ausgehend von höheren gelösten Ozonmengen durch die doppelte Dosierung ergeben sich auch deutlich höhere Restozonkonzentrationen nach der UV-Behandlung. Die Werte liegen zwischen etwa  $150\text{--}500 \mu\text{gO}_3/\text{L}$ . Der Verlauf der Werte kann folgendermaßen erklärt werden. Hilfreich bei der Betrachtung dieser Werte ist die Einbeziehung der Darstellung der Ozondosen nach der Ozonbehandlung im vorangehenden Kapitel 4.6.7. Mit steigender Ozondosierung konnten auch steigende Ozonflüssigphasenkonzentrationen nachgewiesen werden. Bei höheren DOC-Konzentrationen fielen die Werte durch die Ozonzehrung leicht ab. Dieser Effekt wird aber durch die ansteigenden UV-Bestrahlungsdosen deutlich überkompensiert, so dass in allen DOC-Bereichen nach einem Anstieg ein Maximum durchlaufen wird und die Ozonflüssigphasenkonzentration bei den höchsten Bestrahlungsdosen bis auf Werte unter  $200 \mu\text{gO}_3/\text{L}$  abfällt. Es ist auch hier wieder davon auszugehen, dass nicht die UV-Strahlung ausschließlich die komplette Reduzierung verursacht, sondern mehrere Effekte additiv wirken, insbesondere Desorptions- und zeitlich bedingte Zerfallsreaktionen in der Leitung zum UV-Reaktor. Aber der Einfluss des UV-Lichtes ist deutlich stärker ausgeprägt als in der Abbildung 61 dargestellt.

Hohe Bestrahlungsdosen bewirken erwartungsgemäß eine deutlich stärkere Abnahme der Ozonflüssigphasenkonzentration. Bei hohen Bestrahlungsdosen von  $864 \text{ mJ/cm}^2$  kann die Ozonkonzentration auch bei hohen Ausgangswerten so stark reduziert werden, dass der Ozongrenzwert nur unwesentlich überschritten wird. Zu berücksichtigen sind auch hier immer noch die zu erwartenden zusätzlichen Reduktionen in einem Rohrleitungsnetz. Die Bestrahlungsdosis von  $216 \text{ mJ/cm}^2$  reicht bei hohen Ozonflüssigphasenkonzentrationen von deutlich über  $1000 \mu\text{gO}_3/\text{L}$  nicht aus, um eine ausreichende Reduzierung der Restozonwerte zu gewährleisten. Geringere Ausgangswerte von unter  $800 \mu\text{gO}_3/\text{L}$  können allerdings ausreichend gesenkt werden, so dass eine gefahrlose Einspeisung in ein Rohrleitungsnetz möglich ist. Somit gilt für Wässer mit geringen organischen Belastungen, die nach der Ozonbehandlung noch Ozonrestkonzentrationen von  $2\text{-}4 \text{ mgO}_3/\text{L}$  aufweisen, dass mindestens eine Bestrahlungsdosis von  $800\text{-}1000 \text{ mJ/cm}^2$  zur weitgehenden Reduzierung der Restozonmengen verwendet werden sollte. Dieser Wert ergibt sich aus der erfolgreichen Reduktion der Restozonkonzentration bei der höchsten eingesetzten Bestrahlungsdosis und der höchsten Ozondosierung von  $16,8 \text{ mgO}_3/\text{L}$ . Mit zunehmender Bestrahlungsdosis nimmt die Ozonflüssigphasenkonzentration gemäß Abbildung 62 gegenüber den ursprünglichen Werten nach der Ozondosierung sehr stark ab (siehe Kapitel 4.6.7, Abbildung 58).

Zusammenfassend kann für die beiden unterschiedlichen Ozondosismengen festgehalten werden, dass bei der einfachen Ozondosierung in allen Fällen eine akzeptable Absenkung der Ozonkonzentrationen in der Flüssigphase erzielt werden kann. Bei der doppelten Ozondosierung reicht die UV-Kapazität im mittleren Bereich nicht vollständig aus. Daher müsste bei der Wahl dieser Verfahrensparameter durch erhöhte UV-Bestrahlungsdosen die Ozonflüssigphasenkonzentration auf mindestens die Hälfte abgesenkt werden, um einen sicheren Betrieb zu gewährleisten. Das kann durch die Verdopplung der Bestrahlungsdosis erfolgen. Für die Restozonreduzierung ist der DOC-Wert bei diesen Parametereinstellungen nicht von entscheidender Bedeutung.

Entscheidend ist aber, dass die Kombination der beiden Verfahren zu deutlichen Optimierungseffekten hinsichtlich der Desinfektionseffizienz und der Restozonreduktion führen. Am auffälligsten sind die Vorteile im Bereich der geringen Ozondosierung, da dort die organische Matrix besonders starke Ozonzehrungen bewirkt und somit die optimale Keimreduktion einschränkt. Unter ökonomischen Aspekten ist der möglichst geringfügige Einsatz von Oxidationsmittel und Strahlerleistung zu bevorzugen. Die zusätzliche UV-Behandlung mit geringer Dosis stellt eine weitere Barriere für Keime und für die Restozonreduzierung dar. Aber auch bei höheren Verweilzeiten sind unter dem Aspekt der Restozonreduzierung alle Betriebspunkte als weitgehend sicher einzuschätzen. Ein kleiner Pufferspeicher oder Desorber zur Reduktion der Restozonkonzentration vor der Rohrleitungseinspeisung oder der Entnahmestelle wäre als letzte Maßnahme ebenfalls noch denkbar.

Unter dem Aspekt eines absolut sicheren Zweibarrieresystems, in dem schon jede Stufe für sich allein eine ausreichende Desinfektion gewährleistet, muss bei schwankenden Organikkonzentrationen im Routinebetrieb die höhere Ozondosierung angewandt werden und im Zweifelsfall eine permanente UV-Dosierung von wenigstens  $600\text{-}800 \text{ mJ/cm}^2$  zur ausreichen-

den Restozonreduzierung gewährleistet sein. Grundsätzlich lassen sich natürlich durch Maximaldosen auch etwas bessere Ergebnisse bei der Entkeimung erzielen. Wird zusätzlich noch die Möglichkeit der Rückverkeimung und der exponentielle Anstieg beim Wachstumsverhalten betrachtet, können Reduzierungen der Keimzahl auf möglichst geringe Werte zum Teil eine deutliche Verzögerung der Rückverkeimung bewirken.

## 4.8 Rückverkeimung

Für ein erfolgreiches Desinfektionskonzept muss auch die längerfristige Wirkung der Desinfektionsmaßnahme betrachtet werden. Diese so genannte Depotwirkung wird in der Regel im Rohrleitungsnetz bei der Trinkwasserversorgung durch Zugabe von geringen Mengen  $\text{ClO}_2$  oder freiem Chlor gewährleistet<sup>133</sup>. Die Anwendung von chlorhaltigen Produkten sollte aber bei diesem Verfahren (Einsatz des recycelten Wassers für die Lebensmittelherstellung) nach Möglichkeit vermieden werden. Die Chlorung von Wasser führt zur Bildung vieler flüchtiger chlororganischer Verbindungen, die durch Reaktionen von Chlor mit organischem Material im Wasser entstehen. Bekannte Nebenprodukte bzw. Trinkwasserchlorierungsprodukte sind Trihalomethane (THM) einschließlich Chloroform und Chloramin. Die exakte Zuordnung der chlorierten Nebenprodukte im Wasser zu erhöhten Krebsrisiken ist noch nicht erfolgt. In Tierstudien konnten Hinweise auf die Bedeutung dieser organischen Nebenprodukte der Wasserchlorung (THM's) gefunden werden<sup>134,135,136,137,138</sup>. Da in diesem Fall das recycelte Wasser über eine kurze Transportstrecke wieder im Betrieb eingesetzt werden soll, kann durch bauliche Maßnahmen und eine optimierte Verfahrensführung (z.B. Ringleitungssystem) die Verweilzeit im Leitungsnetz minimiert werden, so dass keine extrem lang anhaltende Depotwirkung und damit der Einsatz von Chlorprodukten erforderlich ist.

Eine erhöhte Neubildung kanzerogener Bromate aus Bromid durch den Einsatz von Chlorprodukten oder Ozon<sup>139</sup> kann in diesem Fall aufgrund des Einsatzes der entsalzenden Wirkung des Umkehrosmoseverfahrens ausgeschlossen werden. Es sollte daher bei erhöhten Bromidwerten im Abwasser darauf geachtet werden, dass eine Chlorung oder Ozonung erst nach Abtrennung der Salzfracht erfolgt.

In einfachen Laborversuchen konnte das Phänomen der Rückverkeimung auch bei den mit Ozon bzw. UV desinfizierten Proben festgestellt werden. Eine Rückverkeimung ließ sich selbst bei Proben, die sich in autoklaviertem Glasmaterial befanden, in größerem Umfang nachweisen. Diese Rückverkeimungen sind möglicherweise auf Reparaturmechanismen oder vereinzelt noch vorhandene Keime zurückzuführen, die sich nach einer kurzen Anpassungsphase exponentiell vermehren. Eine deutliche Beschleunigung des Prozesses war durch zusätzliche Kohlenstoffquellen, wie sie z.B. in Schlauchmaterial oder anderen Kunststoffen zu finden sind, zu beobachten. Allerdings bietet die Restorganik, die nach einem Membranprozess im Permeat verbleibt, schon eine ausreichende Kohlenstoffquelle. Da für die Geschwindigkeit der Rückverkeimung unter anderem die Konzentration an verwertbarer organischer Matrix (Substrat) relevant ist, trägt die Reduzierung der organischen Matrix zur Stabilisierung

des desinfizierten Wassers bei. Darüber hinaus lässt sich auch kein vollständig abgeschlossenes System implementieren, so dass ein Eindringen von Keimen nicht völlig ausgeschlossen werden kann. Oxidative Desinfektionsmaßnahmen, die die organische Matrix nicht ausreichend bis zum Kohlendioxid umsetzen, können zusätzlich zur Erhöhung der Substratverfügbarkeit beitragen (siehe Kapitel 2.4.2.2). Die dort angesprochene zusätzliche Aktivkohlebehandlung könnte eine signifikante Absenkung der AOC-Werte bewirken und somit eine schnelle und hohe Rückverkeimung begrenzen.

In den folgenden Kapiteln werden mehrere Aspekte der Rückverkeimung untersucht:

- Rückverkeimung nach einer Ozonbehandlung von Realwasserproben
- Resistenzneigung nach wiederholter Ozonbehandlung von Realwasserproben
- Einfluss der unterschiedlichen Behandlungsmethoden auf die Rückverkeimung von Modellwässern.

#### 4.8.1 Rückverkeimung von Realproben

Bei dieser Versuchsreihe wurden insgesamt drei unterschiedliche Proben bei 22 °C und 36 °C auf einem Hefeextraktnährboden nach TVO-Vorgaben auf die Gesamtkeimzahl untersucht. Es handelte sich dabei um eine unbehandelte Realprobe des Lebensmittel verarbeitenden Betriebes, die nach der UO-Filtration 24 h gekühlt worden ist. Eine UO-Permeatprobe wurde mit einer Dosis von 2,5 mgO<sub>3</sub>/L innerhalb von 150 Sekunden behandelt (Behandlung 1) und eine Permeatprobe wurde mit einer Dosis von 5 mgO<sub>3</sub>/L innerhalb von 300 Sekunden behandelt (Behandlung 2). Die Proben wurden anschließend bei 22 °C in dicht verschlossenen autoklavierten Glasgefäßen temperiert. Die Proben wurden nach einem Tag (24 h), nach drei Tagen (72 h) und nach 6 Tagen (144 h) untersucht.

In Voruntersuchungen und aus der Literatur<sup>126</sup> ist bekannt, dass die wesentliche Wachstumsphase bei vielen Bakterien in den ersten 24-48 Stunden zu erwarten ist. Das Wachstum lässt sich somit voraussichtlich auch bei diesen geringen Mengen an organischer Matrix mit einem exponentiellen Anstieg und einer Plateauphase beschreiben.

In Abbildung 63 sind die Gesamtkeimzahlen (KBE/100mL) gegen die Inkubationszeit der jeweiligen Probe aufgetragen. Es wurden von jeder Probe jeweils die Gesamtkeimzahlen bei 22 °C und 36 °C erfasst.

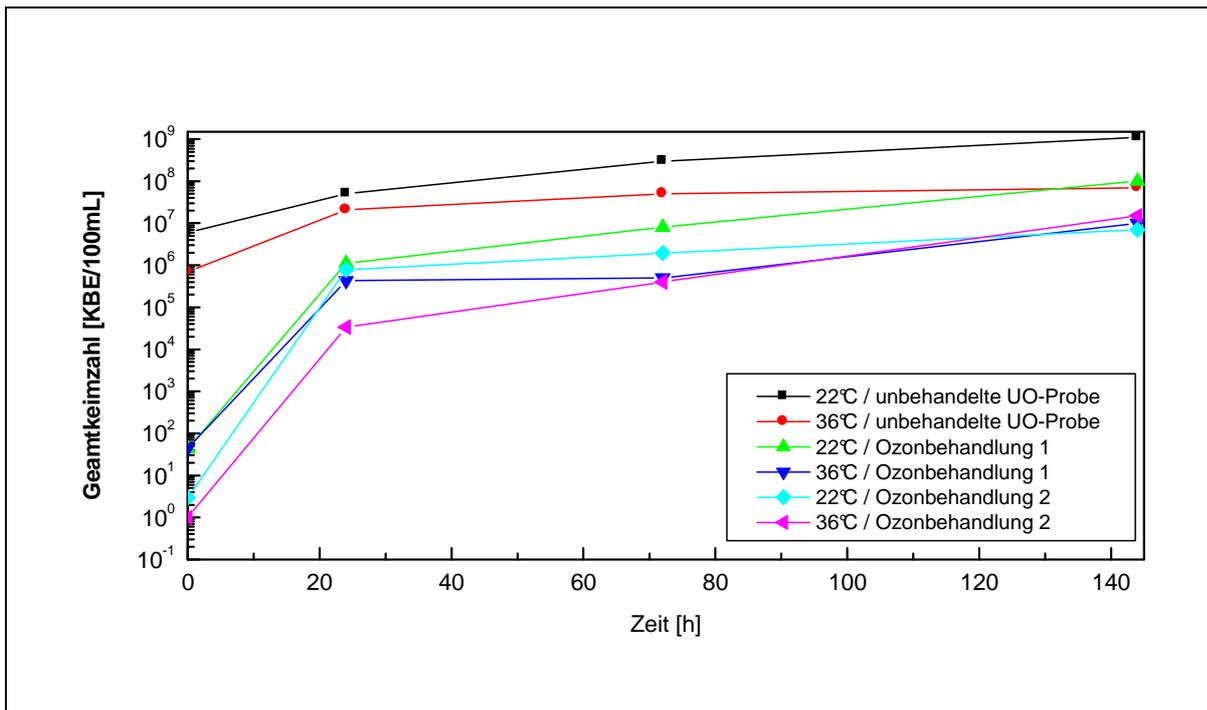


Abbildung 63: Einfluss unterschiedlich intensiver Ozonbehandlungen auf die Rückverkeimung des UO-Filtrates.

Abbildung 63 zeigt, dass die Ozonbehandlung der Realproben zu sehr niedrigen Mengen an vermehrungsfähigen Keimen führt. Es handelt sich bei dieser Versuchsreihe um drei unterschiedliche Proben, die auf zwei Hefeextrakt-Nährböden bei 22 °C und 36 °C inkubiert wurden. Im Vergleich zu den Ozonbehandlungen der sehr resistenten Modellkeime (siehe Abbildung 55 und Abbildung 56), konnte mit den gleichen Ozondosen eine stärkere Abnahme der vermehrungsfähigen Keime bei den Realproben erzielt werden. Das ist an den Startwerten bei der Rückverkeimung der behandelten Realproben in Abbildung 63 zu erkennen.

Es zeigte sich, dass die Realproben, die nach der UO-Filtration entnommen und 24 h auf ca. 3-4 °C gekühlt wurden, nach einer Inkubationszeit von 24 h bei 22°C noch deutlich stärker verkeimen. Die Gesamtkeimzahl der UO-Filtrate stieg noch mal über den gesamten Zeitraum von 144 h um 1-2 Logarithmusstufen an, obwohl der Startwert dieser Probe schon einen relativ hohen Wert von etwa  $10^6$ - $10^7$  KBE/100mL aufwies. Ähnlich hohe Werte konnten bei anderen Realproben nach 72 Stunden bei 22°C auch nachgewiesen werden, die geringere Startwerte aufwiesen. Bei etwa  $10^8$  KBE/100mL scheint bei den Realproben ein Plateauwert erreicht zu sein.

Aber schon innerhalb der ersten 24 Stunden kann davon ausgegangen werden, dass eine merkliche Rückverkeimung trotz der Kühlung stattgefunden hat. Bis die Proben, die bei der Probennahme zum Teil noch über 35 °C aufwiesen, auf ihre Transporttemperatur von 3-4 °C abgesenkt worden waren, konnte schon eine deutliche Keimzahlerhöhung stattgefunden haben. Das Gleiche kann auch während der Kühlphase selbst angenommen werden. Es fiel bei gekühlten Proben immer wieder auf, dass sie trotz niedriger Temperaturen erkennbare Keimzahlerhöhungen über die Zeit von 1-2 Tagen aufwiesen.

Die in dieser Versuchsreihe ozonisierten Realproben wiesen direkt nach der Ozonbehandlung sehr geringe Keimzahlen auf. Die Werte liegen deutlich unter den von der TVO geforderten, maximal tolerierbaren Konzentrationen. Aber nach spätestens 3 Tagen wiesen die Proben wieder ähnlich hohe Werte auf wie die unbehandelten Realproben.

Die qualitative Zusammensetzung der Biozönose hatte sich dabei aber deutlich verändert. In den untersuchten unbehandelten Realproben (UO-Permeate) konnten schon durch visuelle Prüfung der Nährböden auf eine Vielzahl unterschiedlicher Keime geschlossen werden. FT-IR-Untersuchungen bestätigten diesen Befund. Ozonisierte und rückverkeimte Proben wiesen in den höchsten Verdünnungsstufen nur noch maximal 1-2 unterschiedliche Keime auf. Auf den Nährböden und durch vergleichende FT-IR-Untersuchungen wurde ersichtlich, dass sich meistens immer nur eine oder gelegentlich noch eine zweite Keimart dominant durchsetzte und auch in den entsprechenden hohen Verdünnungsstufen nachzuweisen war. Nur sehr schnell wachsende, stark angepasste Keime konnten sich nach der Ozonbehandlung stark vermehren. Selten vorkommende Keime können teilweise durch sehr häufig vorkommende Keime auf den Nährböden überwachsen werden, deshalb ist ihre Identifizierung nicht möglich.

Insgesamt ist die hygienische Stabilität des Wassers, trotz der geringen Restmenge an organisch verfügbaren Verbindungen (AOC bzw. Substrat), ohne weitere Behandlungsmaßnahmen als instabil anzusehen, so dass die Verwendung entweder nur innerhalb sehr kurzer Zeiträume nach der Desinfektion zu empfehlen ist oder eine Permanent- oder Intervallozonung nach spätestens zwölf Stunden eingeleitet werden sollte. Für ein größeres Rohrleitungsnetz sollte zudem eine weitergehende Maßnahme mit längerer Depotwirkung in Betracht gezogen werden, wie sie üblicherweise nach der TVO vorgesehen ist. Allerdings sind solche Maßnahmen auch bei anderen Trinkwasserversorgungsnetzen, die aus anderen üblichen Trinkwasseraufbereitungsquellen gespeist werden, erforderlich.

#### **4.8.2 Untersuchung der Resistenzbildung durch wiederholte Ozonbehandlung von Realwasser**

Die Untersuchung der UO-Filtratproben ergab, dass eine Vielzahl an unterschiedlichen Keimen in den Proben vorlag. Häufig werden sowohl bei der Desinfektion mit UV-Strahlung als auch bei der Desinfektion mit chemischen Desinfektionsmitteln sehr unterschiedliche Desinfektionsraten bei unterschiedlichen Keimen angegeben. Somit verändert sich bei einer Desinfektion die Zusammensetzung der Biozönose. Weniger resistente Keime werden vermehrt oder komplett abgetötet und resistenter Keime sind je nach eingesetzter Desinfektionsmittelmenge auch nach einer Behandlung in größeren Mengen noch aufzufinden. Daher könnte bei einer Rückverkeimung der Fall eintreten, dass vermehrt resistenter Keime ausgebildet werden und sich die Zusammensetzung der Biozönose so stark verändert, dass die vorab angewandten Parameter nicht mehr zu einer ausreichenden Desinfektion führen. Daher wurden die Ozonungsversuche mehrfach mit bereits behandeltem Realwasserproben durchgeführt, um zu überprüfen, ob dieser Effekt zu einem höheren Desinfektionsmittelbedarf führt. Um den

Analysenaufwand bei den drei Wiederholungsozonbehandlungen (insgesamt 4 Behandlungen) zu minimieren, wurden immer dieselben Parameterwerte eingestellt. Damit lässt sich dann für die Desinfektionsrate gerade im Bereich der geringen Keimkonzentration ein Vergleich der Desinfektionswirkung erzielen. Aus den Rückverkeimungsversuchen eines UO-Permeates in Abbildung 63 ist ersichtlich, dass die exponentielle Keimvermehrung nach drei Tagen beendet ist und sich ein Plateauwert einstellt. Daher wurde zwischen den jeweiligen Wiederholungsbearbeitungen die gesamte Probe für 96 Stunden im Reaktor zur Rückverkeimung belassen. Für die Versuchsreihe wurde eine reale Probe verwendet und zwar das Permeat der UO-Stufe. Diese Probe wurde viermalig einer identischen Ozonbehandlung im 5 L-Semibatchreaktor (Blasensäule) unterzogen. Es wurde jeweils eine Gesamtdosis von 2,5 mgO<sub>3</sub>/L über einen Zeitraum von 150 Sekunden zudosiert und die Probe zur Analyse nach 10 Minuten dem Reaktor entnommen, so dass in jedem Fall eine ausreichende Desinfektionszeit nach den Ozonstößen eingehalten wurde. Untersucht wurden die Proben auf die Gesamtkeimzahl bei 22 °C und 36 °C, *E. coli*, Enterokokken und *Clostridium perfringens*.

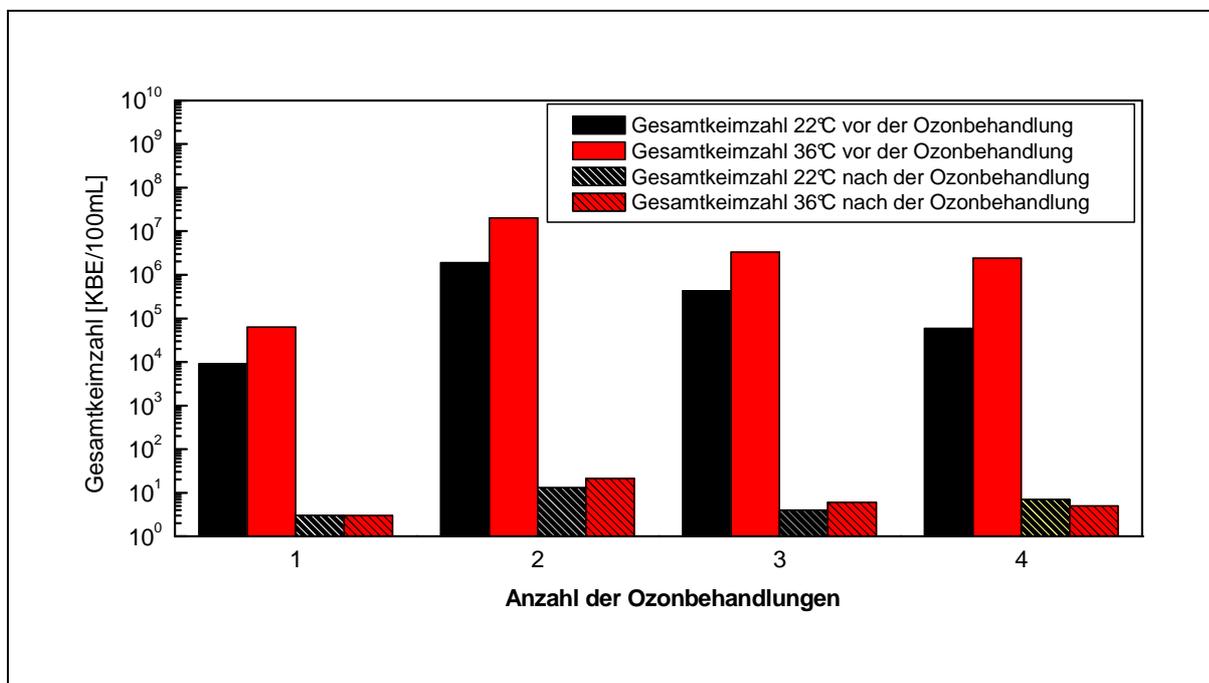


Abbildung 64: Desinfektionswirkung und Rückverkeimung nach viermaligen Ozonbehandlungen einer UO-Permeatprobe

Abbildung 64 zeigt die Gesamtkeimzahlen einer UO-Permeatprobe vor und nach der viermaligen Ozonbehandlung. Es konnten keine Befunde von *E. coli*, Enterokokken und *Clostridium perfringens* nachgewiesen werden. Auch nach der Rückverkeimung konnte keiner dieser Keimarten nachgewiesen werden. Daher wurde in diesem Diagramm nur die Gesamtkeimzahl bei 22 °C und 36 °C betrachtet. Die ursprüngliche UO-Permeatprobe wies bei den Gesamtkeimzahlen Startwerte von 10<sup>4</sup>-10<sup>5</sup> KBE/100mL auf. Durch die Ozondesinfektion konnten die Werte sehr stark abgesenkt werden. Die Rückverkeimung der Proben führte dann in den folgenden Versuchen zu leicht erhöhten Startwerten, die dem üblichen Rückverkeimungsplateauwert der UO-Permeate entsprach. Allerdings konnten durch die Ozonbehandlungen je-

weils wieder ähnlich geringe Gesamtkeimzahlen erzielt werden.

Die wiederholten Desinfektionsversuche lassen nicht auf eine Resistenzbildung gegenüber dem Desinfektionsmittel schließen. In keiner der Versuche konnte eine signifikante Veränderung des Resistenzverhaltens gegenüber dem Desinfektionsmittel Ozon erkannt werden. Das bedeutet, dass sich das Wasser in einem Reservoir, das z.B. bei einem Produktionsstillstand für mehrere Tage gespeichert wird, ebenso gut mit einer Desinfektionsmaßnahme aufbereiten lässt wie frisch gewonnenes UO-Permeat.

Um die Problematik der Rückverkeimung in Rohrleitungen nach der eigentlichen Desinfektion zu minimieren, bietet sich bei diesem dezentralen Aufbereitungskonzept direkt auf dem Betriebsgelände folgende Möglichkeit an: Die Verwendung von Ringleitungen wird in der Literatur schon für Anwendungen im Pharmabereich beschrieben<sup>140</sup>. Eine Ringleitung besitzt den Vorteil, dass permanent eine gewisse Strömung in der Leitung aufrecht erhalten werden kann, so dass die Verweilzeiten innerhalb des Rohrleitungssystem an die einzuhaltenden hygienischen Parameter angepasst werden können oder Komplettpülungen nach einem Produktionsstopp am Wochenende durchgeführt werden können.

### 4.8.3 Rückverkeimung von Modellwasserproben

Bei dieser Versuchsreihe soll das Rückverkeimungsverhalten nach Einsatz unterschiedlicher Mengen Desinfektionsmittel bzw. nach dem Einsatz unterschiedlicher Desinfektionsmethoden untersucht werden. Dazu wurden mit UV-, Ozon-, Ozon-UV-Behandlungsverfahren und variierenden Wirkdosen mehrere Versuche durchgeführt. Das Modellwasser wies einen DOC-Wert von 6 mgC/L auf. Das entspricht in etwa der maximal zu erwartenden DOC-Belastung, die im UO-Permeat aufzufinden ist. Tatsächlich stimmen die gefundenen Keimzahlen im Ansatz des Modellwassers auch mit denen im Permeat in etwa überein (ca.  $10^7$  KBE/100mL). Zusätzlich zu den im Modellwasser hauptsächlich befindlichen Modellkeimen (*Bacillus atrophaeus*) sind innerhalb der Anlage aber auch noch geringe Restmengen an anderen Keimen zu erwarten, die sich durch Kontaminationen von Leitungen, Biofilmen etc. nicht vollständig eliminieren lassen. Eine genaue Erfassung dieser Keime ist bei einem Hauptanteil von *Bacillus atrophaeus*-Keimen wegen Überwucherung der anderen Keime auf den Nährböden jedoch nicht möglich. Bei den unterschiedlichen Desinfektionsversuchen wurde die gesamte Menge des Modellwassers aus einem Ansatz verwendet, somit kann von einer in etwa gleich bleibenden Zusammensetzung des Modellwassers ausgegangen werden. Das Modellwasser wurde einer Behandlung in einem kontinuierlich betriebenen UV-Reaktor, einer kontinuierlich mit Modellwasser durchströmten Ozonungs-Blasensäule und einer Kombination beider Anlagen unterzogen. Als Volumenströme wurden jeweils 200 L/h, 100 L/h und 50 L/h eingestellt. Für die UV-Desinfektion entsprechen diese Werte 216 mJ/cm<sup>2</sup>, 432 mJ/cm<sup>2</sup> und 864 mJ/cm<sup>2</sup>. Das entspricht einer Verdopplung bzw. Vervierfachung der Bestrahlungsdosis.

Die TVO schreibt eine maximale Ozondosis von 10 mgO<sub>3</sub>/L für die Behandlung von Trinkwasser vor. Bei einem Volumenstrom von 200 L/h wurden 4,2 mgO<sub>3</sub>/L, bei 100 L/h wurden 8,4 mgO<sub>3</sub>/L und bei 50 L/h wurden 16,8 mgO<sub>3</sub>/L eingesetzt. Damit liegen die ersten beiden

Werte innerhalb der von der TVO vorgegebenen Menge und der Wert bei 50 L/h überschreitet die Vorgaben deutlich (um 68 %).

Nach der Probennahme mit den jeweiligen Dosismengen wurde die Rückverkeimung in autoklavierten Glasgefäßen erfasst. Die Rückverkeimungsversuche wurden bei einer Temperatur von 22 °C durchgeführt. Die Proben wurden zwei Stunden nach dem Versuch auf Nährböden aufgetragen und nach der erforderlichen Wachstumszeit quantitativ ausgewertet. Der Wert bei zwei Stunden stellt somit den Startwert der Untersuchung der Rückverkeimung dar.

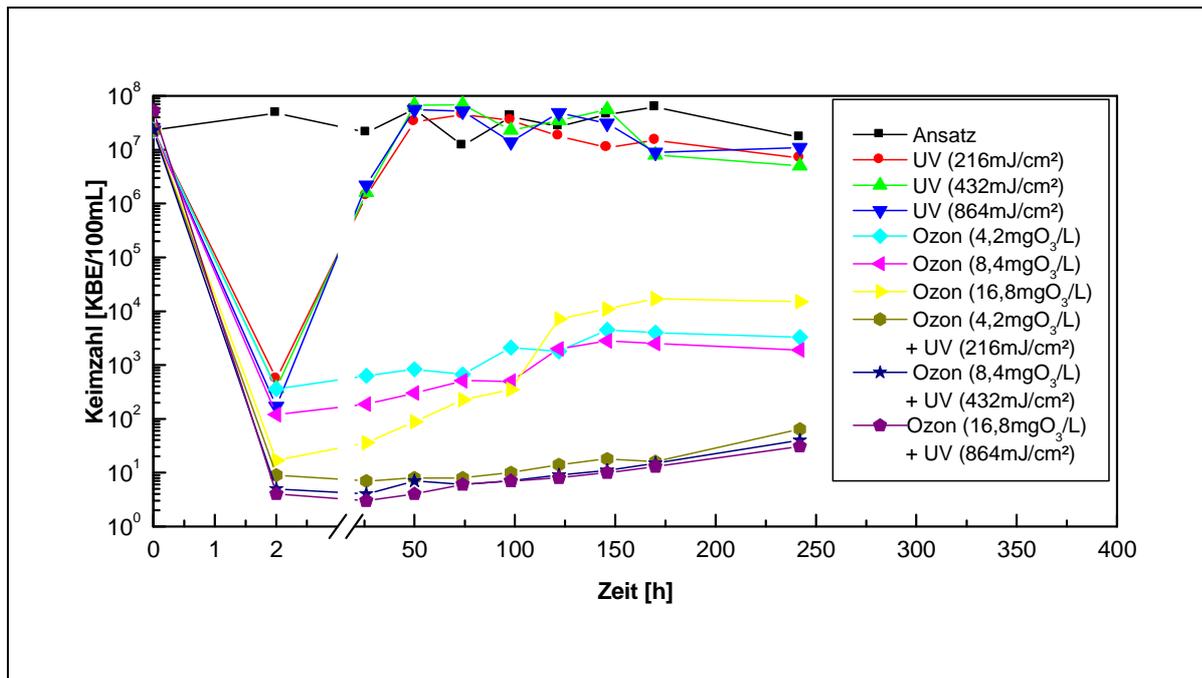


Abbildung 65: Einfluss unterschiedlicher Behandlungsmethoden auf die Rückverkeimung des Modellwassers

Abbildung 65 zeigt die Rückverkeimungstendenzen bei den unterschiedlichen Behandlungsmethoden. Es zeigt sich, dass die Desinfektionswirkung der verschiedenen Behandlungsmethoden sehr unterschiedliche Ergebnisse lieferte.

Durch die UV-Desinfektion können die Keimzahlen von mehr als  $10^7$  KBE/100 mL auf ca. 170-550 KBE/100 mL reduziert werden. Allerdings überleben neben den sehr resistenten *Bacillus atrophaeus*-Keimen offensichtlich noch andere Keime, die sich gegenüber der UV-Strahlungsdosis als resistent erwiesen haben. Da die Bestrahlungsdosis bereits relativ hoch angesetzt wurde und die Keimzahl durch die Behandlung deutlich abgesunken ist, kann davon ausgegangen werden, dass die verwendete Dosis in jedem Fall ausreichend ist und schon deutlich außerhalb des exponentiellen Abnahmebereichs liegt. Diese Dosis liegt beim kleinsten Wert (216 mJ/cm<sup>2</sup>) um ein Vielfaches über der von der DVGW geforderten Mindestbestrahlungsdosis von 40 mJ/cm<sup>2</sup>.

Auch hier zeigte sich, dass durch Verdopplung (432 mJ/cm<sup>2</sup>) und Vervielfachung (864 mJ/cm<sup>2</sup>) der Bestrahlungsdosis keine für die Wiederverkeimung relevanten zusätzlichen Keimzahlverminderungen zu erzielen sind. Die neben dem *Bacillus atrophaeus*-Keim ver-

bliebenen vermehrungsfähigen Keime wachsen bei dem Nahrungsangebot innerhalb von 24 Stunden fast wieder auf die ursprüngliche Modellkeimanzahl an. Es handelte sich jetzt aber in den Proben nicht mehr hauptsächlich um den Keim *Bacillus atrophaeus*. Der Modellkeim wurde in den Verdünnungsproben vollständig von anderen Keimen überwuchert, die sich offensichtlich sehr gut in diesem behandelten Wasser (unter den gegebenen Temperaturverhältnissen etc.) vermehren konnten. Eine Identifikation der Keimart erfolgte aber nicht. Nach spätestens 48 Stunden ist ein ähnlicher Wert, wie er ursprünglich im Modellwasser vorlag, erreicht.

Durch die Ozonbehandlung konnte eine weitgehende Abtötung aller Keime erzielt werden. Es wurden auf den Nährböden ausschließlich *Bacillus atrophaeus*-Keime nachgewiesen. Einschränkung muss festgehalten werden, dass wiederum nur solche Keime erfasst werden, die auf diesem DEV-Nährboden wachsen. Das gilt für alle hier durchgeführten Versuche. Es wurden z.B. keine Untersuchungen nur für anaerob wachsende Keime durchgeführt.

Die Ozondosis hat in dem gewählten Bereich eine signifikante Auswirkung auf die Keimzahl. Daraus ergeben sich bei der Rückverkeimung unterschiedliche Ausgangspositionen. Die Rückverkeimung dieser Keimart (*Bacillus atrophaeus*) verlief unter diesen Bedingungen (Temperatur, Nährstoffangebot etc.) relativ langsam und stagnierte in allen Fällen bei einer Anzahl von 1900-15000 KBE/100 mL. Offensichtlich waren die Bedingungen für eine stärkere Vermehrung innerhalb der Untersuchungszeit nicht ausreichend. Die Untersuchungszeit bezog sich auf 10 Tage. Ein noch längerer Untersuchungszeitraum erscheint für die Simulation eines vorgesehenen Pufferspeichers als nicht sinnvoll.

Die Versuchsbedingungen in autoklavierten sterilisierten Glasgefäßen entsprechen Idealbedingungen, die in der Realität einer Aufbereitungsanlage nicht gegeben sind. Die am stärksten ozonisierte Probe konnte in der Vermehrungsphase verhältnismäßig mehr anwachsen. Ein möglicher Erklärungsansatz ist, dass die höhere Ozonzugabe zu einer vermehrten Freisetzung bioverfügbaren Substrates führte und somit ein schnelleres Wachstum ermöglicht wurde. Dieser Effekt lässt sich ansatzweise auch zu Beginn der Rückverkeimung bei der Verdopplung der Ozondosis erkennen. Möglicherweise setzt dann aber wieder eine Verknappung des Substratangebotes nach einer kurzen Wachstumsphase ein. Versuche mit noch höheren Ozondosierungen sind aufgrund der TVO-Vorgaben für die maximal zulässige Ozondosierung an dieser Stelle nicht sinnvoll.

Es kann aber festgehalten werden, dass bei der Variation der Ozondosen die Desinfektionsbehandlung zu sehr unterschiedlichen Ergebnissen führte, aber die Keimzahl nach mehreren Tagen ohne weitere Behandlung innerhalb dieser Gruppe auf ein ähnliches Niveau ansteigt. Im Vergleich zur reinen UV-Behandlung ist eine deutlich geringere Wiederverkeimung zu erkennen.

Die Kombination beider Verfahren erbrachte, wie erwartet, die besten Ergebnisse. Die Anzahl der Keime konnte bis auf 4-9 KBE/100 mL in den jeweiligen Versuchen gesenkt werden. Bei diesen Keimen handelte sich ausschließlich um die Keime *Bacillus atrophaeus*. Die Rückverkeimung verlief aber wesentlich langsamer. Hier kommen zwei Erklärungsansätze in Frage.

Zum einen kann die Bildung von OH-Radikalen und die Umsetzung mit den organischen Substanzen zu einem sehr ungünstigen, schlecht verwertbaren Substrat speziell für die *B. a.*-Keime führen oder es wird möglicherweise in geringem Maße Wasserstoffperoxid beim UV angeregten Zerfall von Ozon gebildet, dass speziell die Vermehrung von *Bacillus atrophaeus*-Keimen inhibiert. Es konnten noch nach 24 Stunden geringe Mengen an reaktiven Substanzen ( $22 \mu\text{gO}_3/\text{L}$ ), durch einen Ozontest in der Lösung festgestellt werden. Dieser Test weist aber eine Querempfindlichkeit zu Wasserstoffperoxid auf. Zu diesem Zeitpunkt kann es sich mit sehr hoher Wahrscheinlichkeit nicht mehr um Restozon handeln. Deutlich höhere Ozonkonzentrationen zerfielen in ähnlichen Versuchen und unter vergleichbaren Versuchsbedingungen erheblich schneller und ließen sich nach 24 Stunden nicht mehr nachweisen. Die Frage, ob das Rückverkeimungspotential allgemein durch die Reduzierung von assimilierbaren organischen Substanzen im Modellwasser abgesunken ist, konnte damit durch das Fehlen von anderen Keimen nicht geklärt werden.

Dazu sollte in einem weiteren Versuch überprüft werden, ob unterschiedliche Desinfektionsmethoden bei einer nachträglich durchgeführten Neukontamination mit Keimen Auswirkungen auf die Rückverkeimung haben. Um eine vergleichbare Ausgangssituation bei der Rückverkeimung zu schaffen, wurde die gleiche Anzahl an vermehrungsfähigen Keimen zu den verwendeten Proben zugegeben. Dieser Versuch simuliert eine nachträglich erfolgte Keimkontamination, wie sie z.B. in Rohrleitungen zu erwarten ist. Die Animpfung wurde mit natürlich im Realwasser vorkommenden Keimen durchgeführt, die sich nach der UO-Filtration nach kurzer Zeit wieder stark vermehrt hatten.

Es wird also geprüft, ob ein Depot- oder Inhibierungseffekt durch das angewandte Desinfektionsverfahren erzielt wird. Die vorab mit dem Modellwasser und den Modellkeimen durchgeführten Desinfektionsmaßnahmen reduzierten in allen Fällen die Keimzahlen unter 150 KBE/100 mL. Das sind weniger als 15 % der anschließend gezielt neu zugesetzten Keime, so dass davon ausgegangen werden kann, dass für die Wiederverkeimung ähnliche Startbedingungen vorherrschten. Eine Autoklavierung und damit eine völlige Sterilisierung der Proben kam nicht in Frage, da vermutlich bei Anwesenheit von längerlebigen reaktiven Bestandteilen diese bei der Autoklavierung zerstört worden wären.

Es war auch wichtig, dass die Modellbedingungen den Bedingungen entsprachen, wie sie im vorangegangenen Versuch vorherrschten. Alle Proben wurden erst 12 Stunden nach der Ozonbehandlung und der Probennahme mit Keimen angeimpft. Die Versuchsproben wiesen zu diesem Zeitpunkt einen Restozongehalt kleiner als  $25 \mu\text{gO}_3/\text{L}$  auf. Die zusätzlich mit UV-Strahlung behandelten Proben wiesen schon direkt nach den Versuchen eine erheblich geringere Ozonkonzentration gegenüber den nur mit Ozon behandelten Proben auf.

Die Ozonkonzentration nach der Probennahme kann aus den Versuchen in Kapiteln 4.6.7 ermittelt werden, sie stehen hier aber nicht im Vordergrund. Die Halbwertszeit des Ozonzerfalles in wässrigen Proben bei einem pH-Wert von 7 beträgt bei  $20^\circ\text{C}$  etwa 20 Minuten, so dass selbst bei Konzentrationen von  $3 \text{mgO}_3/\text{L}$  nach 3 Stunden weniger als  $0,025 \text{mgO}_3/\text{L}$  zu erwarten sind.

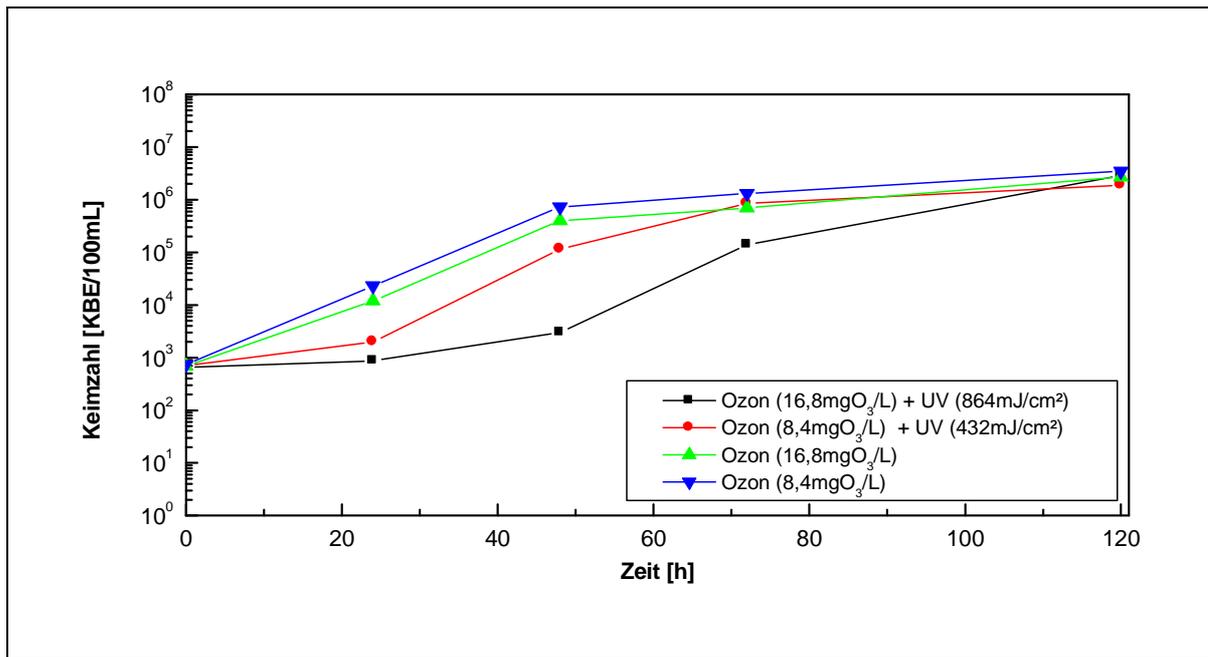


Abbildung 66: Rückverkeimung von unterschiedlich vorbehandelten Modellwasserproben nach zusätzlicher Animpfung mit Realwasserkeimen

Abbildung 66 zeigt die Rückverkeimungstendenz von behandelten Proben, die mit definierten Mengen an Keimen wieder angeimpft wurden. Es zeigte sich auch hier, dass die Wiederverkeimung durch eine kombinierte (Ozon + UV)-Behandlung verlangsamt werden konnte. Je nach Behandlungsintensität des Kombinationsverfahrens wiesen die Rückverkeimungstendenzen einen Verzug zwischen 24 h und 48 h in Bezug auf ihre „Logphase“ auf, also des exponentiellen Anstiegs. Nach 72 h hatten sich wieder alle Proben sehr stark der Plateauphase angenähert. Diese verzögerte Wiederverkeimungstendenz konnte schon bei den in Abbildung 65 gezeigten Proben beobachtet werden. Allerdings kann aus den Daten nicht geschlossen werden, dass tatsächlich die Rückverkeimungstendenz in Zusammenhang mit der Behandlungsmethode stand. Es bestand eine sehr unterschiedliche Ausgangsposition in der Anzahl und Zusammensetzung der Biozönose. In diesem Versuch (Abbildung 66) wurde aber in allen Fällen eine gleiche Menge an vermehrungsfähigen, im UO-Permeat vorkommenden Keimen zugegeben, die sich in der Folge unterschiedlich schnell entwickelten. Als mögliche Erklärung kann entweder die Menge und die Bioverfügbarkeit der Restorganik herangezogen werden, oder die Entstehung geringer Mengen an reaktiven Zwischenprodukten, die sich bei der UV-Behandlung des noch stark ozonhaltigen Wassers gebildet haben und damit eine Inhibierung bzw. eine Depotwirkung bewirkten. Die Überprüfung der Proben vor der Animpfung auf Restmengen an Ozon ergab Werte unterhalb 25  $\mu\text{gO}_3/\text{L}$  d.h. deutlich unter dem Grenzwert der TVO. Bei dieser Prüfung wirkt Wasserstoffperoxid störend.

Die hier erzielten Ergebnisse zeigen eine große Ähnlichkeit zu den Ergebnissen, die bei der Anwendung unterschiedlicher Advanced Oxidation Processes in der Arbeit von Frimmel et al.<sup>69</sup> bei der Behandlung von Bodenseewasser erzielt wurden. Die DOC-Gehalte ähnelten sehr denen im Modellwasser und in den UO-Permeaten. Auch die Rückverkeimungstendenz aufgrund des Nährstoffangebotes ist vergleichbar mit den dort gefundenen Ergebnissen. Daher

wird in dieser Arbeit als mögliche Variante eine weitere biologische Behandlung zur Senkung des AOC-Gehaltes diskutiert. Übertragen auf die hier verwendete Anlagenanordnung könnte neben einer weiteren Membranstufe oder kleineren Permeat/Retentat-Verhältnissen zur weiteren Verringerung der organischen Belastung auch folgende Strategie zur Verlangsamung der Wiederverkeimung interessant sein. Zwischen die zwei vorhandenen UO-Membranstufen werden zusätzlich eine Ozonung und eine Aktivkohleanwendung geschaltet. Trotz der möglicherweise verschlechterten Adsorptionseigenschaften der oxidierten Reaktionsprodukte an Aktivkohle kann eine Aktivkohleanwendung nach der Ozonbehandlung trotzdem vorteilhaft sein. Dies lässt sich damit erklären, dass am Ende der Aufbereitung ein zusätzliches Rückhalteverfahren für unpolare und/oder der Ozonung schwer zugängliche Wasserinhaltsstoffe gegeben ist, die ansonsten die letzte UO-Stufe teilweise passieren können. Zusätzlich stellt Aktivkohle ein ideales Besiedlungsmedium für Mikroorganismen dar. Durch die Ozonbehandlung kann der mikrobiologische Abbauprozess intensiviert werden, wenn eine entsprechende Trennung der Ozonadsorptionszone und der mikrobiologischen Besiedlungszone des Aktivkohlefilters gewährleistet wird. Im ersten Teil eines solchen Aktivkohlefilters würde überschüssiges Ozon adsorbiert und im zweiten Teil Mikroorganismen auf der Aktivkohle immobilisiert. Die zweite UO-Membranstufe hält weiterhin noch mobilisierte Mikroorganismen, Restmengen organischer Matrix als auch mobilisierte Aktivkohle zurück. Diese Maßnahme kann aufgrund der deutlich minimierten Menge an bioverfügbaren Verbindungen eine Wiederverkeimung verlangsamen. Ein Durchbruch von Zellbestandteilen ist aufgrund der Druckbeständigkeit der MO-Zellwände bei diesem Konzept nicht zu befürchten. Eine nach der 2. UO-Membranstufe nachgeschaltete UV- oder Ozonungsanlage würde die Sicherheit im Rohrleitungsnetz nochmals erhöhen. Leider konnte eine solche Verfahrensvariante während der Betriebszeit nicht untersucht werden. Ob dieser zusätzliche Aufwand zweckmäßig und praktikabel ist, muss für den konkreten Anwendungsfall geprüft werden.

## 4.9 Diskussion des mehrfachen Barrierekonzeptes

Es konnte in diesem Projekt gezeigt werden, dass ein mehrfaches Barrierekonzept, bestehend aus einer Grobabtrennung von Feststoffen, biologischer Abwasserreinigung, mehreren Membranstufen und einer Desinfektionsstufe, ein effektives Konzept zur Herstellung von chemisch und hygienisch unbedenklichem Brauchwasser mit Trinkwasserqualität nach TVO-Vorgaben darstellt. Eine Ausnahme bildet lediglich die Ammoniumkonzentration, die durch geeignete prozesstechnische Maßnahmen noch weiter gesenkt werden muss. Die Desinfektionsstufe kann eine Rest- bzw. Wiederverkeimung erfolgreich unterdrücken. Darüber hinaus trägt sie zur Reduzierung bzw. Vermeidung von Biofilmbildungen bei. Unterschiedliche Maßnahmen bei der Prozesssteuerung wie optimierte Verweilzeiten und Anlagenkonstruktionen gewährleisten einen erfolgreichen und hygienisch einwandfreien Betrieb eines solchen Recyclingprozesses. Zur Desinfektion sind folgende Maßnahmen geeignet bzw. sinnvoll:

- a. Neben dem Einsatz von UO-Membranstufen zur Keimzahlreduzierung ist die zusätzliche Anwendung einer Ozon- oder UV-Desinfektionsstufe als notwen-

- dig zu erachten.
- b. Die Betriebsüberwachung der UO-Membranstufen (in Bezug auf Membrandefekte) kann neben anderen Möglichkeiten auch durch Überwachung der Leitfähigkeitswerte unterstützt werden.
  - c. Ozon als Desinfektionsmittel ist im Fall der Lebensmittelindustrie anstelle von Chlor oder Chlordioxid oder anderen Oxidationsmitteln zu bevorzugen.
  - d. Eine optimierte UV-Behandlung zur Desinfektion kann ebenfalls erfolgreich eingesetzt werden, sie wirkt aber nicht oxidativ auf andere organische Bestandteile und besitzt keinen desodorierenden Effekt.
  - e. Ein Kombinationsverfahren aus Ozon + UV stellt die erfolgreichste Variante zur Primärdesinfektion dar.
  - f. Eine Intervall- oder Permanentozonung zur Unterdrückung der Rückverkeimung stellt eine erfolgreiche Behandlung eines Prozesswasserspeichers dar. Eine Permanentozonung ist zur Vermeidung der Freisetzung von zusätzlichen Endotoxinen aus der Zellwand von Gram negativen-Keimen zu bevorzugen.
  - g. Durch die Überwachung der DOC-Werte mit Hilfe von Onlinemessungen kann eine erfolgreiche Steuerung der zu dosierenden Ozonmengen erfolgen.
  - h. Bei Überschreitung der DOC-Werte und zur Senkung der AOC-Werte sollte eine erneute Membranfiltration und/oder gegebenenfalls ein zusätzlicher biologischer Abbau vorgenommen werden. Letzteres ist mit hohem Aufwand verbunden.
  - i. Die Reduzierung sehr hoher Konzentration an organischer Fracht (z.B. UF-Filtrat) mit Ozon oder Kombinationsverfahren ist zu aufwändig und führt im Zweifelsfall zur Erhöhung der Substratverfügbarkeit und beschleunigter Wiederverkeimung.
  - j. Die Verwendung einer Ringleitung ist sinnvoll, damit bei Produktionsstillständen keine umfangreiche Rück- und Wiederverkeimung in den Rohrleitungen stattfindet. Die Desinfektionsbehandlungsanlage und die Ringleitung sind so zu dimensionieren, dass keine zu hohen Verweilzeiten in der Ringleitung entstehen. Auch ist ein weitgehend geschlossenes System zu bevorzugen, so dass ein Eintrag von Keimen aus der Luft vermieden wird. In Leitungsnetzen, in denen die hygienische Qualität des Wassers durch solche Maßnahmen nicht gewährleistet werden kann, verlangt der Gesetzgeber den zusätzlichen Einsatz von freiem Chlor oder Chlordioxid mit hoher Depotwirkung.
  - k. Nach der UO-Filtration sollte zur Reduzierung der Wiederverkeimungstendenz und zur Optimierung einer Ozonbehandlung eine Wasserkühlung eingeplant werden oder es sollte gewährleistet sein, dass die Verweilzeiten im Reservoir möglichst kurz sind, damit eine schnelle Wiederverkeimung unterdrückt wird.
-

## 5 Kostenkalkulation

### 5.1 Ozonanlage

Für die Kostenkalkulation/-abschätzung beim Ozonungsverfahren ist die Anlagengröße bzw. die beabsichtigte Durchsatzmenge der relevanteste Faktor. Da keine exakten Daten bezüglich der tatsächlichen Wasservolumenströme vorliegen und zudem nicht bekannt ist, ob eine Teilstrom- oder Vollstrombehandlung beabsichtigt ist, wird die Kalkulation exemplarisch für einen minimalen und einen maximalen Wert durchgeführt. Die Kalkulation basiert auf belastbare Angaben von Anlagenherstellern.

#### Basisdaten

**Verwendungszweck:** Ozonungsanlage zur Desinfektion von biologisch aufbereitetem und membranfiltriertem Brauchwasser nach der Umkehrosmosestufe

**Abwassermenge:** nicht genau bekannt, Kalkulation für Mengen von 100-1000 m<sup>3</sup>/d

**Tagesbetriebsstunden:** 24 h/d

**Jahresbetriebstage:** 250 Tage

**Jahresbetriebstunden:** 6000 h/a

**Mittlerer Wasserdurchsatz:** ca. 4.16-41.6 m<sup>3</sup>/h (min.-max. Kalkulation)

**Max. erforderliche Ozonkonzentration:** 10 mg/L bzw. 10 g/m<sup>3</sup>

**Ozonerzeugerleistung:** 41,6 g/h-416 g/h (min.-max. Kalkulation)

**Anlagenkosten inklusive MSR-Technik aber ohne zusätzliche Pufferbehälter (Ozoneintrag direkt in die Leitung während des Transportes zum Pufferbehälter) :** 35000 € für die kleine Anlage und 45000 € für die große Anlage.

#### **Kapitaldienst der Anlagentechnik:**

Abschreibungszeitraum der Anlage: 5 Jahre

Zinsfuß: 6 %

Zinsfaktor: 1,06 %

Annuität: 8309 €/a (für 35000 €/kleine Anlage)-1068 €/a (für 45000 €/große Anlage)

**Wartungs- und Reparaturkosten:** 2,5 % der Investkosten/a also hier 875 €/a-1250 €/a

**Versicherungskosten:** 0,5 % der Investkosten/a also hier 175 €/a-250 €/a

**Personalaufwand:** Für diesen Teilbereich der Anlage: 1h/1200 Betriebsstunden bei gleichzeitiger Betreuung der vorgeschalteten Anlagenteile

**Personalkosten pro Mannstunde:** 36 €/h; 0,03 €/Betriebsstunde bezogen auf 1 h Wartungs-

---

zeit/1200 Betriebsstunden; bei 6000 h/a entspricht das 180 €/a

**Energiekosten/kg Ozon:** ca. 7 kWh/kg Ozon; bei max. 10 mgO<sub>3</sub>/L bzw. 10 gO<sub>3</sub>/m<sup>3</sup> bei einem Preis von max. 0,2 €/kWh ergibt sich ein Verbrauch von 0,07 kWh/10 mgO<sub>3</sub> und ein Preis von 0,014 €/m<sup>3</sup> an Energiekosten. Zusätzlich werden noch mal ca. 0,014 €/m<sup>3</sup> an Energiekosten für die Sauerstoffanreicherung zur Effizienzsteigerung des Ozongenerators benötigt. Daraus ergibt sich ein Preis von 0,028 €/m<sup>3</sup>.

### **Zusammenfassung:**

#### **Kalkulation für eine **kleine** Anlage (100 m<sup>3</sup>/d):**

Jährliche Gesamtkosten mit Kapitaldienst: 10239,66 €/a

Jährliche Gesamtkosten ohne Kapitaldienst: 1930 €/a

**Spezifische Kosten mit Kapitaldienst: 0,409 €/m<sup>3</sup>**

Spezifische Kosten ohne Kapitaldienst: 0,077 €/m<sup>3</sup>

#### **Kalkulation für eine **große** Anlage (1000 m<sup>3</sup>/d):**

Jährliche Gesamtkosten mit Kapitaldienst: 19362,71 €/a

Jährliche Gesamtkosten ohne Kapitaldienst: 8680 €/a

**Spezifische Kosten mit Kapitaldienst: 0,077 €/m<sup>3</sup>**

Spezifische Kosten ohne Kapitaldienst: 0,035 €/m<sup>3</sup>

Daraus ergibt sich bei den spezifischen Behandlungskosten je nach Anlagengröße eine Spanne von ca. 0,41 €/m<sup>3</sup> - 0,08 €/m<sup>3</sup>. Der wesentliche Unterschied ergibt sich daraus, dass die Kosten für den Kapitaldienst für eine große Anlage nicht automatisch bei einer Verzehnfachung der Durchsatzmenge um den Faktor 10 anwachsen. Bei entsprechend höheren Durchsatzmengen sinkt der spezifische Preis noch weiter ab.

## **5.2 UV-Anlage**

Für eine Kostenkalkulation einer UV-Anlage kann der folgende Ansatz verwendet werden:

Für die Desinfektion von Trinkwasser wird in der TVO eine Mindestbestrahlungsdosis von 40 mJ/cm<sup>2</sup> festgelegt. Dafür sind ca. 0,01-0,02 €/m<sup>3</sup> inklusive aller anfallenden Kosten aufzuwenden. Darin eingeschlossen sind auch die geringen Energiemengen für den Betrieb der UV-Niederdrucklampe von ca. 20-40 W/m<sup>3</sup> bei einer Bestrahlungsdosis von 40 mJ/cm<sup>2</sup>. Die Anlagen können modular aufgebaut werden, somit ergeben sich zwischen kleinen und großen Anlagen keine gravierenden Unterschiede. Nach ca. 8000-10000 h müssen die Quecksilberniederdrucklampen ausgetauscht werden. Das entspricht bei 250 Betriebstagen/a in etwa einem Wechselintervall von 1,5 Jahren und einem Preis/Austauschlampe von ca. 10-20 € (0.001-

0.02 €/m<sup>3</sup>, Bestrahlungsdosis: 40-800 mJ/cm<sup>2</sup>). Daraus lässt sich erkennen, dass bei einer UV-Anlage die Kosten für den Austausch der Lampen nicht so gravierend sind. Auch die Kosten der UV-Lampen selbst fallen je nach eingesetzter Bestrahlungsdosis nicht so sehr ins Gewicht. Darüber hinaus kann eine UV-Anlage im Gegensatz zur Ozonungsanlage über einen Abschreibungszeitraum von zehn Jahren kalkuliert werden. Ozongeneratoren weisen einen höheren Verschleiß der Anlagenteile auf.

In diesem Fall wird die UV-Bestrahlung aber für eine Restozonreduzierung angewendet und es sind Bestrahlungsdosen von ca. 800-1000 mJ/cm<sup>2</sup> erforderlich, also ungefähr um einen Faktor 5-10 höhere Werte als bei einer reinen Desinfektionsanwendung bei der Werte zwischen 100-200 mJ/cm<sup>2</sup> in jedem Fall ausreichend sind. Somit sind Kosten von ca. 0,1-0,15 €/m<sup>3</sup> ein realistischer Ansatz.

Angesichts der unterschiedlichen Wirksamkeit der beiden Methoden sind die Verfahren nicht als „Entweder-oder-Modell“, sondern als eine Kombinationsvariante zur sicheren Desinfektion als zweistufiges Barrierekonzept zu betrachten.

An dieser Stelle sollte auch noch mal erwähnt werden, dass Ozon zusätzlich eine desodorierende Wirkung besitzt, dass die UV-Bestrahlung den schnellen Restozonzerfall induziert und zudem zur Einhaltung der gesetzlichen Grenzwerte für Restozon beiträgt.

Daraus ergeben sich bei hohen Durchsätzen für eine sichere Desinfektion und der zusätzlichen Oxidation von organischen Wasserbestandteilen mit diesem Kombinationsverfahren Kosten von ca. 0,25 €/m<sup>3</sup>.

### 5.3 Fazit

Grundsätzlich hängt die Wirtschaftlichkeit des gesamten Recyclingverfahrens von den ökonomischen Rahmenbedingungen ab. Berücksichtigt werden muss, dass auch ohne Recyclingprozess eine Abwasserentsorgung und Aufbereitung stattfinden und der Bezug von Frischwasser über lange Leitungswege erfolgen muss. Der Unterschied besteht im Wesentlichen in den Membranverfahren direkt am Ort der Abwasserentstehung und den erforderlichen Desinfektionsmaßnahmen.

In Regionen, in denen der Wasserstress noch höher ist als in Europa, werden ähnliche Verfahrenskonzepte mit dem Einsatz von Membranverfahren in weitaus größerem Maßstab mittlerweile als Auswege aus der Trinkwasserversorgungskrise vorgestellt und realisiert. Dabei werden sogar teilweise Abwässer direkt aus kommunalen Kläranlagen entnommen und im Bereich der Trinkwasserversorgung wieder eingesetzt<sup>141,142</sup>.

## 6 Zusammenfassung und Ausblick

Das Ziel des Projektes war, ein neues biotechnologisches Verfahren zur Brauchwassergewinnung mit Trinkwasserqualität aus Abwässern der Lebensmittelverarbeitung zu entwickeln. Dazu wurde aus Abwasser eines Blancheurprozesses mittels einer Hochleistungsbiologie und nachgeschalteten Ultrafiltrations- und Umkehrosmose-Membranstufen Wasser mit geringen Restmengen an Salzen und organischen Inhaltsstoffen gewonnen. Darüber hinaus sollte geprüft werden, ob zusätzlich zu den Membranfiltrationsstufen noch weitere Desinfektionsmaßnahmen erforderlich sind, um die sichere Einhaltung der chemischen und mikrobiologischen Parameter der TVO zu gewährleisten. Gleichzeitig sollte die hygienische Stabilität des Wassers durch ein geeignetes Desinfektionsverfahren über einen Zeitraum von wenigstens 48-72 Stunden nach der Behandlung gewährleistet sein.

Zusätzlich galt es zu klären, ob moderne bioanalytische Methoden geeignet sind, eine Optimierung der Zeitabläufe bei der Prozessüberwachung zu leisten oder ob eine Behandlungsmethode eine so weitgehende Sicherheit gewährleisten kann, dass die notwendige chemische und vor allem die hygienische Qualität des Wassers in jedem Fall gewährleistet wird. Das Optimierungsziel ist eine Verkürzung der Analysenzeit gegenüber den in der TVO aufgeführten konventionellen mikrobiologischen Untersuchungsmethoden.

Die vergleichende Erprobung unterschiedlicher qualitativer und quantitativer Nachweismethoden zur Erfassung von biogenem Material zeigte, dass neben den klassischen Methoden zur Bestimmung der Keimzahl, wie sie durch die TVO vorgeschrieben sind, das in dieser Arbeit getestete FT-IR Analyseverfahren zu einer deutlichen Verkürzung der Analysezeiten durch schnellere Identifizierung der Keime eingesetzt werden kann. Besonders effektiv konnte das System genutzt werden, um die verwendeten Modellkeime eindeutig zu identifizieren und sie somit von anderen Keimen zu unterscheiden. Grundsätzlich bietet diese Methode eine sehr gute Möglichkeit zur eindeutigen Identifikation von auf Selektivnährböden vorselektierten Keimen. Dadurch ergibt sich gegenüber konventionellen Nährbodenmethoden eine deutliche Zeitersparnis von mehreren Tagen.

Andere Nachweismethoden, die auf Basis von Zellmarkierungsmethoden durch Fluoreszenzmarker arbeiten und z.B. DNA oder spezifische Keimoberflächen detektieren, haben das Problem, dass bei einer UV-Desinfektion die Keime nach ihrer Bestrahlung weiterhin lebensfähig, aber nicht mehr vermehrungsfähig sind. Dadurch liefern sie ein falsch positives Ergebnis trotz erfolgreicher Desinfektion. Auch DNA bzw. RNA-Fragmente, die bei der Teiloxidation von Mikroorganismen entstehen, können zu falsch-positiven Ergebnissen bei DNA/RNA-basierten Verfahren führen. Die Realtime-PCR stellt durch einen ganz spezifischen Nachweis der DNA bzw. RNA in Keimen eine solche Nachweismethode dar. Diese Methode eignet sich zwar grundsätzlich für einen arbeitsintensiven An- bzw. Abwesenheitstest mit Hilfe einer Membranfiltration von 100 ml Probe und einer etwa 24-48-stündigen biologischen Anreicherungsschritt der Keime auf ein hinreichend hohes Keimzahlniveau. Für direkte Untersuchungen von vermehrungsfähigen Keimen in geringer Anzahl, wie sie von der TVO vorgegeben sind, ist

die Realtime-PCR aufgrund der zu hohen Nachweisgrenze nicht geeignet. Für die in dieser Arbeit durchgeführte Optimierung der Desinfektionsbehandlung und auch im Hinblick auf die erforderliche Quantifizierung der Messergebnisse stellte sie somit keine geeignete Methode dar. Bei einem hohen Verkeimungsniveau von Wasserproben, die nicht durch Oxidation oder UV-Strahlung desinfiziert wurden, stellt die Realtime-PCR aber eine mögliche Alternative dar, ein sicheres und quantitatives Ergebnis innerhalb weniger Stunden zu liefern.

Darüber hinaus existieren mittlerweile unterschiedliche eindeutige Schnellnachweismethoden für diverse Keime, speziell für häufig untersuchte, die z.B. innerhalb eines Tages durch spezifische Farbumschlagtests ausreichend aussagekräftig sind. Diese Tests reagieren nur dann positiv, wenn die Keime noch vermehrungsfähig sind und sich biologisch anreichern lassen. Sie basieren auf Ausscheidungen biochemischer Produkte der Keime. Existiert noch kein solcher spezifischer Test, ist die FT-IR Analytik eine sehr gute Alternative zur eindeutigen Identifizierung.

Darüber hinaus bietet die FT-IR Analytik zusätzlich die Möglichkeit, einen schnellen Gramtest mit unbekanntem Keimen durchzuführen. Die Grameigenschaften sind bei der Bildung von Endotoxinen relevant. Die Untersuchung von Proben auf ihren Endotoxingehalt sollte einen neuen Ansatz zur qualitativen Bewertung der Wasserqualität darstellen. Bisher wird dieser Test nur für relativ sensible Anwendungen im Bereich pharmazeutischer Produkte zur Überwachung einer Kontamination mit Krankheitserregern eingesetzt. Durch den Zerfall oder gerade durch die oxidative Zerstörung der Hülle von Gram negativen Mikroorganismen können Toxine freigesetzt werden. Es zeigte sich, dass selbst bei intensiv oxidativ als auch UV-behandelten Proben ein Restgehalt an Endotoxinen festgestellt werden konnte, der die Grenzwerte für eine pharmazeutische Nutzung überschreitet. Die Anwesenheit von mehr als 0,25 EU (Endotoxin Units) konnte in allen untersuchten Proben bis auf die Referenzprobe nachgewiesen werden. Im Rahmen dieser Untersuchungen sollten aber vorerst nur Basisdaten gesammelt werden. Umfangreichere Untersuchungen und die Festlegung eines Grenzwertes erscheinen für eine Anwendung dieses Parameters im TVO-Bereich sinnvoll.

Bei dem gesamten Aufbereitungsverfahren zeigte sich, dass nach der letzten Desinfektionsstufe Brauchwasser soweit gereinigt wird, dass die hygienischen und chemischen Parameter der TVO mit Ausnahme der Ammoniumkonzentration eingehalten werden konnten. Die Ammoniumgehalte können aber voraussichtlich durch die in dieser Arbeit angeführten Maßnahmen in der Biologie bzw. auch in den Membranstufen noch unter die TVO-Grenze abgesenkt werden. In einem Ausnahmefall von vielen UO-Permeatproben wurde ein geringfügiger fäkalischer Geruch wahrgenommen. Die Untersuchung der mikrobiologischen Parameter in den Proben nach der letzten Umkehrosmostufe ergab im Bereich der vermehrungsfähigen Gesamtkeimzahlen (22 und 36°C), also den nicht näher definierten Keimen, teilweise erhöhte Werte, die in einigen Fällen über den Richtwerten der alten TVO (gültig bis 2003) lagen. Die Anforderung der neuen TVO an diesen hygienischen Parameter ist, dass keine anomale Veränderung auftritt. Die Anwendung der Verfahren nach TVO (a. F.) ist aber übergangsweise ebenfalls erlaubt unter Zugrundelegung der bisherigen Richtwerte als Grenzwerte. Es zeigte sich, dass die hygienische Stabilität des recycelten Wassers über einen längeren Zeitraum oh-

ne zusätzliche Kühlungs- und Desinfektionsmaßnahmen nicht zu gewährleisten war. Die Veränderung des hygienischen Zustandes des Wassers erfordert somit zusätzlich zur Membranfiltration weitergehende Desinfektionsmaßnahmen. Dieses typische Rückverkeimungsverhalten muss ausgehend von der aktuellen Gesetzgebung in weitreichenden Leitungsnetzen durch den Einsatz von chlorhaltigen Desinfektionsprodukten mit Depotwirkung bekämpft werden. In diesem Projekt wurde aber eine Wiederverwendung im angrenzenden Produktionsbetrieb angestrebt, so dass auch andere Maßnahmen zur Desinfektion und zur Unterdrückung einer Rückverkeimung mit geringerer Depotwirkung wirkungsvoll eingesetzt werden können.

Die Art der Verkeimung nach der UO-Stufe im Permeat deutet darauf hin, dass im Wesentlichen kein Durchbruch der Keime durch die Membran stattfindet, sondern dass eine Rück- bzw. Wiederverkeimung ohne weitere Behandlung des Wassers stattfindet. Ein Durchbruch kann aber nicht völlig ausgeschlossen werden. Mit einem hoch belasteten Modellwasser mit dem Modellkeim *E. coli* zeigte sich bei Versuchen mit einer einstufigen UO-Laboranlage, dass vor allem in der Anfahrphase ein geringfügiger Durchbruch an *E. coli*-Keimen stattfand, der aber unabhängig vom Transmembrandruck im stationären Verlauf auf wenige *E. coli*-Keime pro 100 mL absank. Die zusätzlich im Permeat befindlichen Keime, die vermutlich durch Biofilme in den Leitungen und auf der Membran nach der Trennstufe eingetragen wurden, führten innerhalb von zwei Tagen bei 22 °C wieder zu einer deutlichen Rückverkeimung. Die Übertragbarkeit auf reale Wässer ist aufgrund der hohen Feedbelastung mit Modellkeimen nur bedingt möglich, zeigte aber, dass aus Gründen der Sicherheit eine Desinfektionsmaßnahme zur Erhöhung der Durchbruchesicherheit und zur Unterdrückung der Rückverkeimung sehr sinnvoll ist.

Nach der Erfassung des hygienischen Zustandes des Wassers in den einzelnen Prozessstufen wurden für die Optimierung der Desinfektion unterschiedliche Behandlungsmethoden und Anlagen sowie Betriebsweisen mit Real- und Modellwässern getestet. Es zeigte sich, dass sowohl eine UV-Desinfektion als auch eine desodorierende Ozonbehandlung die Gesamtkeimzahlen der UO-Permeate auf nur noch wenige Keime pro 100 mL senkten und damit die Richtwerte der alten TVO (a. F.) weit unterschritten.

Außerdem zeigte sich bei einem vierfachen Ozonbehandlungsversuch mit einer UO-Permeatprobe und anschließender Rückverkeimung, dass keine Resistenzen ausgebildet wurden. Die Ausbildung einer Resistenz könnte sich durch eine Veränderung der Biozönose hin zu einer ozonresistenteren Keimart ergeben. Das Versuchsergebnis bedeutet aber, dass z.B. in einem Vorratsbehälter oder in einem Ringleitungssystem mehrfach Intervallozonbehandlungen mit dem gleichen Wasser erfolgreich durchgeführt werden können.

Weitergehende Desinfektionsversuche mittels Ozon wurden in einem größeren Maßstab (100 L-Semibatch-Reaktor/Blasensäule) mit dem sehr resistenten Modellkeim *Bacillus atrophaeus* durchgeführt. Die Versuche mit dem Realwasser wurden wegen des Probenverkehrs möglichst kleinvolumig durchgeführt. Für ein Scale-Up stellt ein Reaktorvolumen von 100 L einen geeigneten Zwischenschritt dar. Der verwendete Keim neigt zu starker EPS-Bildung und Keimagglomeration. Dadurch konnte eine Optimierung der Desinfektion von stark verkeimten

Wasserproben mit einer organischen Matrixbelastung, die den UO-Permeaten entsprach, aufgezeigt werden. Als obere und untere Grenze der organischen Belastung der Modellwässer, wurde realitätsnah die tatsächliche Belastung der UO-Permeate knapp über bzw. unterschritten. Darüber hinaus wurden auch Daten aufgezeichnet, die die chemische Unbedenklichkeit in Bezug auf verbleibende Oxidationsmittel nach der Behandlung, dokumentieren.

Es zeigte sich bei der UV-Behandlung, dass die erhöhte organische Belastung innerhalb des gewählten Bereiches und die Erhöhung der Startkonzentration nur einen kleinen Einfluss auf die insgesamt erzielten, noch vermehrungsfähigen Keimzahlen hatten. Die Erhöhung der UV-Dosis führte nach einem exponentiellen Abfall zwar noch zu einer Abnahme der vermehrungsfähigen Keime, die aber aufgrund des Rückverkeimungsverhaltens als irrelevant anzusehen sind. Die Unterschiede innerhalb des gesamten Modells erstreckten sich bei der Restbelastung über etwas mehr als eine Log-Stufe (40-750 KBE/100mL). Eine steigende Bestrahlungsdosis führte in allen Fällen auch zu geringeren vermehrungsfähigen Restkeimbelastungen, aber nicht so, dass sich ein strikt linearer Abnahmeverlauf zeigte. Insgesamt führten die Versuche mit geringer Belastung und hoher UV-Dosis zu den besten Ergebnissen. Es ist aber nicht unbedingt erforderlich, für die Einhaltung der TVO-Kriterien mehr als die hier verwendete Anfangsbestrahlungsdosis von etwa 200 mJ/cm<sup>2</sup> einzusetzen, zumal sich auch keine erheblichen Vorteile in Bezug auf die Wiederverkeimungstendenz ergaben. Eine möglichst große Reduzierung der organischen Belastung durch Membranfiltration auf einen DOC-Wert deutlich kleiner als 6 mgC/L sollte trotzdem als Ziel definiert werden.

Die Ozondesinfektionsversuche erwiesen sich bei hoher organischer Belastung, selbst innerhalb der geringen Variationsbreite der organischen Belastung in diesem Modell, als deutlich anfälliger in Bezug auf die vermehrungsfähige Restkeimbelastung. Teilweise erstreckte sich der Unterschied über mehrere Log-Stufen bei der Restbelastung. Ursache dafür sind oxidative Nebenreaktionen mit der organischen Matrix. Es zeigte sich, dass eine höhere Ozonflüssigphasenkonzentration bei insgesamt gleicher Ozondosierung aber kürzerer Dosierungszeit zu besseren Ergebnissen führt, da weniger Neben- und Zerfallsreaktionen stattfinden. Die Ozonflüssigphasenkonzentration wird stark durch den Gehalt an organischer Matrix, aber auch durch die Geschwindigkeit der Ozondosierung beeinflusst. Daher wirkt sich bei der Ozondesinfektion eine optimale Abtrennung der organischen Bestandteile besonders effektiv aus.

Die erhöhte Ozonflüssigphasenkonzentration führt dazu, dass zusätzlich nach der Ozondesinfektionsbehandlung noch eine entsprechende Verweilzeit in einem Pufferbehälter oder eine Restozonreduzierungsmaßnahme bei der Anlagenplanung berücksichtigt werden muss. Der Zerfall erfolgt sehr schnell mit einer Halbwertszeit von weniger als 20 Minuten aufgrund der organischen Restbelastung und der Temperaturen. Die Echtzeiterfassung der Ozonflüssigphasenkonzentration bietet insgesamt ein geeignetes Instrument zur Steuerung der Desinfektionsbehandlung. Darüber hinaus gilt, dass bei der Ozondesinfektionsbehandlung eines Vorratsbehälters eine Permanentozonung einer Intervallozonung zur Unterdrückung der Rückverkeimung zu bevorzugen ist, um eine erneute Verkeimung und Oxidation der Keimzellwände möglichst zu unterdrücken. Bei erhöhten Ozonwerten kann der Zerfall bzw. die Anregung auch durch eine UV-Behandlung beschleunigt werden.

In weiteren Versuchsreihen mit Modellwässern wurde die Wirkung einer Kombination aus einer Ozon- und anschließender UV-Behandlung überprüft. Es zeigte sich, dass auch hier mit einer schnellen gegenüber einer langsamen Ozondosierung bei gleicher Gesamtdosismenge bessere Ergebnisse erzielt werden konnten. In einigen Fällen war nach der Behandlung bei geringen organischen Belastungen kein Keim pro 100 mL mehr nachweisbar. Aber auch bei den hohen Keim- und DOC-Belastungen reduzierte sich die Keimzahl auf maximal 13 KBE/100mL. Das bedeutet gegenüber einer einfachen UV- oder Ozonbehandlung noch mal eine Absenkung um ungefähr eine weitere Log-Stufe. Auch in Bezug auf die Rückverkeimungstendenz erwies sich das kombinierte System Ozon + UV-Behandlung als deutlich effektiver gegenüber den beiden separaten Behandlungsmethoden. Zum einen wurde die Primärbelastung an vermehrungsfähigen Keimen effektiver abgesenkt, so dass ein geringerer Startwert bei der Rückverkeimung erzielt wurde. Darüber hinaus konnte aber auch noch eine Hemmung bzw. Verzögerung der Rückverkeimung beobachtet werden, die sich selbst nach einer erneuten Keimkontamination auswirkte und somit eine erhöhte Depotwirkung darstellt. Die Ozonflüssigphasenkonzentration konnte durch die UV-Behandlung gleichzeitig soweit gesenkt werden, dass sie direkt am Ablauf der UV-Anlage die Grenzwerte zwar geringfügig überschritt, aber keine weiteren Behandlungsmaßnahmen zur Ozonreduktion erforderlich machten. Durch die Überwachung und Begrenzung der organischen Belastung und durch die Einstellung einer geeigneten Ozonflüssigphasenkonzentration kann der hygienische Zustand des Wassers nach den Vorgaben der TVO gewährleistet werden.

Der Einsatz dieses mehrstufigen Verfahrens inklusive einer Ozon- und/oder UV-Desinfektion stellt insgesamt eine Option dar, bei zukünftig noch erhöhtem Wasserstress eine ökonomische und sichere Lösung zur Brauchwasserherstellung mit Trinkwasserqualität aus Blancheurabwasser der Fertiggerichteherstellung und Reinigungsprozessen anzubieten. Mittlerweile existieren schon einige ähnliche verfahrenstechnische Anlagen, bei denen aus Abwasser (teilweise direkt aus kommunalen Kläranlagen) Brauchwasser mit Trinkwasserqualität gewonnen wird und im Anschluss auch wieder in direkten Kontakt mit Lebensmitteln kommt oder als Trinkwasser verwendet wird. Insgesamt ist aber noch ein großer Aufklärungsbedarf bei Verbrauchern und Technikanwendern festzustellen.

Bei der Untersuchung von Keimpopulationen konnten in den letzten Jahren enorme Fortschritte sowohl bei der qualitativen als auch bei der quantitativen Identifikation erzielt werden. Bei der Weiterentwicklung zukünftiger Methoden zur Keimidentifikation sollten zusätzlich noch weitere Kriterien berücksichtigt werden. Ein solches Analysensystem sollte eine einfache und praktikable, industriell einsetzbare Methode sein, so dass auch nach erfolgter Desinfektion durch chemische und physikalische Behandlungsmethoden ein schneller und absolut sicherer Nachweis innerhalb weniger Minuten erfolgen kann. Dieser Nachweis muss neben der Identifikation der Keime auch deren Vitalität und Vermehrungsfähigkeit nachweisen, um Aussagen über das Wiederverkeimungsverhalten in einer Probe zu erhalten. Im Sinne einer kurzfristigen Freigabe von industriellen Produktchargen zeigt sich an dieser Stelle auch weiterhin Forschungsbedarf auf.

Thermische Verfahren zur Sterilisation stellen nach Abtrennung der organischen Matrix eine

mögliche Verfahrensvariante dar. Jedoch schützt auch eine thermische Primärdesinfektion nicht vor erneuter Kontamination in einem Leitungsnetz. Die Abtrennung der organischen Matrix durch eine Vorbehandlung wird trotzdem erforderlich sein, um nicht weitere flüchtige organische Bestandteile z.B. durch einen Verdampfer in die überführte Kondensationsphase zu übernehmen und dadurch wieder eine hohe mikrobiologische Belastung des Wassers zu fördern. Insgesamt gilt es, die Stabilität des aufbereiteten Wassers ohne zusätzlichen Desinfektionsmitteleinsatz z.B. durch spezielle antibakterielle Oberflächenbeschichtungen zu erhöhen. Eine gezielte Wiederverkeimung vor der letzten UO-Filtrationsstufe, wie sie in der Arbeit diskutiert wird, stellt eine mögliche Option zur Reduzierung der Substratverfügbarkeit dar.

Auch Methoden zur Zerstörung von Bakterienagglomeraten und Biofilmen z.B. durch den Einsatz von Ultraschall sollten bei weiteren kombinierten Desinfektionsversuchen überprüft werden.

Eine zusätzliche Prozessoptimierung ist voraussichtlich durch die energetische Nutzung der im Abwasser vorhandenen organischen Matrix mit Hilfe einer anaeroben Hochleistungsbiologie (Biogasnutzung) im ersten Prozessschritt erzielbar.

---

## 7 Abkürzungs - und Symbolverzeichnis

### 7.1 Symbolverzeichnis

Symbol	Begriff	Einheit
A	Absorption	[ ]
B	Bindungslänge	[Å]
C	Konzentration des Desinfektionsmittels	[mg/L]
C <sub>n</sub>	Lebendkeimzahl	[ ]
d <sub>p</sub>	Partikel bzw. Molekülgröße	[m]
E	Bestrahlungsstärke	[W/cm <sup>2</sup> ]
H	Reaktionsenthalpie	[kJ/mol]
k	Reaktionsgeschwindigkeitskonstante	[ ]
P	Strahlungsleistung	[1W=1J/s]
p <sub>T</sub>	Transmembrandruck	[bar]
Q	Strahlungsenergie	[1Ws=1J]
τ	Mittlere Verweilzeit	[s]
T	Temperatur in Kelvin	[K]
T <sub>b</sub>	Siedepunkt	[°C]
T <sub>m</sub>	Schmelzpunkt	[°C]
λ	Wellenlänge	[nm]
μ	Dipolmoment	[D]

### 7.2 Abkürzungsverzeichnis

Abkürzung	Begriff
AIDS	Acquired Immune Deficiency Syndrome
AOC	Assimilierbarer organischer Kohlenstoff
BA	<i>Bacillus Atrophaeus</i>
BIA	<i>Berufsgenossenschaftlicher Arbeitsschutz</i>
BSE	Bovine spongiforme Enzephalopathie

CIP-Anlage	Clean in Place (-Anlage)
CSB	Chemischer Sauerstoffbedarf
CSTR	Continuous stirred reactor
DOC	Dissolved Organic Compounds
DSMZ	Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH
DVGW	Deutsche Vereinigung des Gas- und Wasserfaches e.V.
DWA	Druckwechseladsorption
EC	<i>Escherichia coli</i>
ELISA	Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay
EN	Europäische Norm
EPS	Extrazelluläre Polymere Substanz
EU	Endotoxin Units
FT-IR	Fourier Transformierte Infrarotspektroskopie
GfK	Glasfaser verstärkter Kunststoff
HPLC	High Performance Liquid Chromatography, Hochleistungsflüssigchromatographie
IR	Infrarot
ISO	International Organization for Standardization
IUV	Institut für Umwelt und Verfahrenstechnik
KBE	Kolonie bildende Einheiten
ML	<i>Micrococcus luteus</i>
MO	Mikroorganismus
OPUS	Optics User Software
PCR	Polymerase Chain Reaction
PFR	Plug Flow Reactor (idealer Rohrreaktor)
Ph Eur	Europäische Pharmakopöe
SARS	Severe acute Respiratory Syndrome
16S	16 Svedberg ( $S^{-1}$ )
THM	Trihalogenmethan
TVO	Trinkwasserverordnung
UF	Ultrafiltration
UN	United Nation
UO	Umkehrosmose
UV	Ultraviolett
UV-C	Kurzwelliges ultraviolettes Licht mit Wellenlängen von 100-280 nm

---

## 8 Literatur

- <sup>1</sup> Krämer, T.; Weltwassertag 2008/Was tun gegen die Wasserknappheit?/Neue Techniken sollen dem Wassermangel entgegenreten; Spektrum direkt; (21.03.2008); <http://www.wissenschaft-online.de/artikel/947313>
- <sup>2</sup> Shannon, Mark A.; Bohn, Paul W.; Elimelech, Menachem; Georgiadis, J. G.; Marinas, B. J.; Mayes, A. M.; Science and technology for water purification in the coming decades; nature 452; 301-310; (20.03.2008); [www.nature.com/nature/journal/v452/n7185/full/nature06599.html](http://www.nature.com/nature/journal/v452/n7185/full/nature06599.html)
- <sup>3</sup> Singh, P.; Bengtson, L.; The impact of warmer climate on melt and evaporation for the rainfed, snowfed and glacierfed basins in the Himalayan region; *J. Hydrol.* **300**, 140–154 (2005)
- <sup>4</sup> Barnett, T. P.; Adam, J. C.; Lettenmaier, D. P.; Potential impacts of a warming climate on water availability in snow-dominated regions; *Nature* **438**, 303–309 (2005)
- <sup>5</sup> Staab, Karl F.; Nutzung von biologisch gereinigtem Abwasser als Brauchwasser in der Industrie; *Abwassertechnik* 3 (1992); S. 126-134
- <sup>6</sup> DBU-Antrag zum Gesamtprojekt: Kooperationsvorhaben zwischen Hochschulen/Forschungseinrichtungen und Unternehmen „Neues biotechnologisches Verfahren zur Brauchwassergewinnung mit Trinkwasserqualität aus Abwässern der Lebensmittelproduktion“, (2000), Projektdarstellung online verfügbar: <http://chemie.uni-paderborn.de/fachgebiete/tc/ak-warnecke/forschung/abgeschlossene-projekte/entwicklung-eines-innovativen-biotechnologischen-verfahrens-zur-brauchwassergewinnung-mit-trinkwasserqualitaet-aus-abwaessern-der-lebensmittelindustrie>
- <sup>7</sup> EU Richtlinie 98/83 EG
- <sup>8</sup> EN 12740; Biotechnologie - Laboratorien für Forschung, Entwicklung und Analyse – Leitlinien für die Behandlung, Inaktivierung und Prüfung von Abfällen
- <sup>9</sup> Gmuender, F., K.; Sterilisation, Desinfektion und Hygiene; Foliensammlung, (Online verfügbar: 08/2008): <http://www.gmuender.org/bt/sterilisation1.pdf>
- <sup>10</sup> Campbell, Neil A. Biologie; Spektrum Akademischer Verlag Heidelberg, Berlin, Oxford; 1997, 1. korrigierter Nachdruck 1998; S. 543, 549-550, 562; S 163-164 und S. 548
- <sup>11</sup> Abbildungen in Anlehnung an Campbell, Neil A.; Biologie; Spektrum Akademischer Verlag Heidelberg, Berlin, Oxford; 1997, 1. korrigierter Nachdruck 1998; S. 126, S 155
- <sup>12</sup> Alberts, B.; Bray, D.; Lewis, J.; Ralf, M.; Roberts, K.; Watson, J. D.; Molekularbiologie der Zelle; 1. Auflage, VCH Weinheim (1986)
- <sup>13</sup> Dott, W.; Qualitative und Quantitative Bestimmung von Bakterienpopulationen aus aquatischen Biotopen; 6. Mitteilung: Wiederverkeimung in Trinkwasser; *Zbl. Bakt. Hyg., I Abt. Orig.* B188 (1983); S. 263-279
- <sup>14</sup> Liebers, V., Raulf Heimsoth, M.; Endotoxine – Wirkung und Nachweisverfahren; Berufsgenossenschaftliche Institut für Arbeitsschutz; BGFA-Info (01/2003) Endotoxine Onlinedokument (Stand 08/2008): <http://www.bgfa.ruhr-uni-bochum.de/publik/info0103/endotoxin.php>
- <sup>15</sup> Gudzuhn, A.; Virulenzfaktoren von E. coli aus gewaschenen Kolonbiopsien von Patienten mit kolorektalen Neoplasien; (Diss. 2003/ aus Medizinischen Fakultät Charite der Humboldt Universität Berlin); S. 12; <http://edoc.hu-berlin.de/dissertationen/gudzuhn-andrej-2003-03-17/PDF/Gudzuhn.pdf>
- <sup>16</sup> Flemming, Hans-Curt; Mikroorganische Wohngemeinschaften zwischen Bad und Backenzahn: Physikalische Chemie von Biofilmen; in: *Forum Forschung* (2000); S. 1-3
- <sup>17</sup> Flemming, H. C.; Wingender, J.; Relevance of microbial extracellular polymeric substances (EPSs). Part 1. Structural and ecological aspects.; in: *Water Science and Technology*; (2001); S.: 43
- <sup>18</sup> Eine Information des DVGW Technischen Komitees "Wassergüte" (veröffentlicht auch in DVGW energie|wasser-praxis 1/2003) Neuerungen im Umgang mit Befunden an Coliformen - Wegfall der 95-Perzentil-Regelung
- <sup>19</sup> Produktbeschreibung des Chromocult Coliform Agar der Firma Merck
- <sup>20</sup> Finney, M., Smullen, J., Foster, H.A., Broxk, S., Storey, D.M.; Evaluation of Chromocult coliform agar for the detection and enumeration of Enterobacteriaceae from faecal samples from healthy subjects, *Journal of Microbiological Methods*, 54 (2003) 353-358
- <sup>21</sup> Hoffmann, Otto; Snaidr, Jiri; Entwicklung und Evaluierung einer innovativen Gensonden-Technik zur schnellen und zuverlässigen Analyse von Trinkwasserkeimen; in: *GWF-Wasser Abwasser*; Ausgabe 6.2002, S.501-S.506

- 22 Manafi, M.: Schnellnachweis von Bakterien mittels fluorogener und chromogener Substrate, Forum Städte Hygiene 41 (1990); S. 181-184
- 23 Frahm, E.; Hübner, I.; Giebel, D. und Obst, U.: Nachweis von E-coli und Coliformen im Trinkwasser: Vergleich des Schnelltests Colilert mit der Standardmethode. GWF-Wasser/Abwasser 133 (1992) Nr. 5, S.247-250
- 24 Fischeider, Regine; DVWG-Projektkreis „Neue mikrobiologische Nachweisverfahren der Trinkwasserverordnung 2001“ Bisherige Erfahrungen mit den mikrobiologischen Verfahren der novellierten Trinkwasserverordnung (TrinkwV 2001), Information des DVGW-GTK Wassergüte
- 25 Wecker, M.; Hübner I.; Obst, U. und Bitter-Suermann, D.; Vergleichende Untersuchungen von Enterobacteriaceae in Trink und Oberflächenwasser mit neuen immunologischen und herkömmlichen mikrobiologischen Verfahren. Vom Wasser 69, (1987), S. 177-182
- 26 Hübner, I.; Obst, U.; Steinmetz, I. und Bitter-Suermann, D.; Microbiological-immunological rapid method to detect Legionellaceae in water; Acta Hydrochim. Hydrobiol. 20 (1992); S. 205-207
- 27 Schalch, B.; Alavi, R., Albert, T., Becker, B., Busch, U., Krumbholz, L., Lohneis, M., Sabrowski, A., Stephan, R., Schoen, R., Zychowska, M.; Nachweis von *Listeria monocytogenes* mit dem schnellen VIT-Gensondentest; S.: 1; PDF aus der Fleischwirtschaft; (10/2005); Deutscher Fachverlag GmbH; <http://www.chemietechnik.de/ai/resources/5fb1d5f613d.pdf>
- 28 PCR Application Manual 2nd edition, Roche
- 29 Ricke, S. C., Pillai, S. D.; Conventional and molecular methods for understanding probiotic bacteria functionality in gastrointestinal tracts; (1999); Crit. Rev Microbiol. 25 (1); 19-38
- 30 Angaben der Fa. Chemunex im Firmenproduktprospekt
- 31 Dreier, J.; Kleesiek, K.; Schnellnachweis von Fremdhefen und langsam wachsenden Bierschädlingen während der Bierproduktion; (2004); Abschlussbericht Projekt B 75; S: 109-110 Online verfügbar unter: <http://www.wifoe.org/Berichte%20und%20Dokumente/SchlussberichtB75.pdf>
- 32 Sheridan, G.E.C.; Masters; C. I.; Shallcross, J. A.; Mackey, B. M.; 1998; Detection of mRNA by reverse transcription-PCR as an indicator of viability in *Escherichia coli*; Appl. Envir. Microbiol. 64: 1313-1318
- 33 Qiang Fang; Beschleunigter Nachweis von Salmonellen in Lebensmitteln durch Fluoreszenz in Situ Hybridisierung (FisH) mit 23S-rRNA Sonden; Dissertation (2002); S. 81; Online verfügbar: [http://w210.ub.uni-tuebingen.de/dbt/volltexte/2002/497/pdf/Fang-Doktorarbeit%20\(2002\).pdf](http://w210.ub.uni-tuebingen.de/dbt/volltexte/2002/497/pdf/Fang-Doktorarbeit%20(2002).pdf)
- 34 Webseite des Umweltbundesamtes: [www.umweltbundesamt.de](http://www.umweltbundesamt.de), Liste der Aufbereitungsstoffe und Desinfektionsverfahren, Stand August 2007; PDF-File zum Download auf der oben genannten Website
- 35 Liste der Aufbereitungsstoffe und Desinfektionsverfahren gemäß §11 Trinkwasserverordnung 2001, 2. Änderung Stand 2004; UBA: [www.umweltbundesamt.de/uba-info-daten/daten/trink11.htm](http://www.umweltbundesamt.de/uba-info-daten/daten/trink11.htm)
- 36 Rautenbach, R.; Membranverfahren: Grundlagen der Modul und Anlagenauslegung Springer Verlag Berlin (1996)
- 37 Jakobs, Dirk; Stofftransport durch Nanofiltrationsmembranen unter Berücksichtigung von Biofilmen; Diss. Paderborn (2001); S.4; Shaker Verlag
- 38 Flemming, H.-C. (1994): Biofilme, Biofouling und mikrobielle Materialschädigung. Habilitationsschrift, Stuttgarter Siedlungswasserwirtschaftliche Berichte, Oldenbourg Verlag München, Band 129; 275 pp.
- 39 de Beer, D., Srinivasan, R. and Stewart, P.S. (1994): Direct measurement of chlorine penetration into biofilms during disinfection. Appl. Envir. Microbiol. 60, 4339-4344
- 40 Emde, K. M. E., D. W. Smith and R. Facey (1992): Initial investigation of microbially influenced corrosion (MIC) in a low temperature water distribution system. Water Res. 26, 169-175
- 41 Grobe, S., Fiedler, S., Wingender, J. u. Overath, H. (1994): Wirkung von Chlor und Wasserstoffperoxid auf schleimbildende Bakterien aus wasserführenden Systemen. Vom Waser 83, 407-424
- 42 Robbins, Justin B.; Fisher, Christopher W.; Moltz, Andrew G.; Martin, Scott E.; Elimination of *Listeria monocytogenes* biofilms by ozone, chlorine and hydrogen peroxide; in.: Journal of Food Protection; (2005); 68/3; S.:494-498
- 43 Dosti, Bilal; Guzel-Seydim, Zeynep; Greene, Annel K.; Effectiveness of ozone, heat and chlorine for destroying common food spoilage bacteria in synthetic media and biofilms; in.: International Journal of Dairy Technology; (2005); 58(1); p.:19-24
- 44 Nesaratnam, R.N. and T.R. Bott: Effects of velocity and sodium hypochlorite derived chlorine concentration on biofilm removal from aluminium tubes. Heat. Vent. Eng. 1984 Feb./March, p.: 5-8

- 
- 45 Exner, M. and G.J. Tuschewitzki (1983): Extrazelluläre polymere Substanzen von Mikroorganismen - Vorkommen und krankenhaushygienische Bedeutung. Hyg. Med. 8, 37-42
- 46 Avery, B.K.; Lemley, A.; Hornsby, A. G.; Cryptosporidium: A waterborn Pathogen; University of Florida; Institute of Food and Agricultural Sciences; (04/1998); (<http://edis.ifas.ufl.edu/SS189>)
- 47 Keegan, A. R.; Fanok, S.; Monis, P. T.; Saint, P. T.; Cell Culture Taqman PCR Assay for Evaluation of Cryptosporidium parvum disinfection; Applied and Environmental Microbiology, (05/2003); p: 2505-2511; Vol.: 69 No.: 5
- 48 White, D.C. and M.W. Mittelman: Biological fouling of high purity waters: mechanisms and consequences of bacterial growth and replication. 9th. Ann. Semicond. Pure Water Conf., (1990 Jan. 17-18), Santa Clara, California; 150-171
- 49 Guay, Cynthia; Rodriguez, Manuel; Serodes, Jean; Using ozone and chloramination to reduce the formation of trihalomethanes and haloacetic acids in drinking water; (6/2005); Desalination, Volume 176; Issues 1-3; p.: 229-240
- 50 Sorlini, Sabrina; Collivignarelli, Carlo; Trihalomethane formation during chemical oxidation with chlorine, chlorine dioxide, ozone of ten Italian natural waters; Desalination; (6/2005); Volume 176; Issue 1-3; p.: 103-111
- 51 Kaur, K., T.R. Bott and B.S.C. Leadbeater: Effect of ozone on Pseudomonas fluorescens. In: L.F. Melo, M.M. Fletcher, T.R. Bott and B. Capdeville (eds.): Biofilms-science and technology. Kluwer Acad., Dordrecht,(1990), S.:589-594
- 52 Shibata, Shingo; Takeda, Itaru; Kono, Takashi; Tachibana, Ippei; Katsumata, Hideyoshi; Water circulation system for water purification by supplying ozone and operation method of the system; Patent by Sumitomo Precision Products & Co, Ltd. Japan; Application: Jp 2003-357057 20031016; (2005)
- 53 de Oliveira, D. C., and J. Pinto Tde.. Study of sterilizing effectivity of different ethylene oxide gaseous mixtures using CFCs and HCFCs (Oxyfume 12R and 2002R). PDA J. Pharm. Sci. Technol.; (2002); 56:242-247.
- 54 Hom, H.; Neu, T.R.; Wulkow M.; Modelling the structure and function of extracellular polymeric substances in biofilms with new numerical techniques; in: Water science and technology: A journal of the International Association on Water pollution Research; (2001), S.: 43(6) 121-7
- 55 Momba, MNB.;Kfir, R.; Venter, SN.; Cloete, TE.; An overview of biofilm formation in distribution systems and its impact on the deterioration of water quality, South African Water Research Commission; (1/2000); [www.wrc.org.za/archives/watersa%20archive/2000/January/jan00\\_p59.pdf](http://www.wrc.org.za/archives/watersa%20archive/2000/January/jan00_p59.pdf)
- 56 Flemming; H.-C.; Verbundprojekt Erfassung des Kontaminationspotentials von Biofilmen in Aufbereitung und Verteilung von Trinkwasser; IWW Schriftenreihe, Band 36 (2002)
- 57 Pedersen, K.; Biofilm development on stainless steel and PVC surfaces in drinking water; (1990); Wat. Res. 24, 239-243
- 58 Grubert, L.; Tuschewitzki, G.-J.; Pätsch, B.; Rasterelektronenmikroskopische Untersuchungen zur mikrobiellen Besiedlung der Innenflächen von Wasseranschlusleitungen aus Polyethylen und Stahl; (1991) Wasser, Abwasser gwf 133, 310-313
- 59 Exner, M.; Tuschewitzki, G.-J.; Thofern, E.; Untersuchungen zur Wandbesiedlung der Kupferrohrleitung einer zentralen Desinfektionsmitteldosieranlage.; (1983); Zbl. Bakt. Hyg. I. Abt. Orig. B 177, 170-181
- 60 Byung, Soo Oh; Ha Young Jang; Yeon Jung Jung; Joon-Wun Kang; Microfiltration of MS2 Bacteriophage: Effect of ozone on membrane fouling; Department of Environmental Engineering, Journal of Membrane Science, (12/2007); Volume 306, Issues 1-2; p. 244-252
- 61 Uhl, Wolfgang; Wiederverkeimung von Trinkwasser, Teil 2, Der Einfluss von Aufbereitungsverfahren und die Sicherung und Kontrolle der Wasserqualität; in: bbr, Fachmagazin für Brunnen- und Leitungsbau, (1.2001); S. 38-42
- 62 van der Kooij, D. Hijnen, W.A.M.; Measuring the concentration of easily assimilable organic carbon (AOC) treatment as a tool of limiting regrowth of bacteria in distribution systems; Proc. Amer. Water Works Assoc. Water Techn. Conf. Houston, Americ. Water Assoc. Denver; 1985
- 63 Lund, V.; Ormerod, K. The influence of disinfection processes on biofilm formation in water distribution systems; Water Research; 1995; 29, p.: 1013-1021
- 64 Gottschalk, C.; Libra, J.A.;Saupe,A. Ozonation of Water and Waste Water;Wiley-VCH Verlag GmbH, D-69469 Weinheim; 2000; S.: 15
- 65 Le Chevallier, M.W.; Biocides and the current status of biofouling control in water systems; 1991; in: H.C. Flemming and G.G. Geesey (eds.); Biofouling and Biocorrosion in industrial water systems; p.: 113-132;
-

Springer Heidelberg

- 66 Maier Dietrich, Gilbert, Ernst, Kurzmann, Gerhard E.; Wasserozonung in der Praxis; DVGW Deutscher Verein des Gas und Wasserfaches e.V.; R. Oldenbourg Verlag München Wien;1993
- 67 van der Kooij,D; The effect of treatment on assimilable organic carbon in drinking water; in: Huck, P.M.; Toft, P. (Hrsg): Treatment of drinking water for organic contaminants (Proc 2nd Natl. Conf. On drinking Water, Edmonton Alta); Pergamon Press; New York; 1987; S. 317-328
- 68 Van der Kooij, D.; Hinjnen, W.A.M.; Kruithof, J.C.; The effect of Ozonisation, biological filtration and distribution on the concentration of easily assimilable organic carbon (AOC) in drinking water; Ozone Sci. Eng.; 11 (1989); S. 297-313
- 69 Frimmel, F. H., Kleiser, G.; Weitergehende Oxidationsverfahren in der Trinkwasseraufbereitung, Teil 4; DVGW-Forschungsstelle am Engler Bunte Institut (EBI); Zweckverband Bodensee Wasserforschung; (1999); S.: 68; Online verfügb. (Stand 2006): <http://edok01.tib.uni-hannover.de/edoks/e001/3090061391.pdf>
- 70 Hollemann, A. F., Wiberg, E.; Lehrbuch der Anorganischen Chemie; 101. Auflage; Walter de Gruyter; Berlin-New York; (1995); S.:516ff
- 71 Sicherheitshinweise im Hanbuch des verwendeten Ozongenerators Ozonmatic 4 HC
- 72 Maier Dietrich, Gilbert, Ernst, Kurzmann, Gerhard E.; Wasserozonung in der Praxis; DVGW Deutscher Verein des Gas und Wasserfaches e.V.; R. Oldenbourg Verlag München Wien; (1993)
- 73 Info auf der Webseite der Firma Wedeco (Stand 2008): [http://itt.wedeco.de/Ozone\\_Technology.419.0.html](http://itt.wedeco.de/Ozone_Technology.419.0.html)
- 74 Christen, S. D.; Praxiswissen der chemischen Verfahrenstechnik; Springer Berlin Heidelberg; (2005); Teil II, S. 1-305
- 75 Wolf, P; Abwasserdesinfektion nach biologischer Reinigung; in: Abschlussbericht der ATV-Arbeitsgruppe 2.8.1 „Desinfektion von Abwasser“; 34. Jahrgang (12/1987)
- 76 Ishizaki K, Sawadaishi D, Miura K, Shinriki N: Effect of ozone on plasmid DNA of Escheria coli in situ. Water Res (1987);21(7):823-828
- 77 Wentworth,P.,Mc Dunn, J.E.; Evidence for Antibody Catalyzed Ozone Formation in bacterial killing and Inflammation; in: Science Magazin, (13 December 2002), Vol 298, S. 2196
- 78 Leitzke, Achim; Mechanistische und kinetische Untersuchungen zur Ozonolyse von organischen Verbindungen in wässriger Lösung; Diss. Universität Duisburg-Essen; (2003)
- 79 Cho, M.; Chung, H.; Yoon, J.; Effect of pH and importance of ozone initiated radical reactions in inactivating *Bacillus subtilis* spores. Ozone Sci. Eng.; (2002); 24; p.:145-150
- 80 Elovitz, M. S.; von Gunten, U.; Kaiser, H. P.; Hydroxyl radical/ozone ratios during ozonation processes. II. The effect of temperature, pH, alkalinity, and DOM properties. Ozone Sci. Eng. 22; (2000); p.:123-150
- 81 Hunt, N. K.; Marinas, B. J.; Kinetics of *Escherichia coli* inactivation with ozone: chemical and inactivation kinetics. Water Res. 33; (1999); p.:2633-2641
- 82 Bancroft, K.; Chrostowski, P.; Wright, R. L.; Suffet, I. H.; Ozonation and oxidation competition values: relationship to disinfection and microorganisms regrowth; Water Res. 4, (1984); p.:473-478
- 83 Farooq, S.; Chian, E. S. K.; Engelbrecht, R. S.; Basic concepts in disinfection with ozone; J. Water Pollut; (1977); Control Fed 49 p.:1819-1831
- 84 Gyurek, L. L.; Li, H.; Belosevic, M.; Finch, G. R.; Ozone inactivation kinetics of *Cryptosporidium* in phosphate buffer. J. Environ. Eng.; (1999); Vol. 125; p.:913-914
- 85 Guittonneau, S.; Thibaudeau, D.; Meallier, P.; Free radicals formation induced by the ozonation of humic substances in aqueous medium. Catalysis Today 29; (1996); p.:323-327
- 86 Cho, M.; Chung, H.; Yoon, J.; Disinfection of water containing natural organic matter by using ozon-initiated radical reactions; Applied and Environmental Microbiology; April (2003); p.: 2284-2291; Vol. 69; No. 4
- 87 Facile, N.; Barbeau, B.; Prevost, M.; Koudjonou, B.; Evaluating bacterial aerobic spores as a surrogate for *Giardia* and *Cryptosporidium* inactivation by ozone. Water Res. 34; (2000); p.:3238-3246
- 88 Chick, H.; An investigation of the law of disinfection; Journal Hygiene 8 (1908); S.: 92-158
- 89 Bünning, G.; Kontinuierliche Wasserdesinfektion mittels Ozon in Rohrreaktoren; Diss. Fachbereich Chemie und Chemietechnik der Universität GH Paderborn; (1995)
- 90 Roy, D., Engelbracht, R.S., Chain, E.S.K.; Comparative inactivation of six enteroviruses by ozone; Ozon in Water Treatment-Applications, Operations and Technology American Water Works Association; Denver; (1985); S.: 233-237

- <sup>91</sup> Truckhacheva, T.V.; Gavrilov, V.B., Malama, G.A.; Astakhov, V.A.; Kinetic patterns of the death of microorganisms under the action of ozone; *Microbiology* Vol. 61 (4) ; (1992), S.:467-471
- <sup>92</sup> Hom, L. W.; Kinetic of chlorine disinfection in an ecosystem; *Journal of the sanitary Engineering Division Proceedings of the American Society of Civil Engineers* 98; (1972), S. 183-193
- <sup>93</sup> Chick, H.; An investigation of the law of disinfection; *Journal Hygiene* 8; 1908; S. 92-85
- <sup>94</sup> Finch, G. R.; Smith, D. W.; Stiles, M. E.; Dose Response of *Escherichia coli* in Ozone demand free phosphate buffer; *Water research*; Vol. 22 (12) (1988); S. 1563-1570
- <sup>95</sup> Katzenelson, E.; Kletter, B.; Schlechter, H.; Shuval, H.J.; Inactivation of viruses and bacteria by ozone; *Chemistry of water supply, treatment and distribution*; 1974; S. 409-421
- <sup>96</sup> Dahi, E.; Physicochemical aspects of disinfection of water by means of ultrasound and ozone; *Water Research* Vol. 10 (8); (1976); S.:677-684
- <sup>97</sup> Knieling, N. B.; Gekoppelte Fluidmechanische Modelle für Desinfektionsvorgänge und deren Effizienz in UV-Reaktoren; S. 11, 117-118; Diss. (2005) Uni. Cottbus, Fakultät der Umweltwissenschaften und Verfahrenstechnik
- <sup>98</sup> Gelzäuser, P. Keimreduktion im Abwasser durch UV Bestrahlung; in *Korrespondenz Abwasser*, 36. Jahrgang, (1/1989)
- <sup>99</sup> Schlegel, Hans G.; in: *Allgemeine Mikrobiologie*, Georg Thieme Verlag Stuttgart; 4. Auflage; (1975)
- <sup>100</sup> DSMZ - Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH; [www.dsmz.de](http://www.dsmz.de)
- <sup>101</sup> Burke, S. A.; Wright, J. D.; Robinson, M. K.; Bronk, B. V.; Warren, R. L.; Detection of Molecular Diversity in *Bacillus atrophaeus* by Amplified Fragment Length Polymorphism Analysis; in: *Appl. Envir. Microbiol.*; (2004 May); 70 (5); p.: 2786-2790
- <sup>102</sup> Alexander, M. *Introduction to Soil Microbiology*. John Wiley and Sons, Inc., New York; (1977)
- <sup>103</sup> Bernhardt, Jörg; *Bacillus subtilis*, online doc.: <http://microbiol.biologie.uni-greifswald.de:8080/institute/85>; Stand 2007; Institut for Microbiology and Molecular Biology, Greifswald; verfasst (20.3.2000)
- <sup>104</sup> Babel, Wolfgang, Hecker, Michael; *Physiologie der Mikroorganismen*; Urban & Fischer bei Elsevier; (1988)
- <sup>105</sup> Nakayama, A.; Yano, Y.; Kobayashi, S.; Ishikawa, M.; Sakai, K.; Comparison of pressure resistances of spores of six *Bacillus a.* strains with their heat resistances; *Appl. Environ. Microbiol.* 62; (1996); p.:3897-3900
- <sup>106</sup> Claus, D., Berkeley, R. C. W.; Genus *Bacillus* Cohn 1872, pp. 1105-1139. In: P.H.A. Sneath, et al. (eds.), *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Vol. 2. Williams and Wilkins Co., Baltimore, MD; (1986)
- <sup>107</sup> Wendrich, T. M., Marahiel, M. A.; Cloning and characterization of a *relA/spoT* homologue from *Bacillus subtilis*. *Mol. Microbiol.* 26: 65-79, (1997)
- <sup>108</sup> Hecker, M., Voelker, A.; Non-spezifische, allgemeine und multiple Stressresistenz von growth-restricted *Bacillus subtilis* Zellen durch die Expression des  $\sigma$ -B-Regulon; *Mol Microbiol*; 29:1129-1136; (1998)
- <sup>109</sup> Bruker; Charakterisierung von Mikroorganismen mit der FT-IR Spektroskopie (Arbeitsanleitung zum IFS 28/B Version 3.0 Fa. Bruker); Abbildung angelehnt an Verfahrensskizze in der Arbeitsanleitung
- <sup>110</sup> Birkenbeil, Helmut; in: *Einführung in die praktische Mikrobiologie*, Laborbücher Biologie; Diesterweg Salle Sauerländer Verlag Frankfurt am Main, Berlin, München; 1.Auflage; (1983) S.99
- <sup>111</sup> Rylander, R; Endotoxin in the environment – exposure and effects; *Review J. of Endotoxin research*; (2002); Vol. 8, No. 4 241-252
- <sup>112</sup> Klaus Feuerhelm Stand vom: (01.03.2001) [www.pts-aktuell.de/service/start.asp?File=Berichte&dokID=83](http://www.pts-aktuell.de/service/start.asp?File=Berichte&dokID=83)
- <sup>113</sup> Anwendungsbeschreibung der Fa. Pyroquant für den Endotoxintestkit
- <sup>114</sup> Vitatec UV-Systeme GmbH Betriebsanleitung UV Laborsysteme UVILAB-F
- <sup>115</sup> Philips Licht; Desinfektion mit UV-Strahlung, Strahlungsquellen, technische Hinweise, Anwendung; in: Veith-www-Edition; Produktinformation; April (2000)
- <sup>116</sup> Teckentrup, A., H; Aufbereiten von Kühlschmierstoffen, Diss. 1996; S. 94; Shaker Verlag
- <sup>117</sup> Aufnahme vom AirSep AS-12 der AirSep Corporation
- <sup>118</sup> Schematische Anlagenskizze des AirSep AS-12 der AirSep Corporation (in Anlehnung an Handbuchskizze)
- <sup>119</sup> Angaben der Fa BMT GmbH aus der Gerätebeschreibung
- <sup>120</sup> Angaben der Fa. Anseros aus der Gerätebeschreibung
- <sup>121</sup> Thiemt, Susanne; Verfahrensentwicklung zur Kompostelution: Experimente, Modellierung; Diss 2002; S. 92

- <sup>122</sup> Vereinfachte Abbildung in Anlehnung an einen Firmenprospekt der Fa. Pall Rochem (Hersteller)
- <sup>123</sup> Israel, O.; Zur Fourier Transformation Infrarot Spektroskopie (FTIR) in der Wasseranalytik; Diplomarbeit, Universität Paderborn; (2004)
- <sup>124</sup> Messdaten der Versuchsanlage/Pilotanlage beim Lebensmittel verarbeitenden Betrieb erstellt vom IUV Bremen
- <sup>125</sup> Finney, M., Smullen, J., Foster, H. A., Brox, S., Storey, D. M.; Evaluation of Chromocult coliform agar for the detection and enumeration of Enterobacteriaceae from faecal samples from healthy subjects, *Journal of Microbiological Methods*, 54 (2003) 353-358
- <sup>126</sup> Schlegel, Hans G.; in: *Allgemeine Mikrobiologie*, Georg Thieme Verlag Stuttgart; 4. Auflage; (1975), S.178
- <sup>127</sup> Templeton, Michael; Andrews, Rober, C.; Hofmann, Ron.; Particle characteristics influencing the UV disinfection of drinking water; Department of Civil Engineering; University of Toronto; Proceedings-Water Technology Conference and Exhibition; (2004); Publisher. American Water Works Association
- <sup>128</sup> Angaben auf der Webseite der Fa. Lenntech, Stand: (11.2006); [www.lenntech.com/deutsch/UV-Info.htm#Dosis/Wirkung-Verhältnis](http://www.lenntech.com/deutsch/UV-Info.htm#Dosis/Wirkung-Verhaeltnis)
- <sup>129</sup> Inhalt der Webseite Gifte.de; Stand: (09.2007): [www.gifte.de/B-%20und%20C-Waffen/peressigsaeure.htm](http://www.gifte.de/B-%20und%20C-Waffen/peressigsaeure.htm)
- <sup>130</sup> Pruß, A.; Chemische und Physikalische Verfahren zur Inaktivierung von Pathogenen Mikroorganismen in Allogenen Knochentransplantaten; Habilitationsschrift (2003) vorgelegt der Medizinischen Fakultät der Charité Universitätsmedizin Berlin; S. 22; <http://edoc.hu-berlin.de/habilitationen/pruss-axel-2004-10-18/PDF/Pruss.pdf>
- <sup>131</sup> Brown, M. R. W.; Collier, P. J.; Gilbert, P (1990); Influence of growth rate on susceptibility to antimicrobial agents: Modification of the cell envelop and batch and continous cultural studies; *J. Antimicrob. Chemother.* 34, 1623-1628
- <sup>132</sup> Al Hitimma; Gilbert, P; (1980); Change in preservative sensitivity for the USP antimicrobial agents effectiveness test microorganisms; *J. Appl. Bacteriol.* 49, 119-126
- <sup>133</sup> Radziminski, C. L.; Ballantyne, J.; Hodson, R.; Creason, R. C.; Andrews, Chauret, C.; Disinfection of *Bacillus subtilis* spores with chlorine dioxide: a bench-scale and pilot-scale study. *Water Res.* 36; (2002); p.:1629-1639
- <sup>134</sup> Eisenbrand, G.; Metzler, M.; *Toxikologie für Chemiker*; Stuttgart, Thieme Georg Verlag; (1994)
- <sup>135</sup> Cantor, K. P.; Water chlorination, mutagenicity, and cancer epidemiology; *Amercian Journal of Public Health*; 84 (8): 1211-1213; (1994)
- <sup>136</sup> Wilcox, P.; Williamson, S.; Mutagenic activity of concentrated drinking water samples; *Environmental Health Perspectives*; 69: 141-149; (1986)
- <sup>137</sup> Zieler, S.; Feingold, L.; Danley, R. A.; Craun, G.; Bladder Cancer in Massachusetts related to chlorinated and contaminated drinking water: A case control; *Archives of Environmental Health*; 43 (2); 195-200; (1988)
- <sup>138</sup> Dunnick, J. K.; Melnick, R. K.; Assesment of the carcinogenic potential of chlorinated water, *Experimetal studies of chlorine, chloramine and trihalomethanes*; *JNCI*; 8 (10); 817-823; (1993)
- <sup>139</sup> Schumacher, J.; Ozonung zur weitergehenden Aufbereitung kommunaler Kläranlagenabläufe; (2005); Diss. Prozesswissenschaften TU Berlin
- <sup>140</sup> Multhauf, Markus; Sanitisierung von Ringleitungssystemen für Pharmawasser; in: *Process PharmaTEC*; (3/2003); S. 26-27
- <sup>141</sup> Siemens NEWater-Projekt in Singapur im Klärwerk Kranji; Onlinequelle Stand vom: (20.06.2008); [http://w1.siemens.com/innovation/de/publikationen/zeitschriften\\_pictures\\_of\\_the\\_future/pof\\_fruehjahr\\_2006/infrastrukturen/infrastrukturen\\_singapur.htm](http://w1.siemens.com/innovation/de/publikationen/zeitschriften_pictures_of_the_future/pof_fruehjahr_2006/infrastrukturen/infrastrukturen_singapur.htm); (Projektlaufzeit und Erweiterung: 1999-2012)
- <sup>142</sup> Projekt (2006) der Envirochemie mit dem Milchverarbeiter TNUVA in Israel (Molkereiabwasser); Onlinequelle Stand: (20.06.2008); <http://www.envirochemie.de/Recycling-TNUVA.61.0.html>





## **A Anhang**

### **INHALTSVERZEICHNIS**

<b>A.1 Chemikalien, Messapparaturen, Anlagen.....</b>	<b>2</b>
<b>A. 1.1 Verwendete Chemikalien und biologisches Material .....</b>	<b>2</b>
<b>A. 1.2 Kenndaten der Pilotanlage.....</b>	<b>4</b>
<b>A. 1.3 Messapparaturen .....</b>	<b>4</b>
<b>A. 1.4 Anlagenkomponenten .....</b>	<b>5</b>
<b>A.2 Untersuchungsergebnisse von drei UO-Proben .....</b>	<b>6</b>
<b>A.3 TVO-Vorgaben.....</b>	<b>18</b>

## **A.1 Chemikalien, Messapparaturen, Anlagen**

### **A. 1.1 Verwendete Chemikalien und biologisches Material**

#### **A 1.1.1 Mikroorganismenstämme**

Die Mikroorganismen für die Modellwasserherstellung wurden von der DSMZ-Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH, Braunschweig, Germany bezogen.

#### **A 1.1.2 Nährböden und Zubereitung**

Die Nährböden wurden nach den folgenden Herstellerangaben hergestellt.

a) DEV Nähragar

Zubereitung: 35g Nährboden in dest. Wasser suspendieren und bis zum vollständigen Lösen erhitzen und danach 15 Minuten bei 121 °C autoklavieren.

pH-Wert: 7.3+/-0.2

SIFIN Institut für Immunopräparate und Nährmedien GmbH Berlin

Berliner Allee 317/321, 13088 Berlin

b) Hefeextrakt –Agar

Zubereitung: 24 g Nährboden in 1 Liter demin. Wasser lösen und anschließend durch Erhitzen im siedenden Wasserbad oder in strömenden Dampf autoklavieren.

pH-Wert: 7.2 +/- 0.2 bei 25 °C

Nach ISO 6222 und Swedish Standard SS 028171

Merck KGaA 64271 Darmstadt Germany

c) Enterokokken-Selektiv-Agar nach Slanetz Bartley

(m Enterococci Agar)

41,5 g Nährboden in 1 L Aqua dest. suspendieren und bis zum vollständigen Lösen vorsichtig unter Rühren erhitzen aber nicht mehr autoklavieren! Im Anschluss daran gut mischen und die Platten gießen und den pH-Wert auf 7.2 +/- 0.2 einstellen.

SIFIN Institut für Immunopräparate und Nährmedien GmbH Berlin

Berliner Allee 317/321,13088 Berlin

d) m-CP Agar (Basis)

34,1 g Nährboden in 500 mL Aqua Dest. suspendieren und bis zum vollständigen Lösen erhitzen und anschließend 15 Minuten bei 121 °C autoklavieren und auf 50 °C abkühlen.

Der Inhalt je einer Flasche Cycloserin/Polyvinyl Supplement, Phenolphthalein Supplement und Eisen (III)-chlorid Supplement (Artikelnummer TN 1330) nach Vorschrift lösen und anschließend zu 500

---

mL sterilem abgekühltem Basisnährboden geben. Nach gutem Mischen und können die Platten gegossen werden. Den pH-Wert dann auf 7.4 +/- 0.2 einstellen.

Artikel Nr./Code TN1288

SIFIN Institut für Immunopräparate und Nährmedien GmbH Berlin

Berliner Allee 317/321, 13088 Berlin

e) Chromocult® Coliformen Agar

26,5 g CCA in 1 Liter demin. Wasser im siedenden Wasserbad oder im strömenden Dampf unter regelmäßigen Umschwenken solange kochen bis der Nährboden vollständig gelöst ist, aber anschließend nicht autoklavieren und nicht überhitzen! Danach den Nährboden auf 45-50 °C abkühlen und die Platten gießen. pH-Wert: 6.8 +/- 0,2 bei 25 °C

Merck KGaA 64271 Darmstadt Germany

f) Pseudomonas-Agar

24,2 g Pseudomonas Agar (Basis) in 500 mL Aqua Dest. Suspendieren, 5 mL Glycerin zufügen und bis zur vollständigen Auflösung erhitzen. Anschließend 15 Minuten bei 121 °C autoklavieren und auf 50 °C abkühlen. Den Inhalt eines Röhrchens Pseudomonas C-N Selektiv-Supplement (Art. Nr.: TN 1323) in 2 mL sterilem Aqua dest. auflösen und zum abgekühltem Basisnährboden geben und anschließend gut mischen und die Platten gießen. Den pH-Wert muss dann auf 7.1 +/- 0,2 eingestellt werden.

Art. Nr. TN 1266

SIFIN Institut für Immunopräparate und Nährmedien GmbH Berlin

Berliner Allee 317/321, 13088 Berlin

f) Standard I-Nährbouillon

25 g in 1 Liter demin. Wasser auflösen und durch Erhitzen im siedenden Wasserbad oder im strömenden Dampf 15 Min. bei 121 °C autoklavieren. Den pH-Wert anschließend auf 7,5 +/- 0,2 einstellen.

Merck KGaA 64271 Darmstadt Germany

g) Kanamycin-Äsculin Azid Agar

42,7 g Kanamycin-Äsculin Azid Agar auf 1 Liter Aqua dest. suspendieren und anschließend bis zum vollständigen Lösen 15 Minuten bei 121 °C erhitzen und autoklavieren. Danach sollte gut gemischt werden und die Platten gegossen werden.

SIFIN Institut für Immunopräparate und Nährmedien GmbH Berlin, Berliner Allee 317/321, 13088 Berlin

### **A 1.1.3 Schnelltests und Testkits**

a) Ozonschnelltestset Spekroquant der Fa. Merck KGaA, 64271 Darmstadt Germany Messbereich: 0,01-7,50 mgO<sub>3</sub>/L (Art.Nr.: 1.00607.0001).

Die Herstellerangaben der Methode ist wie folgt angegeben: Ozon reagiert in Gegenwart von Kaliumiodid in schwach saurer Lösung mit Dipropyl-p-phenylendiamin (DPD) zu einem rot violetten Farbstoff, dieser kann dann photometrisch bestimmt werden. Die Messwellenlänge beträgt 557 nm, dar-

über hinaus kann für unterschiedliche Konzentrationsbereiche die Länge der Küvette variiert werden (Lambert Beersches Gesetz: Variation der Schichtdicke). Das Verfahren wird analog DIN 38408 G3 durchgeführt.

b) Wasserstoffperoxidteststäbchen Merckoquant® Fa. Merck KGaA, 64271 Darmstadt

c) Endotoxintestkit Testkit Pyrosate TM für Endotoxinbestimmung in Wasser und Dialysaten. Empfindlichkeit 0,25 EU/ml, Artnr. 28PS01A02, Fa. Pyroquant Diagnostik GmbH, Opelstraße 14, D64546 Mörfelden Walldorf

## **A. 1.2 Kenndaten der Pilotanlage zur biologischen Reinigung**

a) Biologische Stufe: Strahlzonenschlaufen-(SZR)-reaktor

Zulaufkonzentration: CSB = 7000 mgO<sub>2</sub>/L

Volumenstrom: 30-150 L/h

Reaktorvolumen: 180 L

Raumbelastung: 140 kgCSB/(m<sup>3</sup>d)

TS-Gehalt: 15 g/L

Schlammbelastung: 3-20 kgCSB/(m<sup>3</sup>d)

Verweilzeit im Reaktor: 1,2 h

b) Membranstufen: 3 UF-Rohrmodule und je 2 UO-Wickelmodule

UF-Membrane: Stork Rohrmodul, Polyvinylidenfluorid (PVDF), 40 nm

Membranfläche UF: 1,2 m<sup>2</sup>

Flux UF: 125 L/m<sup>2</sup>h

(UO/1)-Membrane: Filmtec spiralgewickelte Dünnschicht Kompositmembran

Membranfläche (UO/1): 2,5 m<sup>2</sup>

Flux (UO/1): 60 L/(m<sup>2</sup>h)

(UO/2)-Membran: CSM spiralgewickelte Dünnschicht Kompositmembran

Membranfläche (UO/2): 2,5m<sup>2</sup>

Flux (UO/2): 60 L/(m<sup>2</sup>h)

## **A. 1.3 Messapparaturen**

a) UV-Messgerät der Fa. Perkin Elmer Lambda 15 UV-VIS Spektrophotometer

b) FT-IR der Firma Bruker IFS 28/B

c) Merck UV-Photometer

d) BMT Ozonmessgerät für Ozon in der gasförmigen Phase

## **A. 1.4 Anlagenkomponenten**

a) Ozongenerator der Fa. Ozonmatic der Serie Modular 4 HC Baujahr 2002

Einsatzgas: Sauerstoff, Betriebsdruck: 1 bar, Gasstrom: 8-125 L/h, Ozonproduktion: Max. 4 g/h, zulässiger Betriebsüberdruck: 1 bar Überdruck, Elektrische Anschlusswerte: 230 V/50/60 Hz/2,2 kVA

b) Sauerstoffanreicherung der Fa. Airsep Corporation Modell AS-12

c) AD Wandler der Marke LabJack™ U12 Adapter

d) Datenerfassungsprogramm: Realview 1.0

---

## A.2 Untersuchungsergebnisse von drei UO-Proben

Tabelle 1: Chemische Parameter (Teil I)

Probe		1. UO. Permeat nach der zweiten UO-Filtrationsstufe	
Probennahme		IUV, Universität Bremen	
Stelle		P-UO2	
Datum		07.04.2003	
Konservierungsart		gekühlt	
Trübung		ohne	
Geruch		ohne	
Färbung		ohne	
pH-Wert		8,7	
Leitfähigkeit		166 $\mu\text{S}/\text{cm}$	
Lfd. Nr.	Parameter	Ergebnis [mg/L]	Grenzwert [mg/L]
1	Acrylamid	n.u. <sup>1)</sup>	0,0001
2	Benzol	n.u. <sup>6)</sup>	0,001
3	Bor	0,27	1
4	Bromat	n.u.	0,01
5	Chrom	< 0,01	0,05
6	Cyanid	< 0,01	0,05
7	1,2-Dichlorethan	n.u. <sup>6)</sup>	0,003
8	Fluorid	0,07	1,5
9	Nitrat*	< 0,10	50
10	Pflanzenschutzmittel und Biozidprodukte	n.u. <sup>3)</sup>	0,0001
11	Pflanzenschutzmittel und Biozidprodukte insgesamt	n.u. <sup>3)</sup>	0,0005
12	Quecksilber	< 0,001	0,001
13	Selen	< 0,001	0,01
14	Tetrachlorethen und Trichlorethen	n.u. <sup>6)</sup>	0,01

Tabelle 2: Chemische Parameter (Teil II)

Lfd. Nr.	Parameter	Ergebnis [mg/L]	Grenzwert [mg/L]
1	Antimon	< 0,001	0,005
2	Arsen	< 0,001	0,01
3	Benzo-(a)-pyren	n.u. <sup>6)</sup>	0,00001
4	Blei	< 0,001	0,01
5	Cadmium	< 0,001	0,005
6	Epichlorhydrin	n.u. <sup>1)</sup>	0,0001
7	Kupfer	0,02	2
8	Nickel	< 0,01	0,02
9	Nitrit*	< 0,01	0,5
10	Polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe $\Sigma$ 16	n.u. <sup>6)</sup>	0,0001
11	Trihalogenmethane	n.u. <sup>6)</sup>	0,05
12	Vinylchlorid	n.u. <sup>1)</sup>	0,0005
<p>Bemerkungen:</p> <p>*     filtriert</p> <p>n.u.   nicht untersucht</p> <p>1)     Nicht zu erwarten, da Transport der Rohstoffe in Jutesäcken erfolgt</p> <p>2)     Untersuchung erfolgt durch IUV Bremen</p> <p>3)     Eingrenzung in Abhängigkeit der Herkunft steht noch aus</p> <p>4)     nicht zu erwarten, da keine radioaktive Behandlung vorgenommen wurde</p> <p>5)     da kein Trinkwasser, sondern Abwasser</p> <p>6)     da in vorangegangenen Untersuchungen unter Grenzwert</p>			

Tabelle 3: Indikatorparameter

Lfd. Nr.	Parameter	Ergebnis	Grenzwert
1	Aluminium	< 0,01 mg/L	0,2 mg/L
2	Ammonium*	20,6 mg/L	0,5 mg/L
3	Chlorid*	3,83 mg/L	250 mg/L
4	Clostridium perfringens (inkl. Sporen)	n.u.	0
5	Eisen	0,01 mg/L	0,2 mg/L
6	Färbung (spektraler Absorptionskoeffizient Hg 436 nm)	n.u. <sup>5)</sup>	0,5 m <sup>-1</sup>
7	Geruchsschwellenwert	n.u. <sup>5)</sup>	2 bei 12 °C 3 bei 25 °C
8	Geschmack	n.u. <sup>5)</sup>	für den Verbraucher annehmbar und ohne anomale Veränderung
9	Koloniezahl bei 22°C	n.u.	ohne anomale Veränderung
10	Koloniezahl bei 36°C	n.u.	ohne anomale Veränderung
11	Elektrische Leitfähigkeit	166 µS/cm	2.500 bei 20 °C
12	Mangan	< 0,01 mg/L	0,05 mg/L
13	Natrium	8,44 mg/L	200 mg/L
14	Organisch gebundener Kohlenstoff (TOC)	4,6 mg/L	ohne anomale Veränderung
15	Oxidierbarkeit (CSB als Dichromat)	10,4 mg/L	5 mg/L O <sub>2</sub> <sup>7)</sup>
16	Sulfat*	0,74 mg/L	240 mg/L
17	Trübung	n.u. <sup>5)</sup>	1,0 (NTU)
18	Wasserstoffionen-Konzentration	8,7	≥ 6,5 und ≤ 9,5
19	Tritium	n.u. <sup>4)</sup>	100 Bq/L
20	Gesamtrichtdosis	n.u. <sup>4)</sup>	0,1 mSv/Jahr
<p>Bemerkung</p> <p>*     filtriert</p> <p>n.u.   nicht untersucht</p> <p>1)     Nicht zu erwarten, da Transport der Rohstoffe in Jutesäcken erfolgt</p> <p>2)     Untersuchung erfolgt durch IUV Bremen</p>			

- 
- |   |
|---|
| <p>3) Eingrenzung in Abhängigkeit der Herkunft steht noch aus</p> <p>4) nicht zu erwarten, da keine radioaktive Behandlung vorgenommen wurde</p> <p>5) da kein Trinkwasser, sondern Abwasser</p> <p>6) da in vorangegangenen Untersuchungen unter Grenzwert</p> |
|---|

Tabelle 4: Chemische Parameter (Teil I)

Probe		2. UO-Permeat nach der zweiten UO-Filtrationsstufe	
Probennahme		IUV, Universität Bremen	
Stelle		P-UO2	
Datum		14.07.2003	
Konservierungsart		gekühlt	
Trübung		ohne	
Geruch		fäkalisch	
Färbung		ohne	
pH-Wert		6,7	
Leitfähigkeit		230 $\mu\text{S}/\text{cm}$	
Lfd. Nr.	Parameter	Ergebnis [mg/L]	Grenzwert [mg/L]
1	Acrylamid	n.u. <sup>1)</sup>	0,0001
2	Benzol	< 0,001	0,001
3	Bor	0,14	1
4	Bromat	n.u.	0,01
5	Chrom	< 0,01	0,05
6	Cyanid	< 0,01	0,05
7	1,2-Dichlorethan	n.u. <sup>6)</sup>	0,003
8	Fluorid	0,098	1,5
9	Nitrat	< 0,01	50
10	Pflanzenschutzmittel und Biozidprodukte	n.u. <sup>3)</sup>	0,0001
11	Pflanzenschutzmittel und Biozidprodukte insgesamt	n.u. <sup>3)</sup>	0,0005
12	Quecksilber	< 0,001	0,001
13	Selen	< 0,001	0,01
14	Tetrachlorethen und Trichlorethen	< 0,001	0,01

Tabelle 5: Chemische Parameter (Teil II)

Lfd. Nr.	Parameter	Ergebnis [mg/L]	Grenzwert [mg/L]
1	Antimon	< 0,001	0,005
2	Arsen	0,002	0,01
3	Benzo-(a)-pyren	n.u. <sup>6)</sup>	0,00001
4	Blei (AAS)	< 0,01	0,01
5	Cadmium	< 0,001	0,005
6	Epichlorhydrin	n.u. <sup>1)</sup>	0,0001
7	Kupfer	0,18	2
8	Nickel	< 0,01	0,02
9	Nitrit	< 0,01	0,5
10	Polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe $\Sigma$ 16	n.u. <sup>6)</sup>	0,0001
11	Trihalogenmethane	< 0,001	0,05
12	Vinylchlorid	n.u. <sup>1)</sup>	0,0005
<p>Bemerkungen:</p> <p>Zusätzlich: LHKW: &lt; 0,001 mg/l</p> <p style="padding-left: 40px;">Zink: 0,27 mg/l</p> <p>n.u. nicht untersucht</p> <p>1) Nicht zu erwarten, da Transport der Rohstoffe in Jutesäcken erfolgt</p> <p>2) Untersuchung erfolgt durch IUV Bremen</p> <p>3) Eingrenzung in Abhängigkeit der Herkunft steht noch aus</p> <p>4) nicht zu erwarten, da keine radioaktive Behandlung vorgenommen wurde</p> <p>5) da kein Trinkwasser, sondern Abwasser</p> <p>6) da in vorangegangenen Untersuchungen unter Grenzwert</p>			

Tabelle 6: Indikatorparameter

Lfd. Nr.	Parameter	Ergebnis	Grenzwert
1	Aluminium	< 0,01 mg/L	0,2 mg/L
2	Ammonium	6,4 mg/L	0,5 mg/L
3	Chlorid	2,97 mg/L	250 mg/L
4	Clostridium perfringens (inkl. Sporen)	n.u.	0
5	Eisen	0,03 mg/L	0,2 mg/L
6	Färbung (spektraler Absorptionskoeffizient Hg 436 nm)	n.u. <sup>5)</sup>	0,5 m <sup>-1</sup>
7	Geruchsschwellenwert	n.u. <sup>5)</sup>	2 bei 12°C 3 bei 25°C
8	Geschmack	n.u. <sup>5)</sup>	für den Verbraucher annehmbar und ohne anomale Veränderung
9	Koloniezahl bei 22°C	n.u.	ohne anomale Veränderung
10	Koloniezahl bei 36°C	n.u.	ohne anomale Veränderung
11	Elektrische Leitfähigkeit	230 µS/cm	2.500 bei 20 °C
12	Mangan	< 0,01 mg/L	0,05 mg/L
13	Natrium	14,7 mg/L	200 mg/L
14	Organisch gebundener Kohlenstoff (TOC)	4,4 mg/L	ohne anomale Veränderung
15	Oxidierbarkeit (CSB als Dichromat)	9,0 mg/L	5 mg/L O <sub>2</sub> <sup>7)</sup>
16	Sulfat	0,45 mg/L	240 mg/L
17	Trübung	n.u. <sup>5)</sup>	1,0 (NTU)
18	Wasserstoffionen-Konzentration	6,7	≥ 6,5 und ≤ 9,5
19	Tritium	n.u. <sup>4)</sup>	100 Bq/L
20	Gesamtrichtdosis	n.u. <sup>4)</sup>	0,1 mSv/Jahr
<p><b>Bemerkungen:</b></p> <p>n.u. nicht untersucht</p> <p><sup>1)</sup> Nicht zu erwarten, da Transport der Rohstoffe in Jutesäcken erfolgt</p> <p><sup>2)</sup> Untersuchung erfolgt durch IUV Bremen</p> <p><sup>3)</sup> Eingrenzung in Abhängigkeit der Herkunft steht noch aus</p>			

- |    |  |
|----|--|
| 4) | nicht zu erwarten, da keine radioaktive Behandlung vorgenommen wurde |
| 5) | da kein Trinkwasser, sondern Abwasser                                |
| 6) | da in vorangegangenen Untersuchungen unter Grenzwert                 |

Tabelle 7: Chemische Parameter (Teil I)

Probe		3. UO-Permeat nach der zweiten UO-Filtrationsstufe	
Probennahme		IUV, Universität Bremen	
Stelle		P-UO2	
Datum		03.06.2003	
Konservierungsart		gekühlt	
Trübung		ohne	
Geruch		ohne	
Färbung		ohne	
pH-Wert		6,9	
Leitfähigkeit		93 $\mu$ S/cm	
Lfd. Nr.	Parameter	Ergebnis [mg/L]	Grenzwert [mg/L]
1	Acrylamid	n.u. <sup>1)</sup>	0,0001
2	Benzol	< 0,001	0,001
3	Bor	0,08	1
4	Bromat	n.u.	0,01
5	Chrom	< 0,01	0,05
6	Cyanid	0,002	0,05
7	1,2-Dichlorethan	n.u. <sup>6)</sup>	0,003
8	Fluorid	0,066	1,5
9	Nitrat*	< 0,10	50
10	Pflanzenschutzmittel und Biozidprodukte	n.u. <sup>3)</sup>	0,0001
11	Pflanzenschutzmittel und Biozidprodukte insgesamt	n.u. <sup>3)</sup>	0,0005
12	Quecksilber	0,002	0,001
13	Selen	0,007	0,01
14	Tetrachlorethen und Trichlorethen	< 0,001	0,01

Tabelle 8: Chemische Parameter (Teil II)

Lfd. Nr.	Parameter	Ergebnis [mg/L]	Grenzwert [mg/L]
1	Antimon	< 0,001	0,005
2	Arsen	< 0,001	0,01
3	Benzo-(a)-pyren	n.u. <sup>6)</sup>	0,00001
4	Blei (AAS)	0,005	0,01
5	Cadmium	< 0,001	0,005
6	Epichlorhydrin	n.u. <sup>1)</sup>	0,0001
7	Kupfer	0,01	2
8	Nickel	0,01	0,02
9	Nitrit*	0,01	0,5
10	Polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe $\Sigma$ 16	n.u. <sup>6)</sup>	0,0001
11	Trihalogenmethane	< 0,001	0,05
12	Vinylchlorid	n.u. <sup>1)</sup>	0,0005

Bemerkungen:

Zusätzlich: LHKW: 0,057 mg/l  
Zink: 0,24 mg/l

\* filtriert

n.u. nicht untersucht

1) Nicht zu erwarten, da Transport der Rohstoffe in Jutesäcken erfolgt

2) Untersuchung erfolgt durch IUV Bremen

3) Eingrenzung in Abhängigkeit der Herkunft steht noch aus

4) nicht zu erwarten, da keine radioaktive Behandlung vorgenommen wurde

5) da kein Trinkwasser, sondern Abwasser

6) da in vorangegangenen Untersuchungen unter Grenzwert

Tabelle 9: Indikatorparameter

1	Aluminium	< 0,01 mg/L	0,2 mg/L
2	Ammonium*	4,9 mg/L	0,5 mg/L
3	Chlorid*	0,52 mg/L	250 mg/L
4	Clostridium perfringens (inkl. Sporen)	n.u.	0
5	Eisen	< 0,01 mg/L	0,2 mg/L
6	Färbung (spektraler Absorptionskoeffizient Hg 436 nm)	n.u. <sup>5)</sup>	0,5 m <sup>-1</sup>
7	Geruchsschwellenwert	n.u. <sup>5)</sup>	2 bei 12 °C 3 bei 25 °C
8	Geschmack	n.u. <sup>5)</sup>	für den Verbraucher annehmbar und ohne anomale Veränderung
9	Koloniezahl bei 22°C	n.u.	ohne anomale Veränderung
10	Koloniezahl bei 36°C	n.u.	ohne anomale Veränderung
11	Elektrische Leitfähigkeit	93 µS/cm	2.500 bei 20 °C
12	Mangan	< 0,01 mg/L	0,05 mg/L
13	Natrium	4,79 mg/L	200 mg/L
14	Organisch gebundener Kohlenstoff (TOC)	1,2 mg/L	ohne anomale Veränderung
15	Oxidierbarkeit (CSB als Dichromat)	< 5 mg/L	5 mg/L O <sub>2</sub> <sup>7)</sup>
16	Sulfat*	0,22 mg/L	240 mg/L
17	Trübung	n.u. <sup>5)</sup>	1,0 (NTU)
18	Wasserstoffionen-Konzentration	8,7	≥ 6,5 und ≤ 9,5
19	Tritium	n.u. <sup>4)</sup>	100 Bq/L
20	Gesamtrichtdosis	n.u. <sup>4)</sup>	0,1 mSv/Jahr

## Bemerkungen:

\* filtriert

n.u. nicht untersucht

1) Nicht zu erwarten, da Transport der Rohstoffe in Jutesäcken erfolgt

2) Untersuchung erfolgt durch IUV Bremen

3) Eingrenzung in Abhängigkeit der Herkunft steht noch aus

- |    |  |
|----|--|
| 4) | nicht zu erwarten, da keine radioaktive Behandlung vorgenommen wurde |
| 5) | da kein Trinkwasser, sondern Abwasser                                |
| 6) | da in vorangegangenen Untersuchungen unter Grenzwert                 |
| 7) | Nachweis mit Kaliumpermanganat                                       |

### A.3 TVO-Vorgaben

In der Anlage 4 der TVO ist in §14 Abs. 1 die folgende Aussage zur Häufigkeit der Untersuchungen gemacht worden. Folgende Parameter sind danach routinemäßig zu untersuchen: *Clostridium perfringens* einschließlich Sporen (A:2), Coliforme Bakterien und *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* (A:4), Koloniezahl bei 22 °C und 36 °C. Aluminium (A:1), Ammonium, Eisen (A:1), Elektrische Leitfähigkeit, Färbung, Geruch, Geschmack, Nitrit (A:3), Trübung, Wasserstoffionen-Konzentration

Anmerkung A: 1-4:

- 1) Nur bei Verwendung als Flockungsmittel relevant.
- 2) Nur erforderlich, wenn das Wasser Oberflächenwasser entstammt oder von Oberflächenwasser beeinflusst wird.
- 3) Das gilt nur für Wasserversorgungsanlagen im Sinne von §3 Nr. 2 Buchstabe b und c.
- 4) Es ist nur erforderlich bei Wasser, das zur Abfüllung in Flaschen oder andere Behältnisse zum Zwecke der Abgabe vorgesehen ist.

Darüber hinaus gelten die folgenden mikrobiologischen Parameter. Tabelle 13 enthält eine Zusammenfassung der Anlage 1 und 3 (zu §5 Abs. 2 und 3) der TVO.

Tabelle 10: Mikrobiolog. Anforderungen an Wasser für den menschlichen Gebrauch

Parameter	Grenzwert [Anzahl/100mL]	Bemerkungen
E. coli	0	keine
Enterokokken	0	keine
Coliforme Bakterien	0	keine
Clostridium Perfringens	0	1)
Koloniezahl 22 °C	Ohne anomale Veränderung	2)
Koloniezahl 36 °C	Ohne anomale Veränderung	2)
<p>Bemerkung:</p> <p>1) Dieser Parameter braucht nur bestimmt zu werden, wenn das Wasser Oberflächenwasser entstammt oder von Oberflächenwasser beeinflusst wird. Wird dieser Grenzwert nicht eingehalten, initiiert die zuständige Behörde Nachforschungen im Versorgungssystem, um abzusichern, dass keine Gefährdung der menschlichen Gesundheit auf Grund eines Auftretens krankheitserregender Mikroorganismen, z.B. Cryptosporidium, besteht. Das Ergebnis dieser Nachforschungen wird der zuständige Behörde über die zuständige oberste Landesbehörde das Bundesministerium für Gesundheit mitgeteilt.</p> <p>2) Bei der Anwendung des Verfahrens nach Anlage 1 Nr. 5 TrinkwV. a.F. (außer Funktion seit 2003) gilt der Grenzwert von 100 KBE/mL. Bei Anwendung anderer Verfahren ist das Verfahren nach Anlage 1 Nr. 5 TrinkwV. a.F. für die Dauer von mindestens einem Jahr parallel zu verwenden, um entsprechende Vergleichswerte erzielen zu können. Der Unternehmer oder der sonstige Inhaber einer</p>		

Wasserversorgungsanlage haben demnach unabhängig vom angewandten Verfahren einen plötzlichen oder kontinuierlichen Anstieg unverzüglich einer zuständigen Behörde mitzuteilen.

---