

TECHNISCHE UNIVERSITÄT MÜNCHEN

Lehrstuhl für Bioverfahrenstechnik

Desinfektion mit hydrodynamischer Kavitation und Chlordioxid

Dipl.-Ing. Univ. Dominik Maslak

Vollständiger Abdruck der von der Fakultät für Maschinenwesen der Technischen
Universität München zur Erlangung des akademischen Grades eines
Doktor-Ingenieurs
genehmigten Dissertation.

Vorsitzender: Univ.-Prof. Dr.-Ing. habil. Boris Lohmann
Prüfer der Dissertation: 1. Univ.-Prof. Dr.-Ing. Dirk Weuster-Botz
2. Univ.-Prof. Dr. rer. nat. Harald Horn

Die Dissertation wurde am 18.01.2010 bei der Technischen Universität München
eingereicht und durch die Fakultät für Maschinenwesen am 04.03.2010
angenommen.

Vorwort

Diese Arbeit entstand aus den Ergebnissen meiner experimentellen Forschungsarbeiten von Oktober 2006 bis September 2009 als wissenschaftlicher Mitarbeiter am Lehrstuhl für Bioverfahrenstechnik.

Ich möchte mich an dieser Stelle herzlich bei den Personen bedanken die mit zu dieser Arbeit beigetragen, oder diese auch erst ermöglicht haben:

Allen voran Herrn Prof. Dirk Weuster-Botz, der es mir überhaupt ermöglichte dieses Thema unter seiner Betreuung bearbeiten zu dürfen und mich dabei immer vollstens unterstützte. Von der Schaffung der experimentellen Aufbauten und Möglichkeiten über viele hilfreiche Diskussionen und Anregungen bis hin zu der Unterstützung mit Veröffentlichung und Präsentationen konnte ich sehr viel von Ihm lernen.

Auch möchte ich dem zweiten Gutachter und Prüfer Herrn Prof. Harald Horn für die Übernahme dieser Aufgabe und seine abschließenden Hinweise danken. Dank gilt an dieser Stelle auch Herrn Prof. Boris Lohmann für die Übernahmen des Vorsitzes und seiner Sekretärin der Frau Regine Brammer für die reibungslose Organisation.

Ein besonderer Dank gilt hier den organisatorisch und handwerklich am meisten unterstützenden Händen des Lehrstuhls, ohne die so viele Dinge nicht umsetzbar gewesen wären oder nicht so reibungslos verlaufen wären. Vielen Dank an Markus, Irma, Norbert und Georg, dem Rückgrat des Lehrstuhls.

Auch all meinen Kollegen gilt ein sehr großer Dank, dass ich immer ein offenes Ohr für meine Fragen erhielt und eine so tolle kollegiale Arbeitsatmosphäre genießen durfte. Besonders bei Ralf möchte ich für die Unterstützung bei dem Messeauftritt bedanken und bei Michael, meinem Bürokollegen für viele anregenden Diskussionen und die herzliche Auflockerung des gemeinsamen Büroalltags.

Viele Ergebnisse entstanden erst mit tatkräftiger Unterstützung von Studenten unter anderem im Rahmen von Diplom-, Bachelor- und Semesterarbeiten. Vielen Dank an: Peter, Natalie, Ignaz, Moritz, Alexander, Nina und Steven.

Ich möchte auch meinen Eltern Franz und Hannelore für die langjährige mentale Unterstützung und vor allem für ihr Verständnis danken mich so oft entbehren zu können.

Besonders möchte ich meiner Lebensgefährtin Eva danken, die mir schon nun seit Jahren bei all meinen Sorgen und Probleme liebevoll mit Rat und Tat zur Seite gestanden ist und mich immer wieder vorantrieb nie aufzugeben. Auch für Ihr aufmerksames Korrekturlesen und vielen hilfreichen Diskussion bin ich ihr sehr dankbar. Weiter Danke ich noch den Korekturlesern Gerhard, Daniel und Johannes.

Auch ohne die Unterstützung vieler weiterer langjähriger Freunde wäre ich nicht so weit gekommen. Ihnen allen gilt auch mein herzlicher Dank.

Allen voran möchte ich diese Arbeit meinem langjährigen Freund und Bandkollegen Hans widmen. Einem unvergleichbaren, herzensguten und aufrichtigen Menschen, so dass es mich mit Stolz erfüllt, ihn als Begleiter auf meinem Lebensweg gehabt zu haben. Er spendete mir immer noch Mut und Worte des Zuspruches, obwohl er sich selbst in der wohl schlimmsten Situation befand, die ein Mensch wohl je zu ertragen hat.

Hans ich danke Dir! In Erinnerung für:

Hans Spiewok

(geb. 26.12.1981, gest. 15.07.2009)

Inhaltsverzeichnis:

1.	Einleitung	1
2.	Problemstellung und Zielsetzung.....	3
3.	Theoretische Grundlagen	5
3.1.	Grundlagen der Desinfektion und Keiminaktivierung.....	5
3.1.1.	Bedeutung und Relevanz der Wasserdeshinfektion.....	5
3.1.2.	Allgemeine Methoden der Desinfektion.....	6
3.1.3.	Chemische Desinfektionsmittel	8
3.1.4.	Einflüsse auf die Kinetik der Inaktivierung von Mikroorganismen.....	11
3.1.5.	Desinfektion von Prozess- und Abwasser	20
3.1.6.	Verfahrenskombinationen	22
3.2.	Chlordioxid als Desinfektionsmittel	24
3.2.1.	Stoffeigenschaften und Nachweis von Chlordioxid	24
3.2.2.	Darstellung und Anwendung von Chlordioxid	27
3.2.3.	Keiminaktivierender Wirkmechanismus	31
3.2.4.	Inaktivierung von <i>Escherichia coli</i> mittels Chlordioxid	33
3.2.5.	Vorteile gegenüber Chlor	37
3.3.	Grundlagen zur Kavitation	39
3.3.1.	Definition und Entstehung von Kavitation.....	40
3.3.2.	Ultraschallinduzierte Kavitation	45
3.3.3.	Hydrodynamische Kavitation.....	47
3.3.3.1.	<i>Die dimensionslose Kavitationskennzahl C_v</i>	48
3.3.3.2.	<i>Arten der hydrodynamischen Kavitation und Einflussfaktoren</i>	50
3.3.3.3.	<i>Technisch eingesetzte Kavitationserzeuger</i>	52
3.3.4.	Technische Anwendungen der Kavitation	55
3.4.	Biologische Anwendungen der Kavitation	56
3.4.1.	Nutzung in der Ultraschalldiagnostik und Therapie	56
3.4.2.	Zellaufschluss und selektive Trenntechnik	59
3.4.3.	Aufbereitung von Abwässern und Klärschlämmen.....	61
3.4.4.	Desinfektion	62
4.	Material und Methoden	67
4.1.	Aufbau zur Untersuchung von hydrodynamischer Kavitation.....	67
4.1.1.	Grundaufbau und Schemazeichnung.....	67
4.1.2.	Daten und wichtige technische Details.....	71
4.1.3.	Strömungstechnische Charakterisierung	74
4.2.	Versuchsdurchführung.....	76
4.2.1.	Allgemeine Vorbereitungen	76
4.2.2.	Durchführung reiner Kavitationsversuche	77

4.2.3.	In Kombination mit Chlordioxid.....	78
4.2.4.	Nachbereitungen und Reinigung der Versuchsanlage	82
4.3.	Puffer und Reagenzien	83
4.4.	Methoden und Durchführungen.....	85
4.4.1.	Anzucht und Keimzahlbestimmung von <i>E. coli</i>	85
4.4.2.	Darstellung und Analytik von Chlordioxid.....	87
4.4.3.	Versuche zur Inaktivierung von <i>E. coli</i> mit Chlordioxid.....	91
4.4.4.	Methoden zur Bestimmung der Membranpermeabilisierung	92
4.4.5.	Methoden zur β -Galaktosidaseextraktion und Nachweis	94
5.	Charakterisierung der Kavitationsapparaturen	96
5.1.	Kavitationsreaktor: Mikrogitter mit Nachlaufdüse	96
5.2.	Mehrlochblende.....	98
5.3.	Hydrodynamischer Vergleich.....	99
6.	Ergebnisse und Diskussion	104
6.1.	Inaktivierung von <i>Escherichia coli</i> mit Chlordioxid	104
6.1.1.	Einfluss der Chlordioxidkonzentration	104
6.1.2.	Einfluss der Temperatur	110
6.1.3.	Diskussion.....	111
6.2.	Wirkung von hydrodynamischer Kavitation auf <i>E. coli</i>	116
6.2.1.	Zellinaktivierung und Proteinfreisetzung	116
6.2.2.	Transiente Permeabilisierung der Zellmembran.....	120
6.2.3.	Diskussion.....	122
6.3.	Inaktivierung von <i>E. coli</i> mit Kavitation (Lochblende) und ClO_2.....	127
6.3.1.	Einfluss der Chlordioxidkonzentration	127
6.3.2.	Einfluss der Kavitationszahl	130
6.3.3.	Einfluss der Temperatur	132
6.3.4.	Vergleich bei verschiedenen Startkeimzahlen.....	132
6.3.5.	Diskussion.....	134
6.4.	Inaktivierung von <i>E. coli</i> mit Kavitation (GND) und ClO_2.....	138
6.4.1.	Einfluss der Kavitationszahl	138
6.4.2.	Einfluss der Temperatur	138
6.4.3.	Einfluss der Chlordioxidkonzentration	141
6.4.4.	Einfluss des Gegendrucks	143
6.4.5.	Diskussion.....	144
6.5.	Abschließender Vergleich und Diskussion.....	148
7.	Zusammenfassung	154
8.	Ausblick	158
8.1.	Anwendungspotential der Kavitation bei der Wasserdesinfektion....	158

8.2. Mögliche Optimierungen des Mikrogitters mit Nachlaufdüse	159
8.3. Hinweise zur maßstäblichen Vergrößerung.....	161
9. Literaturverzeichnis	163
10. Anhänge	178
10.1. Abkürzungen	178
10.2. Tabellen- und Abbildungsverzeichnis.....	181
10.3. Ergänzungen zur Versuchsanlage und des Steuerprogramms	187
10.4. Listen der Geräte, Materialien und Chemikalien.....	195

1. Einleitung

*Das Prinzip aller Dinge ist das Wasser,
denn Wasser ist alles und ins Wasser kehrt alles zurück.*

(Thales von Milet 625 – 545 vor Christus)

Wasser ist eines der am häufigsten vorkommenden Elemente auf dieser Erde und auch Grundlage von nahezu jeglichem Leben. Aber nicht alles vorhandene Wasser ist für den menschlichen Gebrauch nutzbar. Nur 2,6 % des Wasservorkommens der Erde ist Süßwasser und nur ein kleiner Bruchteil mit maximal 14.000 km³ pro Jahr ist für den menschlichen Gebrauch nutzbar (Susta, 2006). Schon heute werden global über 40 % dieser Ressourcen mit stark steigender Tendenz genutzt, so dass Wasser als zukünftig knappe Ressource geschont und gehaushaltet werden muss (Susta, 2006; Struckmeier, 2009). In den Industrienationen sind die größten Verbraucher von Wasser die Landwirtschaft, Industrie und die Energiewirtschaft. Die Industrie und Energiewirtschaft zusammen verbrauchten allein 1998 in Deutschland rund 35 Milliarden m³ Wasser im Gegensatz zu 6,5 Milliarden m³ für die öffentliche Trinkwasserversorgung. Der wohl am meisten unterschätzte Verbrauch an Wasser ist das sogenannte „virtuelle Wasser“, welches zur Produktion vom Rohstoff bis zum Endprodukt einer Ware investiert wird. Somit verbraucht beispielsweise die Herstellung eines Mikrochips 32 L, einer Tasse Kaffee 140 L oder eines PKWs gar 450.000 L „virtuelles Wasser“ (Glas, 2008a).

Die wachsende Weltbevölkerung und die damit einhergehende steigende Nachfrage an Konsumgütern und Wohlstand, verbunden mit dem jetzt schon stark vorhandenen Ungleichgewicht und der Knappheit der globalen Wasserressourcen und deren Verteilung, lässt die Entwicklung innovativer Wassernutzungssysteme zu einem essentiellen Schlüsselfaktor für das Wohl der Menschheit im 21. Jahrhundert werden. Schon jetzt liegen die weltweiten Aufwendungen und Investitionen im Bereich der Trinkwasseraufbereitung, dem Transport und der Abwasserbehandlung in einer Größenordnung von 300 – 400 Mrd. US Dollar, dem in naher Zukunft noch ein weiteres Wachstum vorausgesagt wird. Allein der Bereich der chemischen Desinfektion von Trinkwasser beläuft sich auf 5 Mrd. US Dollar mit geschätzten 10 – 15 % Marktwachstum (Susta, 2006).

Um im industriellen Sektor den Wasserverbrauch zu senken, werden zum einen neue effizientere und wassersparende Methoden und Maßnahmen der Produktion

und Wertschöpfung gefragt sein, zum anderen aber auch die mehrfache Nutzung des Rohstoffes Wasser. Dabei stellen sich hauptsächlich die Fragen nach der Wiederverwertbarkeit des Abwassers, die Möglichkeiten der Aufbereitung und die geforderte Menge und Einsatzqualität für den folgenden Nutzungsprozess. Brauchwasser fällt oft nicht als wirklich zu entsorgendes Abwasser an, sondern dient nur als Transport-, Kühl- oder Reinigungsmittel und weist weiterhin eine hohe Qualität auf (Glas, 2008b). Einer der wichtigsten Schritte der Aufbereitung von Brauchwasser ist die Desinfektion und Entkeimung und Keimfreiheit, da diese fast unabhängig von der Nutzung des Wassers auftritt. Fast überall wo Wasser ist, ist auch mikrobielles Leben und Wachstum möglich, was aber aus hygienischer oder auch technologischer Sicht immer unerwünscht ist und zu Schaden für Mensch, Maschine oder Produkt führen kann. Großtechnisch und aus hygienischer Sicht nachhaltig sicher sind hier fast ausschließlich chemische Desinfektionsmethoden wie die Chlorung, da diese durch ihre Remanenzwirkung eine Wiederverkeimung oder gar eine Keim-Neubildung verhindern können (WAT GmbH, 2009).

Mit zunehmender Industrialisierung nimmt auch die Komplexität und Menge an Abwasser zu. Bevor dieses aber wieder dem natürlichen Kreislauf zugeführt werden kann, bedarf es einer intensiven Aufreinigung und Desinfektion. Laut EG-Badegewässerrichtlinie (Richtlinie 2006/7/EG) ist eine Keimzahl von 500 Koloniebildenden Einheiten von *Escherichia coli* pro 100 ml Probe noch als ausgezeichnet einzustufen. Diese Grenzwerte sind aber gerade bei einer biologischen Abwasseraufreinigung nur schwer einzuhalten. Deshalb wird auch hier in manchen Gebieten teilweise eine chemische Desinfektion des Klärwerkablaufs zum Schutz der Gewässer und zum Erhalt der Badewasserqualität nachgeschaltet.

2. Problemstellung und Zielsetzung

Für große Mengen anfallenden Brauch- oder Abwassers eignen sich nur wenige Methoden zu einer nachhaltig hygienischen und sicheren Desinfektion. Physikalische Verfahren, wie die Filtration, sind zu aufwändig und zu teuer. UV-Behandlung ist bei trüben Gewässern nicht sicher und reduziert nur kurzfristig die Keimbelastung. Ozonisierung als halbtechnische Methode zeigt ebenfalls kaum eine Remanenzwirkung und kann mit unerwünschten Reaktionen eine zusätzliche chemische Belastung des Wassers hervorrufen. Chlorung als chemische Methode ist zwar kosteneffizient und zeigt zudem eine Langzeitwirkung, birgt aber ein hohes gesundheitliches Risiko durch die Bildung von unerwünschten und teilweise kanzerogenen Nebenprodukten, wenn entsprechende Wasserinhaltsstoffe vorliegen. Biologische Biozide sind meist gesundheitlich bedenklich und großtechnisch nicht ökonomisch einsetzbar.

Eine große Herausforderung für die am häufigsten eingesetzten chemischen Desinfektionsmittel sind hohe organische Frachten und Keimbelastungen, welche die Effizienz im Rahmen der erlaubten oder auch ökonomisch noch sinnvoll dosierten Mengen an Desinfektionsmittel stark herabsetzen, und eine Entkeimung auf den geforderten Hygienemaßstab alleine nicht mehr gewährleisten. Grund hierfür ist zum einen der schnelle chemische Verbrauch und die Abreaktion des Desinfektionsmittels, deren Wirkung meist auch auf ihrer oxidativen Reaktionsfreudigkeit beruht. Zum anderen bieten komplex zusammengesetzte Abwässer mit ihrer Schmutzfracht ein ideales Habitat für viele Mikroorganismen, die damit viel stärker vor dem oxidativen Angriff der Desinfektionsmittel geschützt sind. Abhilfe können hier Kombinationsverfahren leisten, die zum Teil die Nachteile der einzelnen Verfahren ausgleichen oder Synergien ausnutzen. Ein Beispiel ist die Kombination von chemischen Verfahren. Beim *Advanced Oxidation Process* (AOP) werden mehrere oxidierende Agenzien wie Wasserstoffperoxid und Ozon gleichzeitig verwendet. Zum anderen gibt es auch chemisch physikalische Kombinationen wie die Chlorbehandlung mit nachfolgender Filtration oder auch rein physikalische Kombinationen wie Filtration mit nachfolgender UV-Behandlung.

Das am häufigsten eingesetzte Chlor birgt das Problem der Bildung von kanzerogenen und gesundheitsschädlichen halogenierten Kohlenwasserstoffen. Bei

der Oxidation von organischen Inhaltsstoffen wird meist ein Chloratom mit auf den Reaktionspartner übertragen.

Bei dem Einsatz von Chlordioxid, als deswegen beliebter werdende Alternative zu Chlor, wird diese Reaktion nicht beobachtet, da seine Desinfektionswirkung auf eine rein oxidative Reaktion zurückzuführen ist. Der Nachteil dieses Verfahrens liegt jedoch bei den relativ hohen Produktionskosten der Ausgangsstoffe. Auch der Einsatz von hohen Konzentrationen an Chlordioxid führt zu dem unerwünschten Abbauprodukt Chlorit, welches in höheren Konzentrationen als gesundheitlich problematisch beschrieben wird. Eine Reduktion der einzusetzenden Mengen an Chlordioxid bietet jedoch zusätzlich auch noch ökonomische und ökologische Vorteile.

Ziel dieser Arbeit war daher die Kombination von hydrodynamischer Kavitation mit Chlordioxid reaktionstechnisch zu untersuchen und den zusätzlichen Energieaufwand zur Erzeugung der Kavitation zu minimieren.

Die Ziele stellen sich folgendermaßen dar:

- Entwicklung eines neuen energieschonenden Kavitationsreaktors
- Strömungsmechanische Charakterisierung des neuen Kavitationsreaktors und Vergleich mit der Lochblende als Referenz
- Untersuchung der Inaktivierungskinetik von *Escherichia coli* bei hohen Startkeimzahlen unter Einwirkung von Chlordioxid als Desinfektionsmittel
- Identifikation der Wirkung von hydrodynamischer Kavitation auf Zellen und insbesondere der Membranintegrität
- Untersuchung der prozesstechnischen Einflussgrößen auf die simultane Kombination der Desinfektion mittels Chlordioxid und der hydrodynamischen Kavitation. Variation der Parameter Chlordioxidkonzentration, Temperatur, Kavitationszahl und Gegendruck
- Vergleich der Lochblende mit dem neuen Kavitationsreaktor

3. Theoretische Grundlagen

3.1. Grundlagen der Desinfektion und Keiminaktivierung

3.1.1. Bedeutung und Relevanz der Wasserdeshinfektion

Nichts hat die allgemeine gesundheitliche Lebensqualität und auch Lebenserwartung in dem letzten Jahrhundert so stark erhöht wie die konsequente Entwicklung und der Fortschritt im Bereich der Hygiene. Insbesondere die hygienische und keimfreie Verfügbarkeit von Wasser hat einen sehr großen Teil dazu beigetragen.

Dies lehrt uns nicht nur die Geschichte, in der immer wieder Seuchen und Epidemien meist an Trinkwasser gekoppelt waren oder sich darüber ausbreiteten. Schon sehr früh in der Menschheitsgeschichte bis 2000 vor Christus ist die Problematik der fäkalen Verunreinigung von Wasser und die damit verbundene Ausbreitung von Krankheit erkannt worden. Aber erst die Kenntnisse der Neuzeit über die Korrelation von Gesundheit und Mikroorganismen sowie die Entwicklungen der Chemie und Technik brachten eine umfassende Verbesserung der allgemeinen Hygiene (Bess et al., 2004). Trotzdem ist die Bereitstellung von sauberem Trinkwasser auch heute noch ein global unzureichend gelöstes Problem. Das Risiko durch Wasser verursachter Krankheiten hat ein sehr großes Schadpotential sowohl für die Gesundheit und das soziale Gefüge als auch für die gesamte Volkswirtschaft eines jeden Landes (Hurst, 2001). Vor allem in der dritten Welt, wo viele Menschen keinen Zugang zu sauberem Wasser haben, sind jährlich bis zu 5 Millionen Opfer auf Grund mangelnder Wasserhygiene zu beklagen (Susta, 2006).

Welchen Stellenwert die Wasseraufbereitung und Desinfektion im Allgemeinen hat, ist aus den über Jahrzehnten angesammelten Verordnungen, Gesetzen, Normen und Regelwerken zur Brauch- und Abwasserbehandlung und Trinkwasserversorgung ersichtlich. Aber auch aus technischen Gründen ist eine Reduzierung von mikrobiologischem Wachstum ein wichtiger Aspekt um eine einwandfreie Funktion und den Betrieb von Anlagen zu gewährleisten. Eine sich stabil an Rohrwandungen anheftende Verkeimung und mikrobiologischer Bewuchs verengt auf Dauer den Rohrquerschnitt oder erniedrigt den Wärmeübergang. Bei Metallrohren leistet dieser Bewuchs auch einen wesentlichen Beitrag zu korrosiven Schäden. Auch wenn aus hygienischer Sicht eine Desinfektion nicht nötig wäre (Beispiel Kühlwasser) richtet

die Vermehrung von Mikroorganismen oftmals einen Schaden an, der auch ökonomisch gesehen eine Desinfektion rechtfertigt oder unabdingbar macht.

3.1.2. Allgemeine Methoden der Desinfektion

Unter Desinfektion wird im Allgemeinen die Inaktivierung oder Abtötung von krankheitserregenden Mikroorganismen und Viren bis zu einem nicht mehr für den Menschen schädlichen Grad verstanden. Je nach Anwendungsbereich (Flüssigkeit, Luft, Oberflächen, Geräte oder auch Lebensmittel) gibt es eine große Anzahl an die Aufgabenstellung angepasste Methoden und Verfahren. Je nach Art der Erzeugung der Desinfektionswirkung lassen sie sich anhand physikalischer, chemischer und biologischer Wirkmechanismen unterscheiden. Eine Übersicht mit einzelnen Beispielen ist in Abbildung 3.1 dargestellt.

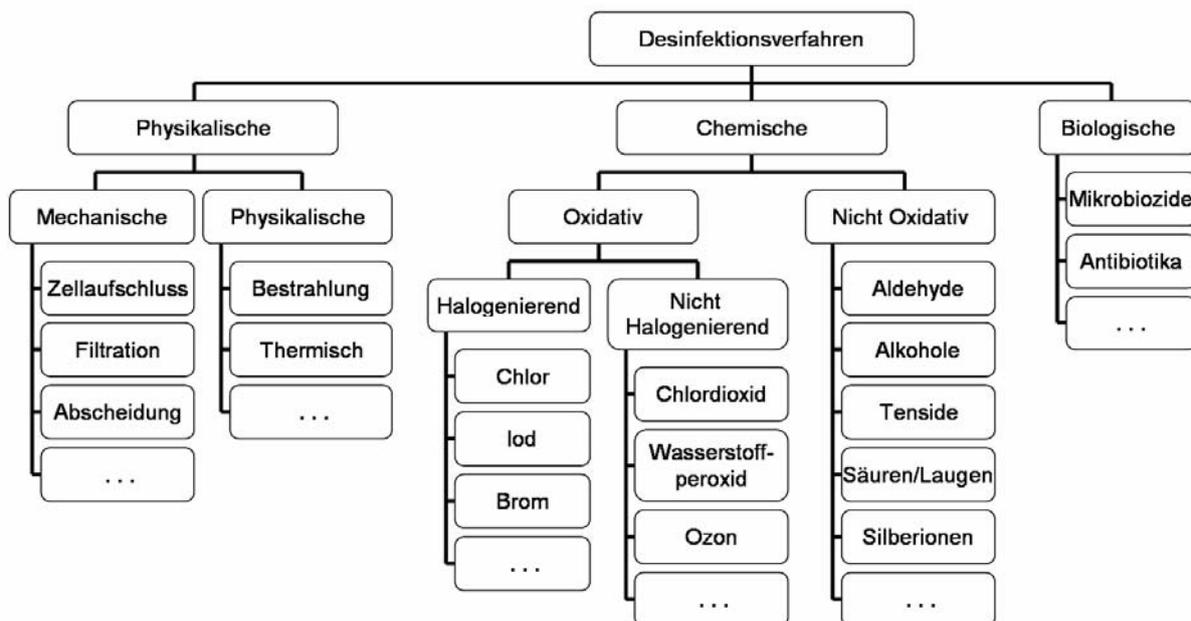


Abbildung 3.1: Einteilung der Desinfektionsverfahren.

Viele Methoden sind aus gesundheitlichen Gründen oder wegen mangelnder Breitenwirkung nur für Sonderfälle oder in Notlagen zu benutzen. Dazu gehört der Einsatz von Silberionen oder Aldehyden. Andere sind großtechnisch auf Grund der Kosten nicht nutzbar (Erhitzen oder steril Filtrieren und die meisten nicht oxidativen chemischen Desinfektionsmittel). Großtechnische Anwendung finden daher überwiegend oxidierende sowie nicht-oxidierende chemische Verfahren,

Filtrationsverfahren und die UV-Bestrahlung. Ökologisch gesehen sind die mechanischen Verfahren ohne Zusatz und Verwendung von Chemikalien prinzipiell die erste Wahl. Membranfiltrationen sind jedoch sehr arbeits- und kostenintensiv. Die Installation einer Großanlage (Filterleistung von $1800 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$) für die Nachfiltration von Abwasser geht mit Investitionskosten im zweistelligen Millionenbereich einher. Die Gesamtkosten der Behandlung umfassen je nach Anlage und Wasserqualität $0,2 - 0,82 \text{ € m}^{-3}$ (Krampe and Vetter, 2003). Die technische Handhabung von Membranfiltern ist ebenfalls sehr aufwändig. Sie sind nicht anpassungsfähig an wechselnde Zulaufmengen und hohe Schmutzfrachten, die auch eine hohe Rückspülrate mit Anfall von Filtratschlämmen bedingen. Zudem muss für einen kontinuierlichen Betrieb von Querstrom-Filtern regelmäßig mit Desinfektionsmittel(n) rückgespült werden, um ein Fouling und damit die Verblockung der Membran zu unterbinden (Arbeitsbericht DWA, 2002). Es werden auch hohe Anforderungen an die Zulaufqualität des zu behandelnden Wassers gestellt, um Schäden an den Membranen zu verhindern. Eine Abreicherung von Viren ist mit den meisten Mikrofiltrationsanlagen nicht möglich (Baumann, 2007).

Die UV-Bestrahlung verliert ihre Desinfektionssicherheit bei trüben UV-absorbierenden Wässern. Erhöhte Eisen- oder Mangangehalte können Ablagerungen an den UV-Strahlern verursachen und damit die Effizienz dramatisch herabsetzen. Zudem hat die Wassertemperatur Einfluss auf die Lebensdauer der UV-Strahler, die im Bereich von 8.000 – 15.000 Betriebsstunden liegt. Zu niedrige Temperatur schwächt (Baumann, 2007) wiederum die Strahlungsintensität (Krampe und Vetter, 2003). Eine Remanenzwirkung liegt bei UV-Behandlungen nicht vor (Roeske and Ritter, 2007). Die abgetöteten Zellen dienen nach der Behandlung sogar wieder als Nährboden für erneutes Wachstum. Energetisch gesehen stellt die UV-Behandlung jedoch die effizienteste Lösung mit Gesamtkosten von $0,03 - 0,08 \text{ € m}^{-3}$ dar (Krampe und Vetter, 2003).

Auch kostengünstig mit $0,05 - 0,20 \text{ € m}^{-3}$ ist die Ozonisierung als Verfahren zu erwähnen. Ozon ist das stärkste Desinfektionsmittel unter den chemischen Desinfektionsmitteln (Keiminaktivierung von wenigen Sekunden bis Minuten), hat aber nur eine sehr geringe Halbwertszeit und wird in Gegenwart von hoher organischer Last binnen Sekunden verbraucht. Dem kann nur durch höhere Dosierung entgegengewirkt werden, wobei die Löslichkeit von Ozon sowie unkontrollierte Nebenreaktionen mit organischen Stoffen eine Obergrenze setzen.

Bei kurzen Halbwertszeiten ist auf eine sehr gute Verteilung und Mischung des Ozons zu achten, um eine sichere und gleichmäßige Desinfektion zu erreichen. Eine Remanenzwirkung liegt nicht vor und es werden sogar gegenteilige Effekte beschrieben, da höher molekulare Verbindungen durch Ozon gespalten werden können und damit für eine Wiederverkeimung besser verfügbar sind (Krampe und Vetter, 2003).

Stehen die Sicherstellung der Remanenzwirkung an oberster Stelle, sind chemische Desinfektionsmittel wie Chlor, Hypochlorite oder Chlordioxid die einzige Wahl.

3.1.3. Chemische Desinfektionsmittel

Das Wirkungsprinzip von chemischen Desinfektionsmitteln auf Chlorbasis, Ozon, Chlordioxid oder auch Wasserstoffperoxid beruht hauptsächlich auf ihrer oxidativen Eigenschaft. Höhere organische Verbindungen werden dabei bevorzugt oxidiert und meist in ihrer Struktur verändert. Diese Veränderungen führen bei einfachen Lebewesen wie Mikroorganismen und Viren zu einer schnellen letalen Schädigung oder Zerstörung ihrer Teilungsfähigkeit.

Chemische Desinfektionsmittel werden nicht nur in der Wasseraufbereitung sondern auch in vielen anderen Bereichen wie der Raumluf- und Oberflächenentkeimung sowie Rohstoff- und Verpackungsmittelentkeimung verwendet. Auch Lebensmittel werden häufig beispielsweise mit Ozongas oder wässrigen Lösungen aus Desinfektionsmitteln gewaschen, um die oberflächliche Keimbelastung zu minimieren und die Haltbarkeit zu erhöhen (Fernando, 2009). Der Vorteil der chemischen Desinfektionsmittel ist dabei ihre effiziente Wirkung bei einer fast rückstandsfreien Anwendung.

Für die Trinkwasseraufbereitung beschränken sich die Desinfektionsverfahren auf Desinfektionsmittel, die nach § 11 Trinkwasserverordnung (TrinkwV, 2001) zugelassen sind. Diese Liste wird durch das Umweltbundesamt (UBA) geführt und zusammen mit dem Deutschen Verein des Gas- und Wasserfaches (DVGW) auf einem möglichst aktuellen technischen Stand gehalten. Eine Zusammenfassung der Liste nach UBA (UBA, 2009) mit Angaben zu Einsatzmenge, Grenzen, Vorsichtsmaßnahmen und zusätzlichen Hinweisen ist in der Abbildung 3.2 gegeben (ohne Angabe der technischen Dosierungen und der halbertechnischen oder physikalischen Methoden wie UV-Bestrahlung, elektrolytischen Herstellung und

Dosierung von Chlor vor Ort sowie Erzeugung und Dosierung von Ozon und Ozonlösung vor Ort). Auch oxidierende Stoffe wie Wasserstoffperoxid oder Kaliumpermanganat sind für die Wasseraufbereitung nach UBA zugelassen, aber streng genommen nur für die Oxidation, Fällung oder Entfärbung des Trinkwassers und nicht explizit für die Desinfektion. Die wesentlichsten Unterschiede bei den chemischen Desinfektionsmitteln treten in der Desinfektionsleistung und Remanenzwirkung auf, die zum Teil die möglichen Einsatzgebiete einschränken. Bei der Desinfektionsleistung kann folgende Abstufung gemacht werden: Ozon > Chlordioxid > Chlor > Aktivchlorprodukte (Natriumhypochlorit, Chloramine, etc.). Die Effizienz von Ozon ist beispielsweise bis zu tausendfach höher als die von Chloraminen. Die Remanenzwirkung dagegen verhält sich genau umgekehrt. Hier ist die Reihenfolge Chloramine > Chlordioxid > Chlor > Ozon. Während Chloramine bis zu Tage messbar sind, ist Ozon schon nach wenigen Minuten komplett verbraucht (Roeske and Ritter, 2007).

Somit prädestiniert sich Chlordioxid als eigentlich bester Kompromiss. Einzig die Darstellungskosten und die durch Chlorit-Bildung begrenzte Einsatzmenge stehen als Nachteil entgegen. Die Kosten für die Chlordioxid-Desinfektion sind im Schnitt bis zu 9-fach höher als die von Chlorgas (Roeske and Ritter, 2007).

3 Theoretische Grundlagen

Stoffname	CAS-Nummer	EINECS-Nummer	Verwendungszweck	Reinheitsanforderungen	Zulässige Zugabe	Konzentrationsbereich nach Abschluss der Aufbereitung *)	zu beachtende Reaktionsprodukte	Bemerkungen
Calciumhypochlorit	7778-54-3	231-908-7	Desinfektion	DIN EN 900 Tab 1: Typ 1	1,2 mg/L freies Cl ₂	max. 0,3 mg/L freies Cl ₂ min. 0,1 mg/L freies Cl ₂	Trihalogenmethane, Bromat	Zusatz bis zu 6 mg/L freies Cl ₂ und Gehalte bis 0,6 mg/L freies Cl ₂ nach der Aufbereitung bleiben außer Betracht, wenn anders die Desinfektion nicht gewährleistet werden kann oder wenn die Desinfektion zeitweise durch Ammoniumum beeinträchtigt wird.
Chlor	7782-50-5	231-959-5	Desinfektion, Herstellung von Chlordioxid	DIN EN 937 Tab 1 und Tab 2: Typ 1	1,2 mg/L freies Cl ₂	max. 0,3 mg/L freies Cl ₂ min. 0,1 mg/L freies Cl ₂	Trihalogenmethane	Zusatz bis zu 6 mg/L freies Cl ₂ und Gehalte bis 0,6 mg/L freies Cl ₂ nach der Aufbereitung bleiben außer Betracht, wenn anders die Desinfektion nicht gewährleistet werden kann oder wenn die Desinfektion zeitweise durch Ammoniumum beeinträchtigt wird.
Chlordioxid	10049-04-4	233-162-8	Desinfektion	DIN EN 12671 Nur Angaben zu den Ausgangsstoffen (EN 937, 939, 938, 12926)	0,4 mg/L ClO ₂	max. 0,2 mg/L ClO ₂ min. 0,05 mg/L ClO ₂	Chlorit	Ein Höchstwert für Chlorit von 0,2 mg/L ClO ₂ nach Abschluss der Aufbereitung muss eingehalten werden. Der Wert für Chlorit gilt als eingehalten, wenn nicht mehr als 0,2 mg/L Chlordioxid zugegeben werden. Möglichkeit von Chloratbildung beachten.
Natriumhypochlorit	7681-52-9	231-668-3	Desinfektion	DIN EN 901 Tab 1: Typ 1 Grenzwert für Verunreinigungen mit Chlorat (NaClO ₃): < 5,4 % (m/m) des Aktivchlors	1,2 mg/L freies Cl ₂	max. 0,3 mg/L freies Cl ₂ min. 0,1 mg/L freies Cl ₂	Trihalogenmethane, Bromat	Zusatz bis zu 6 mg/L freies Cl ₂ und Gehalte bis 0,6 mg/L freies Cl ₂ nach der Aufbereitung bleiben außer Betracht, wenn anders die Desinfektion nicht gewährleistet werden kann oder wenn die Desinfektion zeitweise durch Ammoniumum beeinträchtigt wird.
Ozon	10028-15-6	233-069-2	Desinfektion, Oxidation	DIN EN 1278 Anhang A.3.2	10 mg/L O ₃	≤ 0,05 mg/L O ₃	Trihalogenmethane, Bromat	Siehe auch Liste Teil I a

Abbildung 3.2: Liste der zugelassenen Desinfektionsmittel für die Trinkwasseraufbereitung nach dem Umwelt Bundesamt (Stand 2009).

3.1.4. Einflüsse auf die Kinetik der Inaktivierung von Mikroorganismen

Die Inaktivierung von Mikroorganismen zeigt bei den chemischen Desinfektionsmitteln, ähnlich wie bei Hitze oder UV-Bestrahlung, prinzipiell eine Reaktion erster Ordnung. Mit fortschreitender Einwirkzeit lässt sich eine exponentielle Abnahme der Keime feststellen, die sich mit steigender Konzentration an Desinfektionsmittel verstärken lässt. Meist wird dabei die Annahme getroffen, dass sich das Desinfektionsmittel nicht verbraucht. In der Realität beobachtet man aber eine sich mit der Zeit reduzierende Konzentration des Desinfektionsmittels. So lange der Verbrauch aber gering ist oder die Inaktivierungsgeschwindigkeit nur in der Anfangsphase betrachtet wird, lässt sich die Beschreibung der Kinetik mit dem so genannten „Watson-Chick“-Modell (Chick, 1908; Watson, 1908) mit der Definition einer Reaktion nach pseudo erster Ordnung beschreiben:

$$-\frac{dN}{dt} = k \cdot N \cdot C^n \quad \text{Gleichung 1}$$

Oder nach Integration:

$$\ln \frac{N}{N_0} = -k \cdot C^n \cdot t \quad \text{Gleichung 2}$$

Mit N = Konzentration der Keime zum Zeitpunkt t , N_0 = Startkonzentration der Keime zum Zeitpunkt $t = 0$, k = Geschwindigkeitskonstante der Inaktivierung, C = Konzentration an Desinfektionsmittel, t = Zeit und n = Verdünnungsfaktor. Der Verdünnungsfaktor beschreibt dabei den Einfluss der Änderung der Desinfektionsmittelkonzentration auf die Inaktivierungsgeschwindigkeit. Für eine 99 % Abtötung von Keimen ergibt sich damit:

$$\frac{4,605}{k} = C^n \cdot t_{99} \quad \text{Gleichung 3}$$

Mit t_{99} = Zeit zum Erreichen von 99 % an Keimzahlreduktion. Abhängig von dem Wirkungsmechanismus des Desinfektionsmittels, der Art des Keimes und weiterer physikochemischer Randbedingungen wie vornehmlich der Temperatur oder des pH stellen sich auch ganz unterschiedliche Inaktivierungsgeschwindigkeiten ein. Dies wird oft auch als $C \cdot t$ -Konzept beschrieben (Hoff und Akin, 1986). Die doppelt logarithmische Auftragung der Desinfektionsmittelkonzentration C als Funktion der

Abtötungszeit t_{99} ermöglicht den Vergleich verschiedener Desinfektionsmittel und Desinfektionsbedingungen (Siehe Abbildung 3.3; Hoff, 1986). Der Verdünnungsfaktor n entspricht dabei dem negativen Kehrwert der Steigung der Geraden. Er lässt sich alternativ auch rechnerisch durch Logarithmierung der Gleichung 3 bestimmen (hier nach t_{99} aufgelöst):

$$\log t_{99} = \log \left(\frac{4,605}{k} \right) - n \cdot \log C \quad \text{Gleichung 4}$$

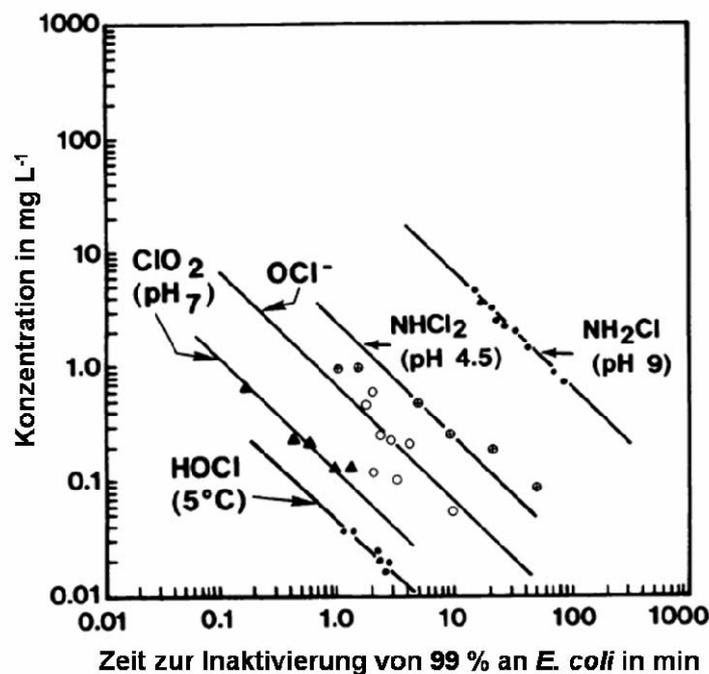


Abbildung 3.3: Vergleich der Effektivität verschiedener Desinfektionsmittel mittels Auftragung der benötigten Konzentration über der Zeit für eine 99 % Inaktivierung von *E. coli* (nach Akin und Hoff, 1982).

Um die Temperaturabhängigkeit der Reaktionsgeschwindigkeit zu beschreiben kann auch bei der Desinfektion das Arrhenius-Gesetz angewendet werden:

$$k = k_0 \cdot e^{-\frac{E_a}{R \cdot T}} \quad \text{Gleichung 5}$$

Mit k der Geschwindigkeitskonstanten der Inaktivierung, k_0 dem präexponentiellen Faktor, E_a der Aktivierungsenergie, R der universellen Gaskonstanten und T der Temperatur in Kelvin.

Für die meisten Desinfektionsmittel lässt sich die Inaktivierungsgeschwindigkeit um den Faktor 1,5 - 3 pro 10 °C Temperaturerhöhung steigern (Barbeau et al., 2005; Rennecker et al., 1999). Benarde et al. (1965) untersuchten die Temperaturabhängigkeit der Wirkung von Chlordioxid auf *E. coli*. Mit steigender Temperatur von 5, 10, 20 und 32 °C stellte sich eine Erhöhung der Inaktivierungsgeschwindigkeit ein. Die Steigerung der Temperatur um 27 °C bewirkte eine Erniedrigung des $C \cdot t_{99}$ um das 3,3-fache von 0,4 mg L⁻¹ min nach 0,12 mg L⁻¹ min. Die Darstellung in der Arrhenius-Beziehung ergaben Aktivierungsenergien (E_a) von 62 – 88 kJ mol⁻¹ und Frequenzfaktoren (k_0) von $1,6 \cdot 10^9$ bis $5,6 \cdot 10^{13}$. Auch Junli et al. (1997) untersuchten den Temperatureinfluss bei *E. coli* im Bereich von 5 – 25 °C und fanden dabei eine Aktivierungsenergie von 19 kJ mol⁻¹.

Die Abhängigkeit vom pH stellt sich für die verschiedenen Desinfektionsmittel unterschiedlich dar. Chlordioxid ist wenig beeinflusst, während Chlor nur im schwach sauren bis neutralen pH gut wirksam ist. Dies liegt an der Reaktion von Chlor mit Wasser. Dabei wird pH-abhängig eher hypochlorige Säure (HOCl) oder das Hypochloritanion (OCl⁻) gebildet, welches eine viel schwächere Desinfektionswirkung zeigt (White, 1972). Junli et al. (1997a) zeigte an *E. coli* und anderen Bakterien, dass die Inaktivierungsgeschwindigkeit von Chlordioxid in einem neutralen pH-Bereich am höchsten ist und erst für einen sehr hohen pH von über 9 die Inaktivierungsgeschwindigkeit um bis zu 50 % nachlässt. Ein geringerer pH bis zu pH 2 hat jedoch kaum Einfluss auf die Inaktivierungsgeschwindigkeit von Chlordioxid. Benarde et al. (1965) fand für die Inaktivierung von *E. coli* bei einem pH von 8,5 gegenüber einem von 6,5 eine um 2/3 verkürzte Inaktivierungszeit für 99 % Inaktivierung.

Ein wesentlicher biologischer Faktor auf die Desinfektionseffizienz ist die Art des Keims. Die Unterschiede reichen dabei bis zu mehreren Größenordnungen in der Resistenz gegenüber Chlordioxid. Insbesondere Sporen, Eukaryonten und Protozoen zeigen eine höhere Resistenz als Bakterien. Bezüglich Bakterien fanden Botzenhart et al. (1993) beispielsweise eine Abstufung der Resistenz gegenüber Chlordioxid in der Reihenfolge: *L. pneumophila* > *E. coli* > *B. subtilis*. Taylor et al.

(2000) fanden sogar eine bis 100-fach höhere Resistenz von *M. avium* gegenüber *E. coli*. Ein genereller Unterschied zwischen gram-positiven oder gram-negativen Bakterien konnte dabei jedoch nicht festgestellt werden. Viren besitzen meist eine Empfindlichkeit in der Größenordnung von vegetativen Bakterien, aber auch hier variieren die Resistenzen einzelner Stämme um ganze Größenordnungen (Knapp and Battisti, 2001). Sporen und Zysten von Protozoen gelten allgemein als sehr resistente Keime und stellen somit eine Herausforderung für die Trinkwasserdesinfektion dar (Willmitzer, 1997). *C. parvum* und Sporen von *B. subtilis* zeigen $C \cdot t_{99}$ von über $100 \text{ mg L}^{-1} \text{ min}$ bei 20 °C und bis zu $800 \text{ mg L}^{-1} \text{ min}$ bei 4 °C (Radziminski et al., 2002; Ruffell et al., 2000).

Auch der Wachstumszustand von Keimen kann deren Resistenz beeinflussen. Exponentiell wachsende Populationen an *E. coli* zeigten bei Berney et al. (2006) eine über 10-fach höhere Empfindlichkeit bei der UV-Behandlung als chemostat kultivierte Populationen. Berg et al. (1982, 1986 und 1988) konnten den gleichen Einfluss der Wachstumsrate und der Wachstumstemperatur auf die Inaktivierung von *E. coli* mit Chlordioxid feststellen. Der Einfluss der Wachstumstemperatur wird dabei auf eine veränderte Membranzusammensetzung zurückgeführt, welche eine höhere Fluidität bei höheren Wachstumstemperaturen besitzt und somit eine höhere Permeabilität gegenüber kleinen Molekülen aufzuweisen vermag. Wachstum bei hohen Zelldichten (wie es in typischen Labor-Kultivierungen üblich ist) erniedrigt ihrer Meinung nach die Resistenz gegenüber Chlordioxid. Aus diesen Ergebnissen lässt sich schließen, dass Keime, die unter natürlichen und eher unwirtlichen Bedingungen wachsen, eine höhere Resistenz aufweisen als die unter Laborbedingungen kultivierten, was auch Aieta et al. (1980b) zeigen konnten.

Bei anderen Einflussparametern, wie organische oder anorganische Begleitstoffe, Partikel oder Agglomeraten aus Keimen kann es zu Abweichungen von der Reaktion erster Ordnung kommen (Hoff and Akin, 1986). Der schematische Verlauf abweichender Inaktivierungskinetik ist in Abbildung 3.4 dargestellt. Gyürek und Gordon (1998) stellen dabei die verschiedenen Modelle und Kinetiken zur Beschreibung dieser abweichenden Kinetik in ihrem Aufsatz vor.

Eine Übergangsphase mit zunehmender Reaktionsgeschwindigkeit (Kurve B in Abbildung 3.4) ist abhängig vom Desinfektionsmittel, der Art des Keims und der Temperatur und liegt in der Größenordnung von wenigen Sekunden bis hin zu

mehreren Minuten. Typischerweise reduziert sich diese Übergangsphase mit steigender Konzentration an Desinfektionsmittel. Das Produkt aus Konzentration und Zeit bis zum Einsetzen der Reaktion erster Ordnung bleibt dabei jedoch meist konstant (Rennecker et al., 2001). Auch mit steigender Temperatur geht eine Reduzierung dieser Verzögerungsphase einher (Rennecker et al., 1999). Ursachen können eine unzureichend schnelle homogene Durchmischung von Desinfektionsmittel und Keimen sein. Auch Aggregate aus Keimen oder kleine Biofilme können eine Verzögerung der Desinfektion hervorrufen (Weavers and Wickramanayake, 2001).

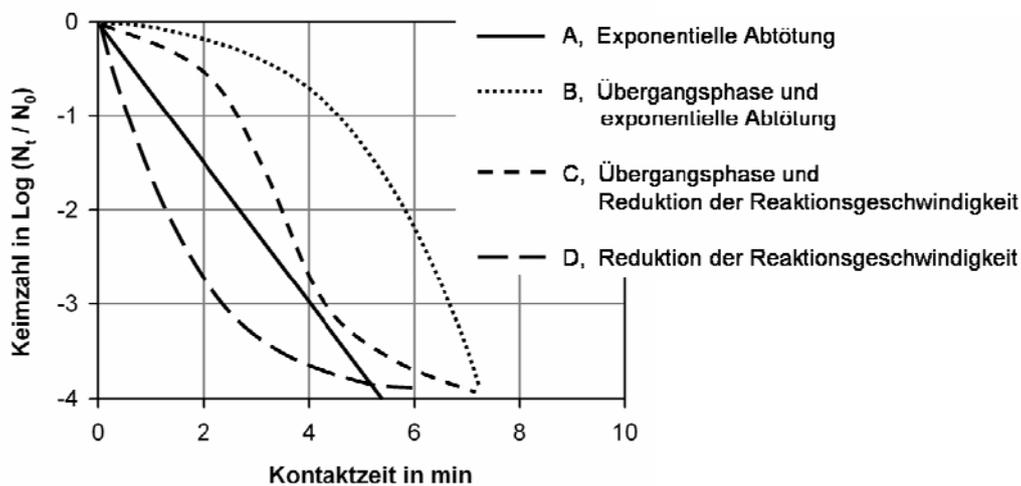


Abbildung 3.4: Vergleich von möglichen Verläufen der Inaktivierung (nach Gyürek, 1998).

Hauptsächlich werden dafür aber die Eigenschaften der Mikroorganismen oder die Art des Keimes verantwortlich gemacht, da hier die Variation der Ausprägung der Verzögerung am stärksten zu Tage tritt. Nach Fernando und Othman (2006) wird diese Verzögerungsphase auf einen Stofftransportwiderstand bei der Diffusion des Desinfektionsmittels durch die Zellwand und Zellmembran des Keims zurückgeführt. Auch die Bildung von Konzentrationsgradienten an den Phasengrenzen zur Zellmembran können den Stofftransport verringern (Dworecki et al., 2005). Es braucht demnach eine gewisse Zeit bis sich im Inneren der Zelle eine letale Konzentration des Desinfektionsmittels einstellt. Dadurch lassen sich auch die unterschiedlichen Resistenzen von Mikroorganismen erklären, die in der Struktur und Dicke ihrer Zellhülle begründet liegen.

Eine gute Modellvorstellung ergibt sich aus den so genannten *Multihit*- und *Multitarget*-Modellen (Oliver and Shipston, 1964; Fowler, 1964). Das *Multitarget*-Modell setzt eine gewisse Anzahl an Reaktionen an verschiedenen Wirkorten voraus, die eintreten müssen, bis ein einzelnes Individuum irreversibel letal geschädigt ist. Dabei reduziert sich die Wahrscheinlichkeit des Eintretens dieser Schädigung mit dem Fortschreiten der Desinfektion (sigmoidale Inaktivierungskurve).

Nach Severin et al. (1983) beschreibt dieses Modell aber weniger die Realität und er präferiert eher das *Multihit*-Modell. Dieses postuliert eine definierte Anzahl an nötigen Reaktionen an einem entsprechenden Ziel bis ein Keim irreversibel geschädigt ist. Diese Modelle ergeben zwar meist eine Steigerung der Inaktivierungsgeschwindigkeit von anfänglich Null bis hin zur Reaktion erster Ordnung, praktisch gesehen wird aber oft eine mehr oder weniger konstante Verzögerungszeit beobachtet oder angenommen. Eine solche Verzögerungskinetik lässt sich wie folgt formulieren:

$$\ln \frac{N}{N_0} = \begin{cases} 0 & \text{für } t < t_v \\ -k \cdot C^n \cdot (t - t_v) & \text{für } t > t_v \end{cases} \quad \text{Gleichung 6}$$

mit t_v als Verzögerungszeit bis die Inaktivierung erster Ordnung einsetzt.

Der Reduktion der Reaktionsgeschwindigkeit als Funktion der Zeit entspricht dem Kurvenverlauf D nach Abbildung 3.4. Für die Untersuchung von Mischungen aus Keimen wird dieser Verlauf mit den unterschiedlichen Resistenzen der Keime begründet. Auch abnehmende Konzentrationen an (sich verbrauchende) Desinfektionsmittel würden ein solches Verhalten bewirken. Jedoch wird dieser Verlauf auch bei Inaktivierungstests von Monokulturen bei nahezu konstanter Konzentration an Desinfektionsmittel beobachtet. Dieses Verhalten tritt dabei für definierte Laborexperimente typischerweise erst mehrere Minuten nach einem exponentiellen Verlauf auf oder erst nach mehr als 99,9 % Inaktivierung, und ist dabei meist nicht so stark ausgeprägt wie bei Untersuchungen mit natürlichen Rohwässern. Bei natürlichen Rohwässern ist die Reduktion der Inaktivierungsgeschwindigkeit dann meist durch Aggregatbildung von Keimen, oder deren Adhäsion an Partikel bedingt (Hoff, 1978; LeChevallier et al., 1981). Durch Partikel oder in Klumpen geschützte Zellen überleben viel länger als die frei durch das Desinfektionsmittel angreifbaren Keime, da das Desinfektionsmittel eine erhöhte

Diffusionszeit benötigt, bis es den Keim erreicht oder schon vorher verbraucht wird. So werden erst die frei vorliegenden Keime der Suspension nach Reaktion erster Ordnung abgetötet, bis sich die Inaktivierungsgeschwindigkeit auf Grund der schwerer erreichbaren Keime in den Partikeln reduziert (Winward et al., 2008; Narkis et al., 1995). Unterstützt wird diese These beim Vergleich von Labor-Experimenten mit realen Gewässern, bei denen dieses Verhalten meist viel stärker ausgeprägt ist. Hier sind viele Keime natürlich an Partikel gebunden oder in Flocken und Polymeren aggregiert, und somit besser geschützt. Dabei haben größere Partikel ($> 7 \mu\text{m}$) höhere protektive Eigenschaften als kleinere Partikel und können bis zu 10 Mikroorganismen, in einzelnen Fällen bei noch größeren Aggregaten auch bis zu hunderte Mikroorganismen, in sich tragen (Ridgway and Olson, 1982; Berman et al., 1988). Um diese Abweichung von der Reaktion erster Ordnung zu beschreiben kann ein Exponentialfaktor m eingeführt werden der die zeitliche Abschwächung der Inaktivierungsgeschwindigkeit berücksichtigt (Hom, 1972):

$$\ln \frac{N}{N_0} = -k \cdot C^n \cdot t^m \quad \text{Gleichung 7}$$

Die starken Abweichungen von der Reaktion erster Ordnung und hohe Diversität der Resistenzen von Mikroorganismen gegenüber Desinfektionsmitteln ließen in den letzten Jahren noch weitere Modelle und Ansätze der Desinfektionskinetik aufkommen. Najm (2006) beispielsweise stellt ein vitalistisches Modell vor, welches die Abweichungen von der Reaktion erster Ordnung durch die natürliche Diversität der Population begründet. Nach ihm hat jede Population an Mikroorganismen einen logarithmisch normal verteilten Unterschied in ihren Resistenzen gegenüber dem Desinfektionsmittel. Diese Resistenz ist dabei auch noch von den äußeren Einflüssen wie Temperatur, pH, oder Zusammensetzung des umgebenden Mediums, beeinflusst. Jeder Keim hat seinen eigenen maximal erträglichen Schwellwert an Schädigung durch das Desinfektionsmittel (Konzentration und Dauer der Einwirkung), bis er definitiv letal geschädigt ist. Die resultierende Abweichung zur Reaktionskinetik erster Ordnung ergibt sich somit aus der biologischen Diversität der Keime.

Einen starken Einfluss auf die Reduktion der Reaktionsgeschwindigkeit hat auch der organische Ballast, der in Form des chemischen Sauerstoffbedarfs messbar ist (Barbeau et al., 2005). Auch hohe Keimzahlen oder anorganische Begleitstoffe des

zu desinfizierenden Wassers können die Konzentration des Desinfektionsmittels schnell verringern, oder im Falle von Chlor zu weniger wirksamen Chloraminen führen. Bei der Behandlung von Klärschlämmen mit Feststoffgehalten von 24 g L^{-1} und einem Gelöst-Kohlenstoffgehalt von 25 g L^{-1} konnten Tsai und Lin (1999) beispielsweise erst nach 50 min mit 50 mg L^{-1} an Chlordioxid eine Abreicherung von 98,5 % an coliformen Keimen erzielen. Für Abwasser aus dem Nachklärbecken von Kläranlagen konnten Aieta et al. (1980) für coliforme Keime bei Konzentrationen von $1 - 5 \text{ mg L}^{-1}$ an Chlordioxid einen C^*t_{99} von $8 \text{ mg L}^{-1} \text{ min}$ feststellen. Der chemische Sauerstoffbedarf betrug dabei im Schnitt 32 mg L^{-1} . Dabei wurde die anfängliche Chlordioxidkonzentration binnen 5 Minuten auf $1/3$ reduziert, was die Inaktivierungsgeschwindigkeit folglich mit der Zeit reduzierte. Je nach Startkonzentration an Chlordioxid ($2, 5$ und 10 mg L^{-1}) konnten insgesamt nur 1, 2,5 und 4,5 Dekaden an Reduktion der Keimzahlkonzentration erreicht werden. Ähnliche Ergebnisse des raschen Verbrauchs an Chlordioxid mit ausgeprägter Reduzierung der Inaktivierungsgeschwindigkeit konnten auch Berg et al. (1988) für Nachklärwasser zeigen. Geringe Startkonzentrationen an Chlordioxid ($0,25 - 0,75 \text{ mg L}^{-1}$) erzielten maximal 70 % Inaktivierung von *E. coli* nach 5 Minuten. Erst mit 2 mg L^{-1} an Startkonzentration erreichten Inaktivierungen von $\sim 100 \%$. Ayyildiz et al. (2009) fanden für die Inaktivierung von *E. coli* bei einer Startkonzentrationen von $1 - 3 \text{ mg L}^{-1}$ an Chlordioxid eine Abhängigkeit vom chemischen Sauerstoffbedarf des Rohwassers ($75 - 300 \text{ mg L}^{-1}$). Die Auftragung der dekadischen Inaktivierung über das Massenverhältnis an CSB zu Chlordioxid (je in der Einheit von mg L^{-1}) zeigte eine exponentielle Abnahme. Besonders hohe CSB-Werte und/oder niedrige Chlordioxidkonzentrationen hatten einen sehr starken Einfluss. Zum Beispiel erreichte ein Verhältnis von 25 (Masse CSB / Chlordioxid) eine Inaktivierung von 6,2 Dekaden an Inaktivierung, während bei einem Verhältnis von 150 nur noch 0,2 Dekaden erreicht wurden. Der Grund lag in der raschen Abnahme der Chlordioxidkonzentration. Startkonzentrationen von 3 mg L^{-1} an Chlordioxid lagen bei 75 mg L^{-1} CSB nach 10 Minuten noch bei einer Konzentration von $1,0 \text{ mg L}^{-1}$, während die Startkonzentration von $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ Chlordioxid nach 0,5 Minuten bei einem CSB von 300 mg L^{-1} schon unter $0,5 \text{ mg L}^{-1}$ fiel.

Einige Modelle integrieren deshalb diese Zehrung an Desinfektionsmittel als variable Konzentration über der Zeit mit der Annahme einer exponentiellen Zehrung des Desinfektionsmittels (meist aus Messdaten genähert; Haas and Karra, 1984). Ein

Modell, das dabei auch den Verdünnungsfaktor n berücksichtigt, beschreiben Lambert und Johnston (2001) als sogenanntes *Intrinsic Quenching* (IQ) Modell:

$$\ln \frac{N}{N_0} = -k \cdot C^n \cdot \left[\frac{1 - e^{-k_q \cdot n \cdot t}}{k_q \cdot n} \right] \quad \text{Gleichung 8}$$

Mit k als Reaktionskonstante der Inaktivierung, k_q als Reaktionskonstante des Desinfektionsmittelverbrauchs und n dem Verdünnungsfaktor des Desinfektionsmittels. Der tatsächliche Verlauf der Konzentration des Desinfektionsmittels ist aber nicht immer erster Ordnung, sondern wird oft auch als zweiphasig beschrieben. Nach einem anfänglichen starken exponentiellen Abfall binnen weniger Sekunden oder Minuten stellt sich eine konstante bis nur mehr leicht abnehmende Konzentration ein. Dieser anfängliche Verbrauch hängt stark von dem organischen Ballast sowie von der Startkonzentration des Desinfektionsmittels und sogar von der Art des Keims ab, wie Helbling und VanBriesen (2007) beispielsweise für Chlor zeigen konnten. Sie zeigten aber, dass sich über mehr als 60 Minuten eine anhaltende Inaktivierung erster Ordnung an *M. aurum* einstellte, obwohl nach 20 Minuten mit einem ersten steilen Abfall der Chlorkonzentration nur noch 30 % der Startkonzentration von $0,8 \text{ mg L}^{-1}$ zur Verfügung stand. Diese Erscheinung ist jedoch konsistent mit Ergebnissen von Fernando und Othman (2006), die eine intrazelluläre Wirkung des Desinfektionsmittels dafür verantwortlich machen, die auch für geringe externe Konzentrationen noch weiter anhält. Auch Kiura et al. (2002) beschreiben mehr eine Abhängigkeit der Effektivität der Inaktivierung von der Zugänglichkeit von Hypochlorit zu intrazellulären Enzymen und der DNA, als die Notwendigkeit hoher Konzentrationen. Ist eine ausreichende Schädigung der Zellhülle in den ersten Minuten des Verbrauchs geschaffen, kann eine niedrige Konzentration weiter inaktivierend wirken. Auch Hoff (1978) beschreibt eine nur geringe Abhängigkeit der Inaktivierungsrate von Viren nach einem Verbrauch von 30 % der Startkonzentration an Chlor.

Bei hohen Zehrungen des Desinfektionsmittels durch Begleitstoffe des Wassers und längeren Betrachtungszeiträumen wird aber eine deutliche Reduktion der Reaktionsgeschwindigkeit beobachtet. Wenn die Inaktivierung jedoch direkt proportional von der Konzentration des Desinfektionsmittels abhängig ist (bei Verdünnungsfaktor $n = 1$) kann die entsprechende Abtötung $\log(N_{ti} / N_0)$ über dem

multiplikativen Konzentrations-Zeit-Produkt $C_{ti} \cdot t_i$ aufgetragen werden. Es ergeben sich bei der halblogarithmischen Auftragung der Lebenskeimzahl wieder lineare Abtötungskurven, da der Verbrauch des Desinfektionsmittels mit der entsprechend einhergehenden nötigen Verlängerung der Verweilzeit für eine gleich bleibende Inaktivierungsrate kompensiert wird (Ayyildiz et al., 2009).

Für Desinfektionsanwendungen in der Praxis wird die Kontaktzeit maßgeblich durch die bauartigen Bedingungen der Dosierstelle und des nachfolgenden Reaktionsreaktors beeinflusst. Je nach Art des Desinfektionsmittels (ob gasförmig wie Chlor oder Ozon oder flüssig wie Chlordioxid oder Wasserstoffperoxid) bedarf es verschiedener Dosiersysteme und Mischer. Dabei werden in der Regel Verweilzeitcharakteristiken eines idealen Rohrreaktors ohne axialer Rückvermischung angestrebt. Da dies in der Realität nicht erreichbar ist, werden entsprechende Kennzahlen herangezogen, um die Durchmischungs- und Verweilzeitcharakteristik zu beschreiben. Um das Verweilzeitverhalten für die Abtötungskinetik zu berücksichtigen, haben Lev und Regli (1992) bei der Desinfektion als Äquivalenzmodell die Rührkesselkaskade vorgeschlagen.

3.1.5. Desinfektion von Prozess- und Abwasser

Wasser, das nach dem menschlichen oder technischen Gebrauch anfällt, muss nicht zwangsläufig als Abwasser einer Endreinigung zugeführt werden. Angesichts steigender Wasserknappheit ist auch immer mehr die Wiederverwendung von wenig verunreinigten Abwässern eine ökologische und ökonomische Notwendigkeit (De Luca et al., 2008). Dabei sind diese Prozesswässer je nach technischer Anforderung einer entsprechenden Aufbereitung zu unterziehen. Für Grauwasser, dem Abwasser aus gewerblichen oder häuslichen Abflüssen ohne Toilettenspülung, kann eine Einteilung in wenig oder stark belastet durchgeführt werden. Stark belastete Grauwässer enthalten dabei die stärker belasteten Abflüsse aus Küche und Wäscherei, während die wenig belasteten Grauwässer aus den Abflüssen für die Körperhygiene stammen (beispielsweise Dusche und Waschbecken). Sie besitzen meist einen chemischen Sauerstoffbedarf von unter 100 mg pro Liter. Die stark belasteten Grauwässer sind vor der Desinfektion und Wiederverwendung einer aufwändigen biologischen Reinigung oder Filtrierung zu unterziehen (Winward et al., 2008). Zu hohe organische Belastung oder Anteile an Feststoffen und Partikeln können die Desinfektion erschweren oder sind auch für den weiteren Gebrauch des

Wassers unerwünscht, beziehungsweise nicht erlaubt. Eines der wichtigsten einzuhaltenden Kriterien der Aufbereitung sind dabei die hygienischen Anforderungen. Je nach Einhaltung dieser Kriterien darf das Wasser auch nur für bestimmte Zwecke wieder verwendet werden, wie beispielsweise nur als Wasser zur Toilettenspülung oder als Gießwasser für Grünanlagen oder die Agrarwirtschaft (Li et al., 2009). In Deutschland wird dies unter anderem durch die DIN 19650 (1999) geregelt. Für Bewässerungszwecke wird ein Grenzwert von 200 Kolonie-bildenden Einheiten / 100 ml beziehungsweise bei nicht zum direkten Verzehr gedachten Feldfrüchten 2000 Kolonie-bildenden Einheiten / 100 ml erlauben.

Auch Wasser, das nach physikalischer, biologischer und chemischer Aufbereitung in Klärwerken im Ablauf anfällt, wird in manchen Ländern vor der Einleitung in die natürlichen Gewässer je nach hygienischer Anforderung einer Chlorung unterzogen. Oft sind aber auch ästhetische Anforderungen wie Geruchsbeseitigung und Entfärbung oder Reduktion der Trübung Grund für eine chemische Nachbehandlung (Hurst, 2001).

Prozess- und Abwässer stellen eine große Herausforderung an die Leistungsfähigkeit und Sicherheit von Desinfektionssystemen dar, da sie oft in wechselnden Mengen und Zusammensetzungen mit großen Frachten an anorganischen und organischen Inhaltsstoffen, kombiniert mit hohen und vor allem auch pathogenen Keimzahlen anfallen. In den meisten Fällen wird daher mitunter eine chemische Desinfektion als Mittel zur Einhaltung der hygienischen Anforderungen und zur Oxidation von organischen Stoffen gewählt. Besonders im Hinblick auf die Unterbindung einer Wiederverkeimung ist dies meist unumgänglich, da überlebende Keime sich schnell wieder vermehren können und dabei Reste an organischen Verbindungen im Wasser verwertet werden (Röske and Uhlmann, 2005). Meist reichen aber chemische Desinfektionsverfahren alleine nicht aus, um ökonomisch eine ausreichende Desinfektion und Oxidation zu bewirken. Auf Grund der raschen Zehrung des Desinfektionsmittels und der höheren Resistenz von Keimen in realen Abwässern (vgl. Kapitel 3.1.4) stehen die zu dosierenden Mengen an Desinfektionsmittel nicht mehr im Einklang zum Nutzen. Besonders bei Chlor, welches weltweit als häufigstes chemisches Desinfektionsmittel eingesetzt wird, entstehen durch Reaktion mit vielen organischen Begleitstoffen zum Teil unerwünschte Geruchsbildung oder sogar toxische und kanzerogene Stoffe in Form von halogenierten Kohlenwasserstoffen (White, 1972). Aber auch andere chemische

Desinfektionsmittel sind auf Grund ihrer möglichen Reaktionen nicht für beliebig hohe Dosierungen geeignet. Zwar bietet Chlordioxid hier auf Grund seiner hohen Desinfektionswirkung und schnellen Wirksamkeit Vorteile, aber auch hier sind für die sichere Entkeimung von Abwässern meist Konzentrationen von über $2,5 \text{ mg L}^{-1}$ nötig (Dernat and Pouillot, 1992).

Daraus erschließt sich, dass nicht nur für die chemische und physikalische Wiederaufbereitung von Prozess- und Abwasser oft eine komplexe Behandlung mit mehreren unterschiedlichen Verfahren notwendig ist, sondern auch aus Gründen der Desinfektion. Die Herausforderung an kombinierte Verfahren ist dabei, trotz der komplexen und hohen Anforderungen an die Sicherheit der Desinfektionsleistung, auch noch technisch einfach, flexibel anwendbar, skalierbar und vor allem auch ökonomisch zu sein. Idealerweise werden mit entsprechenden Kombinationen auch gleich die chemische und physikalische Aufreinigung mit verfolgt. Auch machten erst moderne Analytik-Methoden das Schadpotential von einzelnen Verfahren deutlich, wie die Bildung von kanzerogenen Stoffen bei der Chlorung (Bess et al., 2004). Daher ist erst seit knapp 30 Jahren eine stärkere Entwicklung und Optimierung von kombinierten Verfahren zur Wasserdeshinfektion und -aufbereitung zu verzeichnen.

3.1.6. Verfahrenskombinationen

Die meisten Verfahrenskombinationen koppeln chemische mit mechanischen Verfahren wie beispielsweise Filtration mit chemischer Desinfektion. Aber auch Kombinationen aus zwei chemischen Desinfektionsverfahren oder rein physikalische Verfahren, wie Ultraschall und UV-Bestrahlung sind schon im Pilotmaßstab angewandte Methoden. Für eine komplette Wasseraufreinigung mit Reduktion der organischen Fracht werden auch biologische Verfahren wie biologische Membranreaktoren mit anschließender Desinfektion des Filtrats kombiniert.

Ist die Trübung des Wassers zu hoch, wird vor die chemische Desinfektion eine Filtration geschaltet, um entsprechende Partikel und auch Agglomerate und Flocken abzuscheiden, die sonst die Desinfektion sehr stark erschweren würden (Roeske and Ritter, 2007). Oft wird auch eine Vorbehandlung mit Ozon oder Chlor vor der Filtration betrieben um die Flockulation und Agglomeration zu erhöhen. Es kann damit mehr organischer Ballast abfiltriert werden und die nachfolgende Desinfektion kann dann wiederum mit niedrigeren Konzentrationen an Desinfektionsmittel erfolgen. Mit Einsatz von speziellen Filtern können auch die unerwünschten

Beiprodukte, wie beispielsweise das Chlorit bei der Vorbehandlung mit Chlordioxid, reduziert werden. Die erhöhte Abscheidungsleistung im Filter vermindert auch die Zehrung einer nachfolgenden Chlor- oder Chlordioxid-Desinfektion und bewirkt damit eine gesteigerte Remanenzwirkung (Swietlik et al., 2003). Neuere Ansätze verfolgen auch Kombinationen wie die Kopplung oxidierender Agenzien mit Katalysatoren, elektrochemischen Reaktoren oder UV-Bestrahlung und Ultraschall beziehungsweise hydrodynamischer Kavitation (Gogate and Pandit, 2004).

Bei der Kombination von zwei chemischen Desinfektionsmitteln wird vor allem Chlor mit Ozon oder Chlordioxid unterstützt. Da die Chlorung eines der kostengünstigsten und am weitesten etablierten Verfahren ist, wird versucht durch die Kombination die Bildung von kanzerogenen Trihalogenmethanen (THM) herabzusetzen und die Remanenzwirkung zu erhöhen. Für die Abwasser-aufbereitung und Desinfektion werden heute viele neue und verschiedene Verfahren untersucht, hauptsächlich Kombinationen aus dem Bereich der *Advanced Oxidation Process* (AOP), die von Gogate und Pandit (2004) in einem Übersichtsartikel auch ausführlich zusammengefasst wurden. Als wesentlicher Akteur wird bei all diesen Verfahren meist das Hydroxylradikal (OH^\bullet) vorgeschlagen, welches sehr reaktiv ist und nur eine Lebenszeit von weniger als eine Sekunde aufweist (Behmel, 2008). Ziel dieser Verfahren ist es, so effizient wie möglich große Mengen an Hydroxylradikalen zu produzieren, die dann beispielsweise für die Desinfektionsreaktionen oder andere Abbauvorgänge bereit stehen.

Bei den Kombinationen von physikalischen Verfahren wäre die Kombination von Filtration und UV-Bestrahlung als die bekannteste Methode hervorzuheben. Dabei reduziert der Filter die Trübung des Wassers, um für die UV-Behandlung eine sichere Desinfektion zu gewährleisten. Auch Kombinationen von verschiedenen Filtrationsmaßnahmen sind gängige Maßnahmen wie beispielsweise die Sandfiltration mit nachfolgender Ultrafiltration oder sogar Umkehrosmose. Hier scheidet man stufenweise Substanzen der Größe nach ab, um die nachfolgende Stufe weniger zu belasten. Neuere Verfahren wie die Kombination von Ultraschall oder hydrodynamischer Kavitation mit UV-Behandlung sowie Katalysatoren werden ebenfalls von Gogate und Pandit (2004) vorgestellt. Auf die Verwendung von Ultraschall und hydrodynamischer Kavitation in Kombination mit anderen Methoden der Desinfektion wird in Kapitel 3.4.4 noch weiter eingegangen.

3.2. Chlordioxid als Desinfektionsmittel

3.2.1. Stoffeigenschaften und Nachweis von Chlordioxid

Chlordioxid (CAS-Nummer: 10049-04-4; ClO_2) wurde schon 1811 von Sir Humphrey Davy entdeckt. Es ist ein gelb-grünes, bei hohen Konzentrationen auch oranges, Gas mit einer hohen oxidativen Reaktivität. Sein Siedepunkt liegt bei $11\text{ }^\circ\text{C}$ und es besitzt daher eine gute Löslichkeit in Wasser. Seine Strukturformel mit den beiden mesomeren Grenzstrukturen ist in Abbildung 3.5 dargestellt. Die Bindungslängen der Doppelbindungen betragen $\sim 0,148\text{ nm}$ und der Bindungswinkel beträgt dabei $\sim 117,7^\circ$. Das freie Elektron ist über die π -Bindung stabilisiert, trägt aber zu einem sehr stark radikalischen Charakter des Moleküls bei. Seine wesentlichen physikalischen Charakteristiken sind in Tabelle 3.1 aufgeführt (BGIA, 2009a).



Abbildung 3.5: Molekülstruktur des Chlordioxids in seinen beiden mesomeren Grenzstrukturen des radikalischen Elektrons.

Tabelle 3.1: Stoffeigenschaften von Chlordioxid.

Molekulargewicht	$67,46\text{ g Mol}^{-1}$
Schmelzpunkt	$-59,9\text{ }^\circ\text{C}$
Siedepunkt	11°C
Dichte bei 20°C und 1013 mbar (gasförmig)	$3,01\text{ g L}^{-1}$
Dichte bei $20\text{ }^\circ\text{C}$ (flüssig)	$1,62\text{ g L}^{-1}$
Dampfdruck bei $20\text{ }^\circ\text{C}$	1,4 bar
Zersetzungstemperatur	ab $45\text{ }^\circ\text{C}$
Löslichkeit in g L^{-1} bei $20\text{ }^\circ\text{C}$ und 1013 mbar	110 g L^{-1}

Sein Standard-Redoxpotential liegt mit 1,51 Volt unter dem von Ozon (2,07 V) aber über dem von Chlor (1,36 V). Chlordioxid hat damit ein hohes oxidatives Potential, rechnerisch sogar 2,5-fach höher als das von Chlor, da sein Molekulargewicht nur zu 52 % aus Chloratomen besteht (Vergleich zu Cl_2 mit 100%) und eine Valenzänderung um 5 Stufen zum Chloridion vollzieht (Katz, 1980). Meist reagiert Chlordioxid aber nicht vollständig zu Chlorid sondern nur sehr spezifisch mit bestimmten Stoffgruppen durch eine radikalische Addition. Es überträgt dabei sein ungepaartes Elektron auf den Akzeptor und wird dabei selber zu dem typischen Abbauprodukt Chlorit reduziert (ClO_2^- ; Standardredoxpotential von 0,95 Volt; DIN EN 12671; Roeske and Ritter, 2007).

Gaskonzentrationen von mehr als 10 Volumenprozent in Mischung mit Luftsauerstoff sowie 30 Volumenprozent unter Luftabschluss sind sehr instabil und zersetzen sich spontan in einer radikalischen Reaktion zu Chlor, Chlorat, Chlorit und Sauerstoff unter Umständen auch explosiv um. Auch wässrige Lösungen von Chlordioxid von Konzentrationen über 30 g L^{-1} sind instabil und zersetzen sich unter Umständen radikalisch. Lösungen über 8 g L^{-1} sind zur Lagerung ungeeignet, da sie im Kopfraum schon eine Dampfkonzentration an Chlordioxid von mehr als 10 % entstehen lassen. Geringere Konzentrationen dagegen sind stabiler und zersetzen sich nur unter Einwirkung von Temperaturen über $45 \text{ }^\circ\text{C}$, UV-Strahlung oder bei einem $\text{pH} < 5,5$ oder > 10 (Katz, 1980). Chlordioxid ist stark korrosiv und wirkt reizend und bei höheren Konzentrationen auch ätzend. Seine Einstufung als Gas ist deshalb bis 0,2 Massenprozent als reizend und umweltgefährlich, bis 1 Massenprozent als giftig und ab 1 Massenprozent als sehr giftig eingestuft. Die maximale Arbeitsplatzkonzentration (MAK) liegt bei $0,28 \text{ mg m}^{-3}$. In wässriger Lösung liegt das Gefährdungspotential geringer und Chlordioxid ist nur als reizend eingestuft. Erst ab 3 % (w/w) wird es als gesundheitsschädlich und umweltgefährlich und ab 25 % (w/w) als toxisch und korrosiv eingestuft (BGIA, 2009b).

Das Abbauprodukt Chlorit ist schon in einer geringeren Dosis schädlich für Vertebraten. Die letale Dosis mit einer 50 % Todeswahrscheinlichkeit (LD_{50}) bei Ratten in oraler Aufnahme liegt bei 292 mg kg^{-1} (Couri et al., 1982). Chronische Studien über mehrere Monate mit Ratten, Mäusen und Hühnern ergaben für Chlorit und Chlorat ab 100 mg L^{-1} und für Chlordioxid ab 1000 mg L^{-1} im Trinkwasser der Tiere eine Hämolyse von Erythrozyten und eine gewisse Erniedrigung der Fertilität auf Grund erniedrigter DNA-Replikation bei den Männchen. Auch eine

Beeinträchtigung der Leber und der Darmschleimhaut wurden festgestellt (Couri et al., 1982). Eine Tagesdosis von 24 mg L^{-1} und eine 84-tägige Aufnahme von 5 mg L^{-1} ergaben bei Studien an Menschen keine medizinisch nachweisbaren Wirkungen (Condie, 1986).

Da die gasförmige Lagerung an Chlordioxid sehr instabil ist (Autolyse) und hohe Konzentrationen sogar explosiv und vor allem auch in hohem Maße toxisch sind, werden meist wässrige Lösungen an Chlordioxid hergestellt oder gelagert. Seine Löslichkeit in Abhängigkeit von der Temperatur und des Partialdrucks im Kopfraum ist in Abbildung 3.6 (Technische Regeln Arbeitsblatt W 224) dargestellt. Um Änderungen der Konzentration zu vermeiden und die Lagerstabilität zu erhöhen, sollten Chlordioxid-Lösungen möglichst kopfraumarm und gasdicht verschlossen, dunkel und kühl gelagert werden. Aber auch hier sollte eine Lagerzeit von wenigen Tagen nicht überschritten werden. Typische Konzentrationen an Lösungen betragen maximal $1 - 3 \text{ g L}^{-1}$ bei vorhandenem Gasraum, und maximal 20 g L^{-1} bei nicht vorhandenem Gasraum, um genügend Sicherheit bis zur Zersetzungsgrenze beziehungsweise Explosionsgrenze zu haben. Verdünnte Lösungen sind auch über einen weiten pH-Bereich von 5,5 bis 10 mehrere Wochen lagerstabil (DIN EN 12671).

Der Nachweis von hohen Konzentrationen an Chlordioxid in wässriger Lösung erfolgt meist direkt photometrisch bei 445 nm oder iodometrisch durch Titration mit Natriumthiosulfat mit Stärkeindikator nach Umsetzung von Iodid zu Iod (Karge 1963). Für geringe Konzentrationen werden verschiedene kolorimetrische Verfahren beschrieben, wie der Nachweis mittels N,N-Diethyl-p-phenylendiamin (DIN 38 408-G5) oder 3,3',5,5'-Tetramethylbenzidin (TMB; Wasserversorgung Zürich) und weiteren Farbstoffen wie beispielsweise Chlorophenol-Rot. Weiter gibt es für die Bestimmung von Chlordioxid einige Methoden der amperometrischen Titration und auch verschiedene chromatographische Verfahren. Je nach pH der Probe oder Vorliegen von weiteren oxidativen Reagenzien wie Chlor oder Wasserstoffperoxid sowie anderen die Messung beeinflussenden Stoffen sind nicht alle genannten Analyseverfahren immer anwendbar.

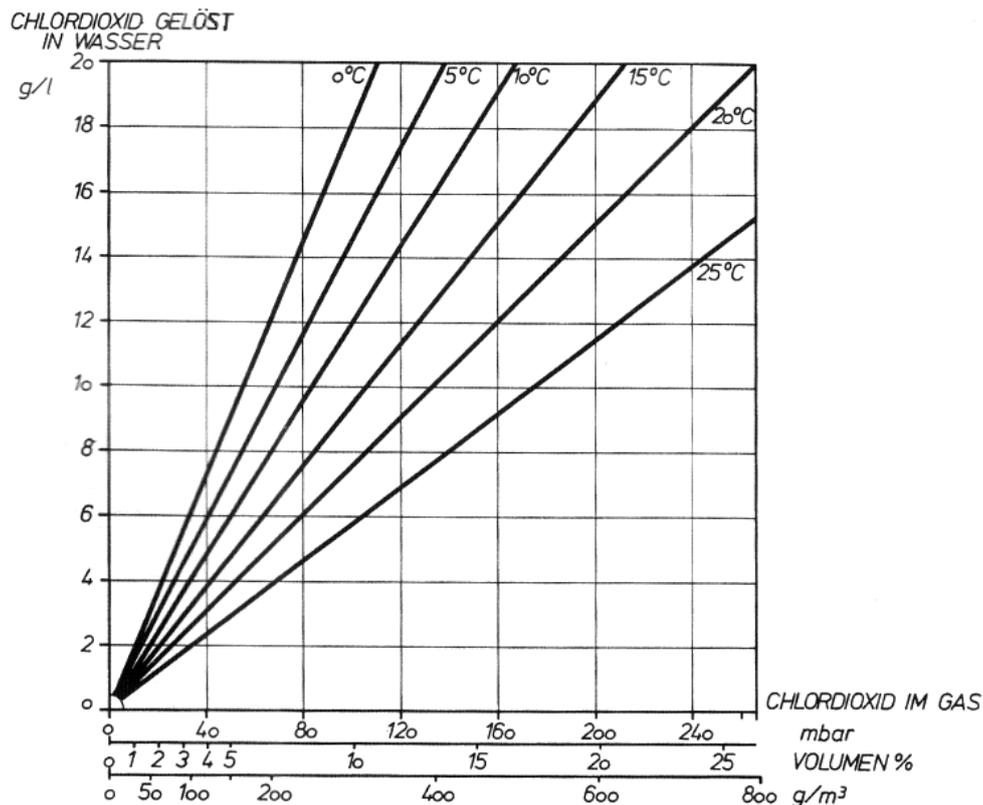


Abbildung 3.6: Löslichkeit von Chlordioxid in Abhängigkeit des Partialdrucks im Kopfraum (DVGW W224, 1986).

Für die Analytik der in der Wasseraufbereitung eingesetzten Verfahren werden die nach DIN 38408-G5 und für Ausgangslösungen die Methode nach Aieta (1984) und Degussa (1979) vorgeschlagen, da damit eine spezifische und getrennte Analyse der verschiedenen Edukte, Produkte beziehungsweise Abbauprodukte von Chlordioxid möglich sind.

3.2.2. Darstellung und Anwendung von Chlordioxid

Da Chlordioxid in hohen Konzentrationen instabil und auch in niedrigen Konzentrationen nicht lange lagerfähig ist, wird es meist vor Ort für den direkten Verbrauch hergestellt. Dabei gibt es verschiedene Darstellungsmöglichkeiten, die von den verschiedenen Ausgangsstoffen abhängen. Für den großtechnischen Einsatz werden wässrige Chloridlösungen elektrolytisch zu Chlorat (ClO_3^-) umgesetzt, welches dann mit verschiedenen Methoden zu Chlordioxid und meist auch bedingt zu Chlor umgesetzt wird. Wenn Chlor als Beiprodukt erwünscht ist, gibt es diverse Verfahren wie aus Chlorat Chlordioxid hergestellt werden kann, wobei hier nur die großtechnisch relevanten kurz erwähnt werden sollen. Meistens wird die Umsetzung

von Chlorat mit Salzsäure oder Schwefelsäure verwendet, wobei dann die Endprodukte im Verhältnis 2 : 1 Mol Chlordioxid zu Chlor entstehen. Will man Chlor vermeiden, bietet sich die Umsetzung von Natriumchlorat mit Schwefelsäure und Schwefeldioxid oder Methanol an. Hierbei entsteht fast ausschließlich Chlordioxid mit nur wenig Chlor als Begleitprodukt. Wird eine noch reinere Ausbeute an Chlordioxid benötigt, wie sie überwiegend für die Wasserdesinfektion erwünscht ist, gibt es nur die Möglichkeit zur Herstellung aus Chlorit (ClO_2^-) als Ausgangsstoff. Hier gibt es die Möglichkeiten der Generierung aus chlogasangereichertem Wasser und Natriumchlorit, wobei hauptsächlich Chlordioxid und Natriumchlorid entstehen, aber auch geringe Mengen an hypochloriger Säure, Chlor und Chlorat. Die Darstellung aus hypochloriger Säure und Chlorit, mit ebenfalls größeren Anteilen an Begleitprodukten, und die Darstellung aus Chlorit und Schwefelsäure (Petrucci, 2005) sind alternativ Reaktionen zur Herstellung von Chlordioxid aus Chlorit. Am reinsten ist die Darstellung aus Natriumchlorit und Salzsäure in einem molaren Verhältnis von 4 HCl : 5 NaClO₂. Die Reaktionsgleichung in wässriger Lösung lautet dabei:



Die Reinheit an Chlordioxid erreicht dabei 95 – 98 % (bei genügend Überschuss an HCl für die Einhaltung des niedrigen pH) und die Ausbeute ist dabei 4 Mol Chlordioxid aus 5 Mol Natriumchlorit (Caffaro, 1997). Neben Chlordioxid enthält die Lösung noch Natriumchlorid, Salzsäure und Spuren an Chlorat und Chlor beziehungsweise hypochloriger Säure, die aus Sekundärreaktionen herrühren. Die Reaktion dauert bei 20 °C, je nach Konzentration der Ausgangsstoffe, nur wenige Minuten bis maximal 3 Stunden. Bei dem Handmischverfahren mit verdünnten Lösungen (9 % Salzsäure und 7,5 % Natriumchlorit) werden zwei Stunden bis zur Einstellung eines stabilen Gleichgewichts und damit einer stabilen Konzentration vorgeschlagen (Herstellerangabe Clo2Tec GmbH). Bei der Herstellung aus konzentrierten Lösungen (30 – 38 % Salzsäure und 24,5 % Natriumchlorit) ist die Umsetzung schon nach 7 - 15 min abgeschlossen. Die Lösung ist dann aber aus Sicherheitsgründen (Explosionsgefahr der Kopfraumgase) und zur stabileren Lagerung sofort zu verdünnen. Die weitere Lagerung sollte dann kühl, dunkel und kopfraumfrei gestaltet werden um die Autolyse von Chlordioxid so gut wie möglich zu unterbinden (Technische Regeln Arbeitsblatt W 224).

Der Einsatz von Chlordioxid befindet sich überwiegend in der Zellstoff- und Textilindustrie als Bleichmittel. Hier werden weltweit in etwa 4 Mio. Tonnen pro Jahr an Chlordioxid (aus Chlorat hergestellt) eingesetzt (Schmidt, 2003). In vielen anderen Branchen und Bereichen gewinnt Chlordioxid aber immer größere Bedeutung als Bleichmittel und/oder Desinfektionsmittel, da es eine gute und schonende Alternative zu Chlor oder anderen Oxidationsmitteln darstellt. So wird Chlordioxid schon länger als Desodorant und Desinfektionsmittel für die Abwasser- oder Abfallbehandlung verwendet. Auch die Desinfektion von Leitungen, Anlagen und auch Flaschen in der Getränke- und Lebensmittelindustrie sowie die Desinfektion von Kühl-, Prozess- und Brauchwasser im Allgemeinen werden immer öfter mit Chlordioxid vollzogen. Zur Desinfektion von Trinkwasser wird es schon seit 1950 als sinnvolle Alternative zu Chlor eingesetzt. Weiter gibt es Anwendungen als Oberflächendesinfektionsmittel, wo es als Lösung oder auch gasförmig für die direkte Entkeimung von empfindlichen medizinischen Geräten und sogar Rohstoffen und Lebensmitteln eingesetzt wird (Knapp and Battisti, 2001).

Für die Trinkwasserdesinfektion sind nur das Chlor-Chlorit-, Hypochlorit-Chlorit-, Salzsäure-Chlorit-Verfahren und das Peroxodisulfat-Chlorit-Verfahren zugelassen (Technische Regeln Arbeitsblatt W 224). Die Tabelle 3.2 zeigt die zugrunde liegenden Reaktionsgleichungen. Einen guten Überblick über die Anwendung und Historie von Chlordioxid in der Trinkwasseraufbereitung, von der Herstellung über chemische Reaktionen mit organischen und anorganischen Stoffen bis hin zu der mikrobiologischen Wirkung und Effizienz, gibt der Übersichtsartikel von Aieta und Berg (1986).

Tabelle 3.2: Reaktionsgleichungen zur Darstellung von Chlordioxid für die Trinkwasserdesinfektion.

Verfahren	Reaktionsgleichung
Chlor-Chlorit	$2\text{NaClO}_2 + \text{Cl}_2 \rightarrow 2\text{ClO}_2 + 2\text{NaCl}$
Hypochlorit-Chlorit	$2\text{NaClO}_2 + \text{HOCl} + \text{HCl} \rightarrow 2\text{ClO}_2 + 2\text{NaCl} + 2\text{H}_2\text{O}$
Salzsäure-Chlorit	$5\text{NaClO}_2 + 4\text{HCl} \rightarrow 4\text{ClO}_2 + 5\text{NaCl} + 2\text{H}_2\text{O}$
Peroxodisulfat-Chlorit	$2\text{NaClO}_2 + 2\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_8 \rightarrow 2\text{ClO}_2 + 2\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_8$

Diese Darstellungsmethoden werden von verschiedenen Firmen als Komplettsystem mit Dosierungsanlage und Überwachung angeboten. Kontinuierlich arbeitende Großanlagen verwenden das billigere Chlor-Chlorit-Verfahren. Für kleinere Anlagen wird meist das einfacher handhabbare und sicherere Salzsäure-Chlorit-Verfahren als 2-Komponentensystem zur Vor-Ort-Herstellung verwendet. Es wird zwischen den Darstellungen mit konzentrierten Lösungen (höhere Ausbeute von bis 20 g L^{-1} an Chlordioxid binnen weniger als 15 min) und Darstellung mit verdünnten Lösungen (mit 7,5 % NaClO_2 -Lösung und 9 % HCl bei einer Ausbeute von 3 g L^{-1} nach bis zu 3 Stunden) unterschieden. Dabei muss das Gemisch nach der Herstellung mit konzentrierten Lösungen aus Sicherheitsgründen verdünnt werden. Zur Handmischung werden dabei nur die verdünnten Lösungen für die gebrauchsfertige Darstellung verwendet. Preislich variieren die Kosten dabei von 9 € kg^{-1} Chlordioxid (Chlor-Chlorit-Verfahren) bis 50 € kg^{-1} Chlordioxid (verdünnte Salzsäure-Chlorit-Verfahren; Technische Regeln Arbeitsblatt W 224). Das Anlagenkonzept besteht dabei aus zwei Vorratsbehältern, einer Mischstrecke und einem Reaktionsbehälter für die Chlordioxidgenerierung und mit anschließendem Puffertank und einer Dosierstrecke und einem Mischer mit Onlinemessung der Konzentration. Die Vorschriften und technischen Regeln sind dabei durch die Deutsche Vereinigung des Gas- und Wasserfaches e.V. in den Arbeitsblättern W 224 (Technische Regeln Arbeitsblatt W 224) und W 624 (Technische Regeln Arbeitsblatt W 624) festgelegt. Ein typisches Anlagenschema für das Chlor-Chlorit- und gestrichelt gekennzeichnet Salzsäure-Chlorit-Verfahren mit chargenweiser Bevorratung von Chlordioxid ist in Abbildung 3.7 dargestellt.

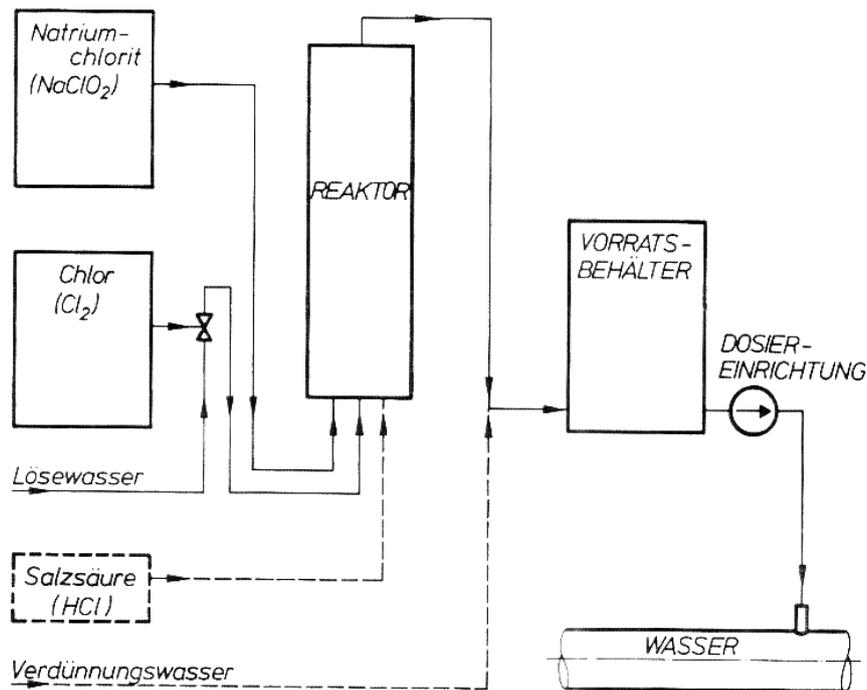


Abbildung 3.7: Anlagenschema für die vor Ort-Herstellung von Chlordioxid nach dem Chlor-Chlorit- oder Salzsäure-Chlorit-Verfahren (gestrichelt; aus DVGW W224, 1986).

3.2.3. Keiminaktivierender Wirkmechanismus

Die keiminaktivierende Wirkung von Chlordioxid wird auch heute noch kontrovers diskutiert. Wie bei den meisten oxidativ wirkenden Desinfektionsmitteln wird von einer eher spezifischen sukzessiven Schädigung von funktionellen Gruppen und chemischen Bindungen an und in der Zelle ausgegangen. Da Chlordioxid spezifisch mit sekundären und tertiären Aminen reagiert und auch Disulfidbrücken zu reduzieren vermag, wird meist von einer empfindlichen Schädigung des Proteoms als letaler Effekt ausgegangen (Behmel, 2008). Um die genauen Reaktionsorte und -wege zu entschlüsseln, wurden zum einen Reaktionen mit spezifischen Biomolekülen untersucht und zum anderen wurde versucht über Viabilitätstests und Beeinträchtigung von Stoffwechselwegen die komplexeren Wirkmechanismen aufzudecken. Bei ersten Versuchen mit Viren konnte gezeigt werden, dass die Inaktivierung nicht an der RNA sondern eher durch die Zerstörung des kompletten Kapsids oder auch nur der adhäsiven Domänen des Kapsids erfolgte. Es wurden binnen kurzer Kontaktzeiten Reaktionen an diversen Aminosäuren wie Cystein, Thyrosin und Tryptophan festgestellt, die zur Denaturierung von Proteinen führten (Hauchmann et al., 1986; Noss et al., 1986). Auch Simonet und Ganzer (2006)

konnten keinen Abbau von purer viraler RNA bei $0,5 \text{ mg L}^{-1}$ Chlordioxid über einen Zeitraum von 120 Minuten feststellen, während die Inaktivierung ganzer Polioviren jedoch binnen weniger Minuten abgeschlossen war. Alvarez und O'Brien (1982) schlussfolgerten jedoch, dass eine starke Beeinträchtigung der viralen RNA zur Inaktivierung führen musste, da die behandelten Viren infektiös blieben, sich aber nicht mehr replizieren konnten. Auch Junli et al. (1997b) machten den Abbau der RNA neben dem des gesamten Kapsids für die Inaktivierung von Viren verantwortlich. Durch die Arbeit von Noss und Olivieri (1985) konnte eindeutig gezeigt werden, dass die Desinfektionswirkung nicht von den Abbauprodukten Chlorit und Chlorat herrührt, da diese auch in hohen Konzentrationen keine Inaktivierung von Entero-Bakteriophagen (Typ f2-Virus) verursachten. Untersuchungen an Bakterien legten nahe, dass die Inaktivierung auch nicht durch eine Reaktion mit der DNA geschieht. Selbst hohe Dosen von Chlordioxid und lange Einwirkzeiten konnten die Infektiosität von *H. influenzae* DNA nicht beeinträchtigen (Roller et al., 1980). Es wurden jedoch starke Beeinträchtigungen der Dehydrogenase-Aktivität und der Proteinexpression mit nur geringen Mengen an Chlordioxid festgestellt, die jedoch erst mit steigenden Konzentrationen und Einwirkzeiten zu letalen Effekten führten. Auch Benarde et al. (1967) bestätigten eine Hemmung der Proteinsynthese durch Chlordioxid. Sie schlagen eine Inhibierung auf der Ebene der rRNA oder der mRNA vor. Auch die direkte Zerstörung der Ribosomen wird diskutiert. Berg et al. (1986) beschreiben einen starken Verlust der selektiven Membranpermeabilität durch beobachtetes hohes Ausströmen von K^+ -Ionen aus dem Zellinneren, wenn auch keine großen Schäden der Membran mit entsprechendem Verlust an Makromolekülen aus dem Zellinneren beobachtet wurden. Sie machen diesen Effekt dennoch verantwortlich für den Verlust des transmembranen chemischen Gradienten und damit den Verlust der Energiegewinnung als Mechanismus für die letale Wirkung von Chlordioxid. Wei et al. (2008) bestätigten dies und zeigten durch elektronenmikroskopische Aufnahmen, dass die Zellmembran zwar verändert wird, aber in ihrer Integrität erhalten bleibt. Ghanbari et al. (1982) konnte eine Inkorporation von Chlormolekülen bei der Oxidation von Fettsäuren durch Chlordioxid nachweisen. Diese veränderten Fettsäuren wären durchaus denkbar für eine dramatische Veränderung der Membraneigenschaften und deren Permeabilität. Eine weitere Möglichkeit der Zellinaktivierung wäre die Reaktion von intrazellulären Sekundärprodukten mit DNA.

Chloridoxid reagiert mit Aminen und Alkenen zu Aldehyden (Rav-Acha, 1984), welche in Form von α -Ketoaldehyden insbesondere als Formaldehyd oder Glyoxal in geringsten Mengen die DNA schädigen und verändern können (Broude and Budowsky, 1973; Együd and Szent-Györgyi, 1966). In neueren Mutagenitätstests wurde daher auch eine Genotoxizität für Chlordioxid und Natriumchlorit festgestellt. Mit empfindlichen Untersuchungsmethoden (beispielsweise mit Comet-Assay) konnte eine Interaktion mit der DNA nachgewiesen werden (Buschini et al., 2004).

3.2.4. Inaktivierung von *Escherichia coli* mittels Chlordioxid

Escherichia coli, kurz *E. coli* genannt, ist ein gram-negatives Bakterium aus der Familie der *Enterobacteriaceae*. Entdeckt wurde es 1885 von seinem Namensgeber, dem Bakteriologen Theodor Escherich. Es ist ein fakultativ anaerobes, nicht sporenbildendes, stäbchenförmiges, gram-negatives Bakterium und ist ein Bestandteil der menschlichen und tierischen Darmflora, wobei es pathogene und nicht pathogene Stämme gibt. *E. coli* überlebt auch in anderen Umwelthabitaten und kann leicht kultiviert werden (Schlegel and Zaborosch, 1992). *E. coli* zählt heute zu den am intensivsten untersuchten Mikroorganismen in der Forschung und sein Genom ist in der Vergangenheit vollständig sequenziert und die meisten Gene in ihrer Funktion charakterisiert worden, was es zu einem in der Biotechnologie häufig genutzten Organismus macht (Neidhardt, 1996). Im Bezug auf Wasser und Abwasser nimmt *E. coli* eine interessante und wichtige Rolle ein. Es besitzt den Status eines mikrobiellen Indikatorkeims für die Wasserqualität. Nach Morris (1980) und der *United States Environmental Protection Agency* (US EPA) korreliert *E. coli* neben *Enterococccen* am besten mit dem Auftreten von gastrointestinalen Erkrankungen nach Kontakt mit Trink-, Bade- oder Brauchwasser bei Menschen. In der EG-Badegewässerrichtlinie ist er neben den *Enterococccen* der einzige generalisierte Indikatorkeim für die Beurteilung der Gewässergüte (Richtlinie 2006/7/EG)

Als gram-negatives Bakterium besitzt seine Zellhülle einen relativ komplexen Aufbau, der in Abbildung 3.8 schematisch dargestellt ist. Sie besteht aus zwei Lipiddoppelschichten, einer Cytoplasmamembran und einer äußeren Membran, mit dazwischen befindlichem periplasmatischen Raum, indem sich ein Gerüst aus Lipoproteinen und Peptidoglykanen befindet. Die gesamte Zellhülle hat etwa eine

Dicke von 18 nm, wobei die Lipidschichten je eine Dicke von 8 nm und die Peptidoglykanschicht eine Dicke von 2 nm aufweist (Seltmann and Holst, 2002).

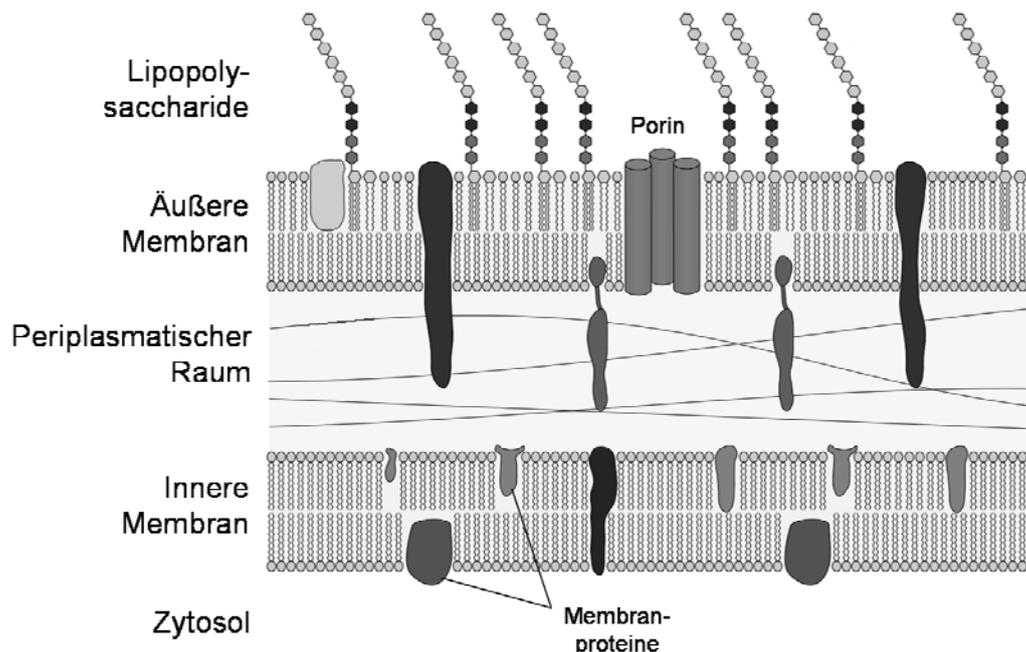


Abbildung 3.8: Schematischer Aufbau der Zellhülle von gram-negativen Bakterien (nach Dahl, 2008; modifiziert).

Die innere Hülle wird durch die Cytoplasmamembran definiert. Sie besteht aus einer Phospholipiddoppelschicht, welche die integralen Membranproteine enthält, den so genannten Transmembranproteinen, oder periphere Membranproteine, die nur einseitig von außen oder innen an die Membran angelagert sind (Schlegel and Zaborosch, 1992). Der Membran kommen sehr viele wichtige Funktionen zu: durch ihre Semipermeabilität stellt sie die osmotische Barriere und Abgrenzung der Zelle zur Umgebung dar. Sie hält das elektrochemische Potential für die Energiegewinnung aufrecht. Viele Stoffwechselreaktionen finden an ihr statt und entsprechende Produkte oder Edukte werden gleich selektiv transportiert. Signaltransduktion und die Kommunikation mit der Umwelt laufen an ihr ab (Schlegel and Zaborosch, 1992). Viele Virulenzeigenschaften und toxische Wirkungen gehen von der Membran aus. Auch Resistenzen gegenüber Bakteriziden sind mit der Membran gekoppelt. Sie bildet auch ein erstes „Schutzschild“ gegenüber chemischen Desinfektionsmitteln, da die meisten Desinfektionsmittel einen hydrophilen Charakter und damit nur eine schlechte Permeabilität besitzen.

Die Zellwand von gram-negativen Bakterien wird neben der äußeren Membran aus einem einschichtigen Mureinnetz aus Peptidoglykan definiert. Dieses Netz verleiht der Zellhülle der Bakterien eine gewisse Stabilität und mechanische Festigkeit, da sie relativ starr und unflexibel ist. Die äußere Membran besteht, ähnlich wie die Zytoplasmamembran, aus einer Lipiddoppelschicht, besitzt aber zudem einen hohen Anteil an Polysacchariden, und Lipo-Polysaccharide. Die Stabilität der äußeren Membran wird durch Komplexierung mit Kalziumionen erhöht. Sie enthält viele Porine und Kanäle, welche die Diffusion hydrophiler Stoffe mit geringem Molekulargewicht erleichtern. Größere Moleküle wie Proteine können dabei die äußere Membran nicht passieren. Die äußere Membran dient zusammen mit der Peptidoglykanschicht hauptsächlich zur Formgebung der Zelle und zur Strukturbildung der äußeren Zellmatrix und Oberfläche (Madigan et al., 2008).

Phospholipiddoppelschichten besitzen zum einen eine große Eigenstabilität gegenüber orthogonaler Scherung und Disproportionierung, zum anderen aber haben sie eine sehr hohe laterale Flexibilität. Grund hierfür ist das Gleichgewicht aus den thermodynamisch treibenden Kräften. Die Ausrichtung der hydrophilen Köpfe nach außen und der hydrophoben Schwänze nach innen verringern die freie Energie ($1 - 2 \text{ mJ m}^{-2}$) über van der Waals Kräfte und hydrophile Wechselwirkungen (Coster, 2003). Die Fettsäureketten haben aber einen hohen Freiheitsgrad in ihrer Beweglichkeit und die repulsiven Kräfte der Kopfgruppen sorgen dabei für eine hohe laterale Bewegungsfreiheit. Die Struktur wird daher oft auch als flüssig-kristallin bezeichnet. Der hydrophobe Kern der Membran besitzt eine sehr geringe Leitfähigkeit und macht es daher für Ionen oder polare Gruppen nahezu unmöglich diese Barriere zu überwinden. Nur durch Destabilisierung der kompakten Matrix oder durch Porenbildung kann eine passive Diffusion ermöglicht werden. Die Porenbildung bedingt jedoch die Überwindung der freien Energie, die nötig ist um die hydrophilen Kopfgruppen Membranlipide um die hydrophile Pore anzuordnen. Ab einem gewissen Grenzdurchmesser einer Pore überwiegt jedoch die gewonnene freie Energie aus der Auflösung der Membran über die aufzuwendende Energie der Krümmung und ein spontanes Porenwachstum würde einsetzen (Coster, 2003). In realen Membranen wirken hier aber Proteinskelette und stabilisierende Stützstrukturen wie die Mureinschicht der Zellwand entgegen.

Auch für die Untersuchung des Inaktivierungspotentials von Chlordioxid dient *E. coli* als exemplarischer Leitkeim der Bakterien. Interessanterweise ist er dabei, als eine

3 Theoretische Grundlagen

der wenigen Ausnahmen, resistenter gegenüber Chlordioxid als gegenüber Chlor bei neutralem pH (C^*t_{99} von 0,034 – 0,05 mg L⁻¹ min; Hoff, 1986). Die recherchierten Zahlenwerte für C^*t_{99} sind in Tabelle 3.3 aufgelistet.

Tabelle 3.3: Auflistung recherchiertes Zahlenwerte für C^*t_{99} in mg L⁻¹ min von *Escherichia coli* bei der Inaktivierung mittels Chlordioxid (nach der Temperatur geordnet).

Temp.	pH	C^*t_{99}	Referenz	Bemerkung
5 °C	6 – 7	0,4 – 0,75	Hoff (US EPA), 1986	Richtlinie und Referenz für die meisten anderen Quellen und Firmen sowie Publikationen
	7	0,14	Dernat und Pouillot, 1992	Direkte Angabe in Tabelle
		0,4	Benarde et al., 1967b	
10 °C	7	0,21	Benarde et al., 1967b	
15 °C	7	0,075	Dernat und Pouillot, 1992	Direkte Angabe in Tabelle
		0,1	Cronier et al., 1978	Aus Diagramm extrahiert
20 °C	7	0,17	Benarde et al., 1967b	
		0,33	Roller et al., 1980	Hohe Startkeimzahl, aus Diagramm extrahiert
		3,75	Junli et al., 1997a	98 % Inaktivierung aus Textangaben abgeschätzt
24 °C	6,5	0,25	Benarde et al., 1965	Mittelwert aus drei verschiedene Konzentrationen (Inaktivierung je > 99 %) aus Diagramm extrahiert
25 °C	7	0,07	Dernat und Pouillot, 1992	Direkte Angabe in Tabelle
		0,45	Berg et al., 1982	Startkeimzahl ~ 10 ⁷ KbE ml ⁻¹ , aus Diagramm extrahiert
32 °C	7	0,12	Benarde et al., 1967b	

3.2.5. Vorteile gegenüber Chlor

Während 1970 in Deutschland noch 95 % aller Anlagen zur Trinkwasserdesinfektion mit Chlor oder Aktiv-Chlorverbindungen betrieben wurden, stieg der Anteil an den alternativen Desinfektionsmitteln, hauptsächlich Ozon und Chlordioxid, in den letzten Jahren auf 50 % an (WaterVitt GmbH, 2009). Da Ozon aber nur eine geringe Remanenzwirkung aufzeigt wird meist Chlordioxid, zumindest für die Postdesinfektion zur Unterbindung der Wiederverkeimung verwendet. Die zunehmende Bedeutung von Chlordioxid gegenüber Chlor beruht auf diversen Vorteilen, die es bezüglich Wirksamkeit, chemischer Reaktionen als auch technologischer Art besitzt.

Bezüglich der Desinfektionsleistung ist Chlordioxid in den meisten Fällen weit überlegen. Zwar ist Chlor bei niedrigem bis neutralem pH ebenbürtig oder in manchen Fällen sogar effizienter bezüglich der Inaktivierung von Bakterien, bei Viren aber stellt sich ein sehr großer Unterschied der Effizienz ein (Narkis and Kott, 1992). Die Inaktivierung mit Chlordioxid ist meist auch schneller und auch noch bei geringeren Restkonzentrationen höher als bei Chlor (Aieta et al., 1980b). Steigt der pH an ($> \text{pH } 7$) so verliert Chlor drastisch an Effizienz, da sein Gleichgewicht nun in der Struktur des weniger effizienten OCl^- liegt. Auch bei hohen Amingehalten im Wasser reagiert Chlor schnell zu Chloraminen, die zwar noch eine Desinfektionswirkung besitzen, aber gegenüber HOCl um bis zu 100-fach herabgesetzt ist (Hurst, 2001). Chlordioxid hingegen zeigt kaum Reaktionen mit Stickstoffverbindungen und verbleibt bei einer konstant hohen Desinfektionsleistung im pH-Bereich von 2 – 10 (Junli et al., 1997b). Bezüglich Viren, Sporen, Algen und Protozoen zeigt Chlordioxid generell eine höhere Inaktivierungsleistung. Seine Effektivität ist je nach Keim bis zu einer Größenordnungen höher als die von Chlor (Knapp and Battisti, 2001). Dies wird dabei oft seinem 250 % höheren oxidativen Potential gegenüber Chlor zugeschrieben. Für die Nachbehandlung von Abwasser oder Vorbehandlung von organisch belasteten Oberflächen- und Rohwässern eignet sich Chlordioxid besser als Chlor, da es eine schnellere Desinfektion mit niedrigeren Einsatzkonzentrationen erzielt (Aieta and Berg, 1986; Aieta et al., 1980a). Bezüglich der Inaktivierung von Indikatorkeimen wie fäkalen coliformen Keimen, Streptokokken und Viren bei Kläranlagenabläufen und Abwässern zeigt es eine deutlich höhere Inaktivierungsleistung als Chlor (Longley et al., 1980).

Große Vorteile bietet Chlordioxid auch bezüglich seiner chemischen Reaktivität. Es besitzt generell eine geringere Reaktionsneigung mit organischen Stoffen, die dann aber meist zu einem oxidativen Abbau führen. Dies führt auch zu einer langsameren Zehrung, so dass die effektive Konzentration für eine Desinfektion länger erhalten bleibt. Chlor hingegen zeigt ein breites Spektrum an Reaktionen, die mitunter auch sehr schnell ablaufen und zu hoher Zehrung führen. Die meisten Reaktionen sind auch mit einer Halogenierung des organischen Partners verbunden. Dies ist wohl der größte Nachteil von Chlor, dass es kanzerogene halogenierte Kohlenwasserstoffe (insbesondere Trihalogenmethane wie beispielsweise Chloroform) bilden kann (Condie, 1986). Weiter werden viele unangenehme Geruchsstoffe und aromatische Verbindungen durch Chlordioxid abgebaut, so dass es auch als Desodorant verwendet wird. Chlor hingegen bildet durch seine Reaktion viele typisch chlorig, stechend und an Medizin erinnernde Geruchsstoffe. Oft wird daher eine Kombination von Chlor als primäre Desinfektion des Rohwassers mit einer Postdesinfektion mittels Chlordioxid verwendet, um die Geruchsbildung der Chlorung zu kompensieren. Zudem fällt Chlordioxid Eisen und Mangan deutlich schneller als Chlor, so dass die Fällungsprodukte noch filtriert werden können, bevor sie ins Leitungsnetz geraten. Auch Trübungen und unpassende farbliche Veränderungen werden mit Chlordioxid viel schneller ausgebleicht als mit Chlor (White, 1972; Katz, 1980).

Technisch bietet Chlordioxid auch einige wichtige Vorteile gegenüber Chlor. Die Lagerung und Handhabung von üblichen Konzentrationen an gelöstem Chlordioxid ist nahezu ungefährlich, während Chlorgas auf Grund seiner Toxizität ein erhebliches Gefährdungspotential darstellt. Daher wird Chordioxid nach dem Salzsäure-Chlorit-Verfahren häufig für die mobile und dezentrale Anwendung, beispielsweise zur Desinfektion von neuen Rohrnetzen, herangezogen, da es gefahrlos und einfach transportiert und hergestellt werden kann (ProConsulting GmbH, 2008). Die Löslichkeit von Chlordioxid ist 5-fach höher als die von Chlor, so dass die Dosierlösung in belüfteten Tanks zwischengelagert werden kann, ohne dass eine starke Entgasung und Verflüchtigung auftritt. Die Korrosivität ist etwas geringer als die von Chlor und damit sind höhere Konzentrationen weniger schädlich für anfällige Anlagenteile und Rohrsysteme. Auch kann eine bestehende Chlorungsanlage ohne hohe Kosten umgerüstet werden, um nach dem Chlor-Chlorit-Verfahren Chlordioxid herzustellen und einzusetzen (White, 1972). Höhere Konzentrationen an Chlordioxid

in Schwimmbecken führen nicht gleich zu den typischen Irritationen von Schleimhäuten und Augen wie es bei Chlor der Fall ist (Hurst, 2001). Zu hohe Restkonzentrationen hingegen können einfach mit Luft ausgestrippt werden oder durch UV-Bestrahlung die Zersetzung von Chlordioxid initiiert werden.

Nachteile von Chlordioxid wären in Bezug auf die Desinfektionsleistung eine langfristig etwas geringere Remanenzwirkung als bei Chloraminen, da es zum einen eine geringere Stabilität hat, und es zum anderen durch die Oxidationsreaktionen mit der Zeit komplett verbraucht wird (Aieta et al., 1980b). Hohe Dosen an Chlordioxid erzeugen mit manchen organischen Stoffen auch störende Gerüche und lassen behandeltes Wasser leicht gelblich erscheinen und einen metallischen Geschmack annehmen. Das primäre Abbauprodukt Chlorit besitzt ein chronisch toxisches Potential und ist auf $0,2 \text{ mg L}^{-1}$ limitiert, was eine beliebige Dosierung an Chlordioxid verbietet. Auch gasförmiges Chlordioxid besitzt bereits in geringen Mengen eine erhebliche akute toxische Wirkung, und ist in höheren Konzentrationen auch explosionsgefährlich (Knapp and Battisti, 2001). Technisch ergeben sich hauptsächlich die Nachteile der geringen Lagerfähigkeit, die durch Sauerstoff und Licht noch herabgesetzt wird. Eine Vor-Ort-Produktion ist somit unumgänglich, um eine gleich bleibende Qualität zu gewährleisten. Sehr hohe Konzentrationen nahe der Löslichkeitsgrenze neigen zu einer radikalischen Autolyse (White, 1972). Der größte Nachteil liegt aber in den Betriebskosten. Je nach Art und Chargengröße der Herstellung muss für die Darstellung von 1 kg Chlordioxid 9 – 50 € veranschlagt werden und liegt somit bei den 6 – 30-fachen Kosten der Chlorung (Roeske and Ritter, 2007).

3.3. Grundlagen zur Kavitation

Unter dem physikalischen Phänomen Kavitation (lateinisch *cavitare* = aushöhlen) versteht man prinzipiell die Bildung sowie den Zusammenfall von Dampfblasen in flüssigen Medien. Diese Dampfblasen entstehen bei entsprechendem Unterdruck, der meist unter dem Dampfdruck der Flüssigkeit bei gegebener Temperatur liegt. Meist dienen entsprechende Gasbläschen oder auch andere Störungen im Medium wie Partikel und Ionen als entsprechende Verdampfungskeime, die dann den Ursprung einer Kavitationsblase bilden. Je nach Gasgehalt der entstehenden Blasen unterscheidet man zwischen „echter“ Kavitation mit vornehmlich dampfgefüllten Kernen oder der sogenannten Pseudokavitation mit höheren Anteilen an nicht

kondensierbaren Gasen, die auch meist persistent als Blase in der Flüssigkeit dispergiert bleiben. Der lokal benötigte Unterdruck zur Kavitationsbildung kann durch unterschiedliche Einflüsse verursacht werden. Technisch und in der Natur relevante Auslöser sind Druckschwankungen durch akustische Wellen oder durch hohe Strömungsgeschwindigkeiten oder -gradienten verursachte lokale Unterdrücke, ähnlich dem Tragflügelprinzip. Entstandene Kavitationsblasen unterliegen einem sehr schnellen und teilweise sehr kurzen Lebenszyklus, der vornehmlich durch den lokal umgebenden Druck bestimmt wird. Steigt der statische Druck in der Umgebung der Blase wieder über den Dampfdruck, so kollabieren die Blasen schlagartig und in der Endphase des Blasenzusammenfalls entstehen im Inneren der Blase und in ihrer näheren Umgebung kurzfristig hohe Druckspitzen und Temperaturen, die zu mechanischen Schwingungen, Geräuschen und im Bereich fester Wände zu einer Erosion der Materialoberfläche führen können. Dies wird, auf Grund der Kurzlebigkeit der einzelnen Blasen, als transiente Kavitation bezeichnet. Im Gegensatz dazu können je nach Bedingung des Umgebungsdrucks auch mehrere Zyklen an iterativen Kollaps- und Expansionsphasen anschließen. Dies wird meist als oszillierende Kavitation bezeichnet und ist ein häufig beobachteter Effekt bei der Kavitationserzeugung durch akustischen Ultraschall (VDI-Technologie-Zentrum / DECHEMA e.V., 1999)

3.3.1. Definition und Entstehung von Kavitation

Kavitation bedeutet eine lokale Phasenänderung einer Flüssigkeit in den dampfförmigen Zustand. Jedoch wird diese Zustandsänderung nicht wie beim Sieden durch isobare Temperaturerhöhung bewirkt, sondern durch isotherme Druckabsenkung unter die Siedelinie wie es in der Abbildung 3.9 graphisch veranschaulicht ist. So verdampft Wasser bei einem normalen Luftdruck von 1013,25 mbar bei 100 °C und benötigt bei einer Temperatur von 20°C einem „Unterdruck“ von absolut 23,37 mbar um in den gasförmigen Zustand überzugehen (Tillner, 1990).

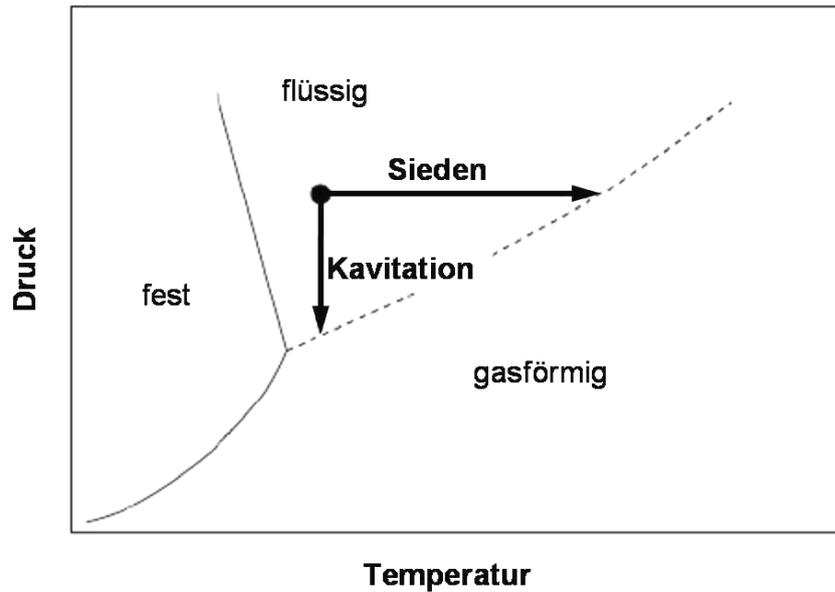


Abbildung 3.9: Schematisches Phasendiagramm mit den Zustandsänderungen Sieden und Kavitation (Pfeile) über die Siedelinie (gestrichelt).

Theoretisch gilt es dabei die Zugfestigkeit von Wasser zu überwinden, die stark von seiner Reinheit (Anteil an Störungen im Flüssigkeitskontinuum) abhängig ist (Isay, 1984). Die theoretisch resultierende Zugspannung würde sich hierbei zu ca. -10^4 bar berechnen (Brennen, 1995). Versuche von Brigg (1950) mit hochreinem Wasser zeigten jedoch eine realistisch maximal erreichbare Zugspannung von -270 bar bei 10 °C. In nicht hochreinem Wasser sind jedoch immer entsprechende Störungen (gelöste Stoffe und Ionen), Partikel und Mikrogasblasen vorhanden sind, die die theoretische Zugfestigkeit der Flüssigkeit herabsetzen (Isay, 1984). Ob eine entsprechende Mikroblase im Radius anwächst oder wieder kollabiert wird durch das Gleichgewicht an wirkenden Kräften auf diese Mikroblase bestimmt. Abbildung 3.10 veranschaulicht dies an einer schematisch dargestellten Blase. Der nötige kritische Druckunterschied Δp_c , der für das Anwachsen einer Blase verantwortlich ist, berechnet sich zu:

$$\Delta p_c = p_B - p = \frac{2 \cdot \sigma}{R_C} \quad \text{Gleichung 9}$$

Mit p_B als Innendruck der Blase, p dem benötigten Umgebungsdruck der Blase, σ der Oberflächenspannung der Flüssigkeit, R_C dem entsprechenden kritischen Radius, (dem so genannten Blake-Radius) der Blase (Brennen, 1995).

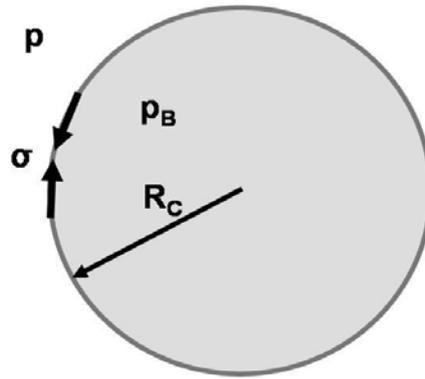


Abbildung 3.10: Kräftegleichgewicht an einer Mikroblase in Flüssigkeit.

In realem Wasser befindet sich meist eine genügend große Anzahl an Störungen, wie Partikel und Mikrogasblasen sowie unebene Grenzflächen (kapillarartige Vertiefungen an Oberflächen von Partikeln oder Wandungen), welche die Oberflächenspannung des Wassers sehr stark herabsetzen und somit zu der sogenannten heterogenen Blasenbildung führen (Tillner, 1990). Hier lässt sich die zu überwindende Zugspannung zur Kavitationsbildung (Blasenwachstum) aus dem kritischen Blake-Radius von Gaskeimen bestimmen. Der Blake-Radius hängt dabei von dem Massenanteil des Gases, der spezifischen Gaskonstanten sowie von der Oberflächenspannung der Flüssigkeit ab. Der nötige Druckunterschied verhält sich dabei proportional zum Kehrwert des Radius des Gaskeims (Brennen, 1995). Gaskeime in der Größe von 1 mm brauchen fast keinen Unterdruck um zum Wachstum angeregt zu werden, während Gaskeime in der Größe von ungefähr 20 μm in der Größenordnung des Dampfungsdrucks von Wasser bei 20 °C liegen (Tillner, 1990). Unbehandeltes „normales“ Wasser enthält pro Liter mehrere Millionen Gaskeime in dieser Größenordnung, deren Anzahlverteilung mit der 4-ten Wurzel zum Radius abnimmt. Normales Wasser kann dementsprechend keine Zugspannungen ertragen und seine Kavitationsschwelle liegt in der Größenordnung des Dampfdrucks (Isay, 1984). Große Keime kavitieren dabei zuerst und durch ihr plötzliches Wachstum wird die umgebende Flüssigkeit beschleunigt, wodurch der umgebende Druck wieder lokal abgesenkt wird. Diese Druckerniedrigung führt wiederum zur Kavitation der nächstkleineren Blasen, die durch ihr Druckfeld erneut kleinere Blasen zur Kavitation anregen können. So ergibt sich meist ein Hystereseeffekt der Kavitation und der Druck, der die Kavitation wieder zum Erliegen bringt, ist meist höher als der kritische Druck, der die Kavitation erstmalig initiiert (Tillner, 1990).

Prinzipiell lassen sich drei Arten der Kavitation unterscheiden: die der reinen Gaskavitation, die Pseudokavitation und die meist als „echte“ Kavitation verstandene Dampfkavitation. Bei der Gaskavitation werden in der Flüssigkeit gelöste und nicht kondensierbare Gase infolge der Druckabsenkung oder auf Grund der Übersättigung als Gasblase freigesetzt. Die Aufweitung oder auch Oszillation von (Mikro-) Gasblasen infolge von Druckabsenkung wird als Pseudokavitation bezeichnet. Im Unterschied zu der Gas- und Pseudokavitationsarten setzt die Dampfkavitation erst mit der Unterschreitung des Dampfdrucks ein. In technischen Strömungen tritt Kavitation in der Regel als Kombination der beiden zuletzt genannten Kavitationsarten auf. Zuerst wachsen Blasen- beziehungsweise Porenkeime durch Pseudokavitation bis zum Erreichen des kritischen Blake-Radius an, ab dem sofort eine Verdampfung in die Blase hinein einsetzt und weiteres rapides Blasenwachstum bewirkt (Brennen, 1995).

Gelangen die mit Wasserdampf und Gasen gefüllten Blasen wieder in Bereiche höheren Drucks (oberhalb des Dampfdrucks) so fallen die Blasen wieder in sich zusammen und „implodieren“ mit sehr hohen Blasenwandgeschwindigkeiten. Dabei kondensiert der Dampf wieder an der Blasenwand und die Gase im Inneren der Blase werden gegen Ende des Kollapses adiabat komprimiert. Erste Berechnungen wurden hierzu bereits 1917 von Lord Rayleigh (1917) durchgeführt, die dann später von Plesset (1948) erweitert wurden und als Rayleigh-Plesset-Gleichung noch heute für annähernd genaue Berechnungen einer Einzelblasendynamik eingesetzt wird. Um chemophysikalische Einflüsse des Mediums und komplexe thermodynamische Einflüsse, die vor allem gegen Ende der Kollapsphase auftreten mit einzubeziehen, wurde die Gleichung in den letzten Jahrzehnten jedoch stetig um weitere Terme erweitert (Tillner, 1990). Abhängig vom Gasgehalt der Blase, dem maximalen Radius und den lokalen Druckbedingungen (beispielsweise auf Grund von Turbulenzen) löst sich die Blase dabei komplett auf oder zerfällt in kleinere Blasen, beziehungsweise durchläuft wieder eine Expansion mit anschließend mehrerer oszillierender Zyklen von Kollaps und Wiederausdehnung. Nach Flynn (Flynn 1975) erfolgt ein transienter Kollaps generell dann, wenn folgendes Verhältnis des maximalen Radius zum Ausgangsradius überschritten wird:

$$\frac{R_{\max}}{R_0} = \sqrt[3]{7,48 \cdot \frac{P_{G0}}{P_0}}$$

Gleichung 10

Mit R_{\max} und R_0 als maximalen und Ausgangsradius der Blase, P_{G0} , dem Partialdruck nicht kondensierbarer Gase, und P_0 , dem Umgebungsdruck der Blase. Die Rayleigh-Plesset-Gleichung beschreibt prinzipiell das Gleichgewicht aus den treibenden Kräften der Dampf- und Gasdrücke auf der Innenseite der Blase mit den Trägheits- und Reibungskräften sowie der Oberflächenspannung auf der äußeren Seite der Flüssigkeit. Die Energie, welche in einer solchen Blase gespeichert wird, entspricht der Volumenarbeit, die bei ihrer Expansion verrichtet wurde, und hängt somit proportional von ihrem maximal erreichten Volumen und somit vom maximal erreichten Radius R_{\max} ab. Da bei dem Blasen kollaps aber sehr hohe thermische Energien dissipiert werden, wird nur etwa 10 % der gespeicherten Energie in Form eines Druckimpulses in die Umgebung abgestrahlt (VDI-Technologie-Zentrum / DECHEMA e.V., 1999). In guter Näherung kann jedoch für den maximalen Druckimpuls folgender Ansatz verwendet werden:

$$P_{\max} \approx 100 \cdot R_{\max} \cdot p_{\infty} \cdot \frac{1}{r} \quad \text{Gleichung 11}$$

Wobei R_{\max} dem maximalen Blasenradius, p_{∞} dem Umgebungsdruck und r dem Abstand zum Blasenzentrum entspricht. Die genaue Berechnung stellt sich als sehr komplex dar, da sich die Stoffdaten und Einflussfaktoren dramatisch ändern, wenn die Blasenwandgeschwindigkeit gegen Ende des Kollapses die Schallgeschwindigkeit von Wasser erreicht (Nigmatulin, 2005). Bei solch hohen Blasenwandgeschwindigkeiten entsteht dabei am Ende des Kollapses eine adiabate Kompression der verbleibenden Gase und des Wasserdampfs, der nicht mehr schnell genug kondensieren kann. Es können hierbei Drücke von bis zu 1000 bar und Temperaturen über 5000 K auftreten, die nicht nur Extrema darstellen, sondern durchaus im Bereich typischer Größenordnungen von kavitierenden Strömungen liegen (Tillner, 1990).

Aufgrund von Druckgradienten in der Flüssigkeit oder in der Nähe von festen Begrenzungen, weichen die Blasen von einer kugelsymmetrischen Form ab und implodieren mit einer einseitigen Einstülpung der Blasenwand unter Ausbildung eines sogenannten Mikrojets. Dieser Jet ist in der Nähe einer festen Oberfläche (Maximalabstand der Blase $\sim 2 \cdot R_{\max}$) auf die Wand zugerichtet und erreicht dabei, je nach maximaler Blasengröße, Geschwindigkeiten von bis zu 140 m s^{-1} und eine Druckamplitude von 1100 bar (Philipp and Lauterborn, 1998). In Abbildung 3.11 sind

die zeitlichen Verläufe von einem sphärischen sowie einem asphärischen Kollaps mit Mikrojetbildung als Bildfolge beispielhaft dargestellt.

Diese Mikrojets oder im Falle von einem sphärischen Kollaps entstehenden hohen Druckimpulse und Temperaturen sind die eigentlich verantwortlichen Effekte für die entsprechende makroskopisch wahrnehmbare Geräuschbildung und Schäden an den betroffenen Bauteilen wie Schiffsschrauben, Schaufelrädern von Wasserturbinen oder Pumpen sowie Ventilen, um nur die prominentesten Beispiele zu nennen.

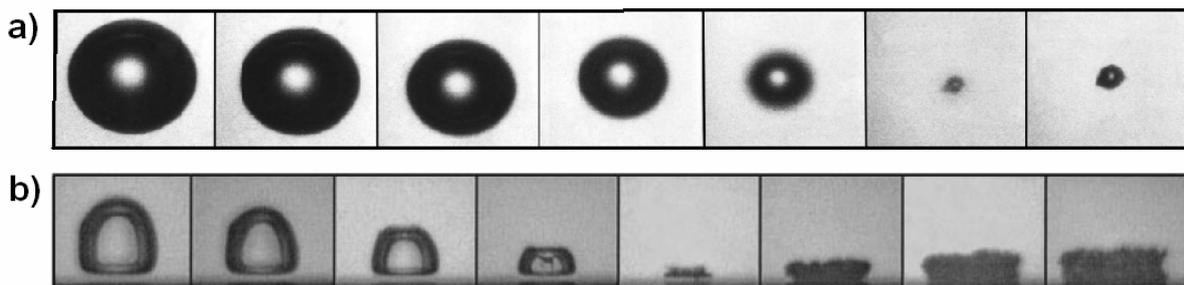


Abbildung 3.11: Verlauf des Blasenkollapses a) sphärisch bei 75.000 Bilder s⁻¹ und b) asphärisch an einer Wand (unterer Bildrand; Bild 4 zeigt deutlich den Mikrojet in der Mitte der Blase) bei 56.500 Bilder s⁻¹ aufgenommen (aus Philipp und Lauterborn, 1998).

Grundsätzlich werden technisch auf 5 verschiedene Arten Kavitationsblasen erzeugt. Die Erzeugung durch fokussierten Laserbeschuss, mit energiereichen oder hoch beschleunigten Teilchen oder Partikeln oder eine elektrische Funkentladung in der Flüssigkeit werden aber meist nur zu Forschungszwecken eingesetzt, um Einzelblasen von definierter Größe zu erzeugen. Großtechnisch und industriell werden nur die Erzeugung durch Ultraschall oder auch einzelner Schockwellen sowie die hydrodynamische Erzeugung eingesetzt. Diese beiden Methoden sollen in den nachfolgenden Kapiteln genauer erläutert werden.

3.3.2. Ultraschallinduzierte Kavitation

Bei der Ultraschall- oder auch akustischen Kavitation werden Schallwellen meist durch piezokeramische Schallwandler auf das wässrige Medium übertragen. Dies geschieht entweder großflächig durch mehrere Wandler, die an der Außenwand eines Bades befestigt sind oder durch einzelne Stäbe, sogenannte Sonotroden, die durch ihre Ausformung auch noch einen verstärkenden oder fokussierenden Effekt auf die Schallwellen ausüben. Als vergleichbare Größe wird dabei meist die Intensität

aus Leistung pro Fläche oder die Energiedichte aus Leistung pro Volumen herangezogen (Keil, 1999). Es werden dabei typischerweise Ultraschallwellen im Bereich von 20 - 200 kHz, für medizinische Zwecke auch bis zu 5 MHz, erzeugt. Die Amplitude liegt je nach Anwendung im Bereich von 1 bis 200 μm (Zenker, 2004). Das Produkt aus Frequenz, Amplitude, Schallgeschwindigkeit und Dichte wird dabei auch als Schalldruck in bar bezeichnet.

Die erzeugten Schallwellen durchlaufen das Medium als Longitudinalwellen oder Kompressionswellen in Form einer Serie von hohen und niedrigen Druckbereichen. Dabei kann der Druck in der negativen Welle unter den Dampfdruck der Flüssigkeit sinken und somit Kavitation hervorrufen. Abhängig vom kritischen Radius des Kavitationskeims und der anregenden Frequenz wird die Blase zu einer erzwungenen gedämpften Schwingung mit unterschiedlicher Amplitude angeregt (stabile oszillierende Kavitation). Je näher die Frequenz in der Resonanzfrequenz der Blase liegt, desto stärker werden die Amplituden der Oszillation (Suslick, 1990). Übersteigt eine Blase während der Oszillationen dabei jedoch ihren kritischen Resonanzradius, wächst sie innerhalb des Unterdruckzyklus sehr schnell bis zu einem entsprechenden Maximalradius an, welcher dann nicht mehr der Schwingung folgen kann. Diese Blase kollabiert im nächsten Druckmaximum dann schlagartig (transiente Kavitation; Suslick, 1990; Hammer and Frommhold, 2001). Der Übergang von Blasenoszillation zur Kavitation wird jedoch oft unterschiedlich definiert, da auch stabil oszillierende Blasen sehr hohe Energien freisetzen können. Nach Lauterborn (2007) wird die Kavitationsschwelle durch das Erreichen des 2,3-fachen Ruheradius bestimmt, da ab diesem Wert in der Kollapsphase die Blasenwand die Schallgeschwindigkeit erreicht.

In der Nähe von Ultraschallerzeugern entstehen ganze Blasenschwärme aus verschieden großen Blasen, die stabil oszillieren oder transient implodieren können. Durch akustische Strömungen bewegen sich diese Blasenschwärme meist auf filamentartigen Bahnen um eine Schallquelle (vergleiche Abbildung 3.12). Diese Ansammlungen an Blasen stören jedoch zum einen das Schallfeld (Hansson et al., 1982) und zum anderen wird die Schallgeschwindigkeit in diesem Zweiphasengebiet stark herabgesetzt (Heller, 2006). Diese Effekte reduzieren den Schalldruck auf Grund der starken Dämpfung und die Intensität der Kavitation nimmt mit dem Abstand von der Abstrahlfläche schnell ab.

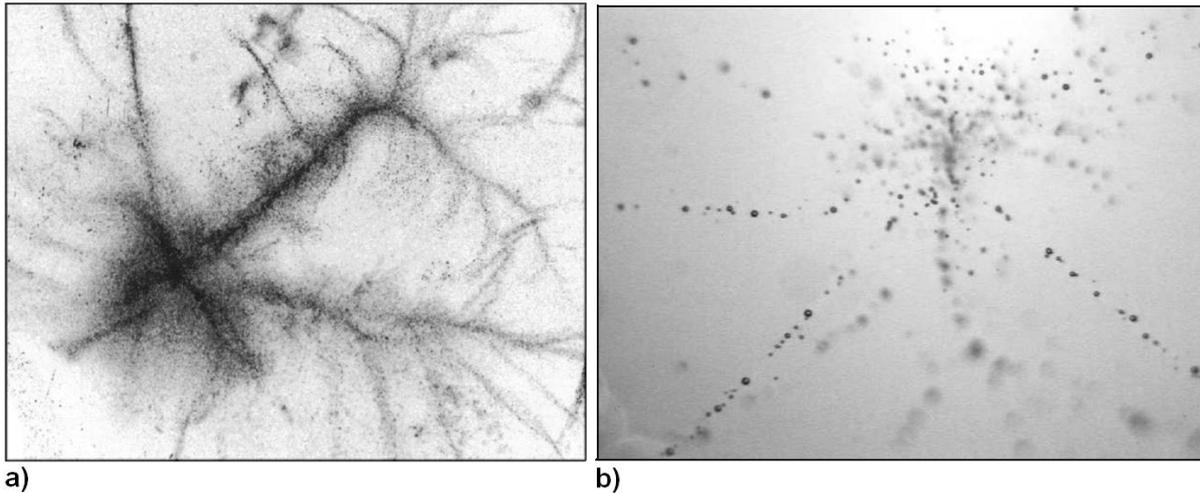


Abbildung 3.12: Fotografie von Blasenfilamentstrukturen an eine Ultraschallsonotrode bei a) normaler Belichtungszeit und b) einer Kurzbelichtungszeit (Mettin, 2007).

Generell kann man eine unterschiedliche Wirkung der Kavitation in Abhängigkeit der Frequenz feststellen. Sehr hohe Frequenzen wechselwirken mit sehr kleinen Gleichgewichtsradien an Gaskeimen und verursachen eine hohe Anzahl an Kavitationsblasen, deren Energie aber nur kurze Wirkradien haben und mehr auf chemisch molekularer Ebene wirken und beispielsweise die Aquasonolyse (Bildung von OH^\bullet - und H^\bullet - Radikalen) begünstigen, während bei niedrigen Frequenzen sehr große Blasenradien erreicht werden, deren Kollapsdruckwellen auch für weitläufigere und makromolekulare Effekte ausreichen wie beispielsweise der Partikelzerkleinerung (Portenlänger, 1999).

Weiter gibt es auch noch viele physikochemische Einflüsse, wie Temperatur, Dampfdruck, Viskosität, Oberflächenspannung der Flüssigkeit oder auch Anteil an gelösten Gasen sowie der Umgebungsdruck, die alle einen maßgeblichen Einfluss auf das Kavitationsverhalten bei der Ultraschallanwendung haben (Horst and Hoffmann, 1999).

3.3.3. Hydrodynamische Kavitation

Hydrodynamische Kavitation entsteht durch eine Reduzierung des statischen Drucks unterhalb des Dampfdrucks der Flüssigkeit nach dem Tragflügelprinzip. Nach Bernoulli sinkt bei hohen Geschwindigkeiten bei Um- oder Durchströmung von Bauteilen der statische Druck der Flüssigkeit auf Kosten des sich aufbauenden dynamischen Fließdrucks. An geometrischen Kanten und Rauigkeiten von Profilen entstehen Strömungsablösungen mit hohen Turbulenzen und entsprechenden

Druckschwankungen, die dann die Kavitation auslösen können. Bewegen sich die Kavitationsblasen in einen Bereich höheren Drucks implodieren sie wieder. Die Kavitation ist hier vornehmlich transienter Natur.

3.3.3.1. Die dimensionslose Kavitationskennzahl C_v

Die Beschreibung der hydrodynamischen Kavitation erfolgt meist über die so genannte Kavitationszahl C_v . Die Herleitung der Kavitationszahl kommt aus der Beschreibung von Druckverhältnissen an einem umströmten Körper. Nach der Bernoullischen Stromfadentheorie und über die Annahmen einer reibungsfreien, stationären und inkompressiblen Strömung kann der Druck an einem angeströmten Profil in der Form der Eulergleichung beschrieben werden. Ein Staupunkt wird dabei als Punktquelle von neuen Stromlinien definiert. Bei der Umströmung des Profils ergibt sich an seiner Oberfläche dabei der Druckbeiwert c_p nach:

$$c_p = \frac{(p - p_\infty)}{0,5 \cdot \rho \cdot v_\infty^2} \quad \text{Gleichung 12}$$

Mit p dem Druck der Strömung am Profil, p_∞ dem Druck der homogenen Anströmung, ρ der Dichte der Flüssigkeit und v_∞ der homogenen Anströmungsgeschwindigkeit. Dieser Druckbeiwert kann dann in Relation zur nötigen Druckdifferenz zur Auslösung von Kavitation gestellt werden. Dabei muss c_p unter den Dampfdruck der Flüssigkeit fallen (Heller, 2006). Der genaue Beginn der Kavitation (meist auch als C_{vi} bezeichnet) kann jedoch stark variieren und hängt noch von vielen Faktoren ab, unter anderem auch sehr stark von den geometrischen Eigenschaften des Profils. Die allgemein verwendete dimensionslose Kennzahl zur Beschreibung der hydrodynamischen Kavitation kann somit wie folgt geschrieben werden:

$$C_v = \frac{(p_\infty - p_v)}{0,5 \cdot \rho \cdot v_\infty^2} \quad \text{Gleichung 13}$$

Mit p_∞ als Umgebungsdruck der beruhigten Zuströmung, p_v dem Dampfdruck der Flüssigkeit, ρ der Dichte der Flüssigkeit und v_∞ der Anströmungsgeschwindigkeit des Profils. Typischerweise setzt die Kavitation bei Unterschreiten $C_v = 1$ ein. Höhere Kavitationszahlen neigen normalerweise zu keiner Kavitation. Niedrigere C_v können aber erreicht werden, wenn lokal die ausgelöste Druckdifferenz nicht lange genug ausreicht um die Kavitationskeime über ihren kritischen Radius anwachsen zu lassen

(Rood, 1991). Bei atmosphärischem Druck erreicht die Kavitationszahl ab einer Strömungsgeschwindigkeit von 14 m s^{-1} bei Wasser einen Wert von 1 (Heller, 2006). Überträgt man diese Kennzahl auf Innen-Rohrströmungen (zum Beispiel bei einer Venturi-Düse) so ist P_∞ durch den Druck der beruhigten Nachlaufströmung p_N (zu Messen nach mindestens 8 - 12 Innendurchmesser des Rohres) zu ersetzen und für v_∞ die maximale Geschwindigkeit (v_{\max}) im engsten Rohrquerschnitt einzusetzen. Da v_{\max} aber messtechnisch nicht zugänglich ist, muss sie über die Kontinuitätsgleichung aus dem Volumenstrom oder der Strömungsgeschwindigkeit im Zulauf und der engsten Rohrquerschnitts-Fläche berechnet werden. Eine Prinzipskizze einer Venturi-Düse im axialen Querschnitt mit der Lage der Parameter, sowie der Druckverlauf innerhalb der Strömung sind in Abbildung 3.13 dargestellt. Fällt dabei der Druckbeiwert $c_{p\min}$ unter den Dampfdruck p_v , so wird in diesem Bereich Kavitation ausgelöst. Bei einer Lochblende ist hierbei zu beachten, dass der niedrigste Druck und damit auch die höchste Strömungsgeschwindigkeit erst in der „Vena Kontrakta“ (eine weitere Strömungsverengung bedingt durch die Zuströmung zur Blende) erreicht wird.

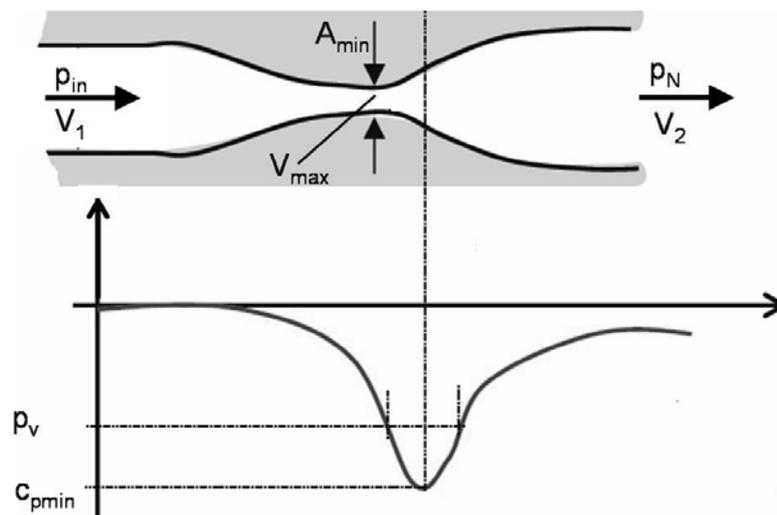


Abbildung 3.13: Axialer Schnitt durch eine Venturi-Düse mit Lage der Parameter zur Berechnung der Kavitationszahl und Verlauf des Druckbeiwerts c_p .

Auch bei der Innen-Rohrströmung ist der reale Einsatz (C_{vi}) und die Intensität der Kavitation sehr stark von der Geometrie der durchströmten Bauteile abhängig. Daher wird beispielsweise bei der Beschreibung von Kavitation in Ventilen ein allgemeiner

Beiwert definiert, der nur die Druckverhältnisse vor und nach dem Ventil zur Druckdifferenz zum Dampfdruck korreliert und dann experimentell durch Messung des Schallpegels das Einsetzen der Kavitation festgestellt wird. So wird für jedes Ventil über verschiedene Betriebsbereiche ein eigener Koeffizient erstellt (Samson AG, 2003).

3.3.3.2. Arten der hydrodynamischen Kavitation und Einflussfaktoren

Die Untersuchung der hydrodynamischen Kavitation erfolgte meist in Strömungstunneln, in denen eine beschleunigte homogene Strömung auf ein gewünschtes Profil gelenkt wird und die entsprechenden Erscheinungen in Abhängigkeit von Strömungsgeschwindigkeit, Druck und Art des Profils erfasst und beschrieben werden. Auch die Eigenschaften und Qualität des Wassers haben einen sehr großen Einfluss auf die kavitativen Eigenschaften und machen deshalb eine exakte Generalisierung der strömungstechnischen Eigenschaften nahezu unmöglich (Heller, 2006). Allgemein sind die Einflussfaktoren auf die hydrodynamische Kavitation so mannigfaltig und die individuelle Erscheinung der Kavitation hoch komplex und meist mit Fluktuationen überlagert, so dass bis heute noch viele Fragen offen bleiben und viele Erscheinungen nur empirisch und qualitativ beschrieben werden (Rood, 1991; Heller, 2006). Es sollen deswegen an dieser Stelle nur einige grundlegende Erscheinungsformen vorgestellt werden.

Bei Umströmung von Bauteilen kann man die Formen der Kavitation in Wirbel-, Schicht-, Wolken- und Blasen kavitation unterteilen (Böhm, 1998). Schichtkavitation beschreibt die Entstehung einer scheinbar zusammenhängenden mit Dampf gefüllten Kavität. Hochgeschwindigkeitsaufnahmen lassen die Blasenstruktur jedoch auch hier deutlich erkennen. Schichtkavitation ist typisch für die Umströmung einer scharfen Kante oder Profils bei großem Anstellwinkel zur Strömung. Im Gegensatz hierzu besteht bei Blasen kavitation das Kavitationsgebiet aus vielen, relativ großen Einzelblasen, die sich typisch auf der Oberfläche stabilisieren. Der Begriff Wolken kavitation wird verwendet, wenn das Kavitationsgebiet aus sehr vielen kleinen Blasen und Blasenschwärmen gebildet wird. Die Abgrenzung zur Blasen kavitation und zur Schichtkavitation ist hier jedoch fließend. Wirbel kavitation tritt in ausgeprägten Wirbelgebieten auf und wird durch den im Wirbelkern entstehenden Unterdruck stabilisiert (Eickmann, 1991). Superkavitation bezeichnet dabei den Zustand der völligen Strömungsablösung vom Profil (beispielsweise bei sehr steiler

Anstellwinkel eines Profils). Es entstehen weitläufige Dampf Räume, die sehr starken Turbulenzen unterworfen sind (Isay, 1984). Die größten Schäden und höchste lokale Intensität besitzen dabei die Wolken- und Blasenkluster-Kavitation, da hier entsprechende Fokussierung der Energie beim Kollaps ganzer Kluster im Zentrum eine Überlagerung der Druckwellen stattfindet (Kanthale et al., 2005).

Neben der Wasserqualität und dem Umgebungsdruck, die auch bei der akustischen Kavitation einen Einfluss haben, hat bei der hydrodynamischen Kavitation vornehmlich die Strömungsgeschwindigkeit und die geometrische Eigenschaft des angeströmten Körpers einen großen Einfluss auf die Kavitationsausbildung. Mit steigender Strömungsgeschwindigkeit (bis zum Erreichen der Superkavitation) werden prinzipiell die Intensität der Kavitation und damit auch die erosiven Eigenschaften an Oberflächen erhöht (Böhm, 1998). Bei den geometrischen Eigenschaften spielen die Größe (Stirnfläche aber auch axiale Ausdehnung) und Form des Körpers (vor allem der angeströmten Stirnfläche) eine Rolle. Sie bestimmen den Verlauf der Stromfäden und definieren dabei die Gebiete der laminaren oder turbulenten Strömungsablösung oder Gebiete der Wirbelausbildung, die wiederum lokal den Druck und somit die Kavitationsentstehung beeinflussen (Keller and Hartung, 1974). Auch die Art der Zuströmung ob turbulent oder laminar bestimmt mit unter das Kavitationsverhalten. Bei turbulenter Zuströmung eines Bauteils konnte immer ein viel schnelleres Einsetzen der Kavitation festgestellt werden (Eickmann, 1991).

Weiter spielen aber auch Faktoren wie die dreidimensionale Ausdehnung und Form des Körpers für das genaue Strömungsprofil eine Rolle. Auch Eigenschaften wie Oberflächenrauigkeit haben einen Einfluss auf die Strömungsablösung und deren Turbulenz. Nicht zuletzt hat die Kavitation selbst, wenn sie eingesetzt hat, einen sehr beträchtlichen Einfluss auf ihre Umgebung in Form von lokalen Druckfluktuationen und Turbulenzen (Rood, 1991).

Bei den Kavitationen in Rohrsystemen handelt es sich meistens um Wolken- und Blasenkluster-Kavitation. Es werden im Bereich der höchsten Strömungsgeschwindigkeit einzelne Kavitationskeime angeregt, die nach Überschreiten des kritischen Radius meistens die nächst kleineren Keime mit zur Kavitation anregen, so dass ganze Kluster entstehen (Kanthale et al., 2005).

Es spielen prinzipiell auch die oben schon erwähnten Faktoren eine Rolle. Weitere Einflussfaktoren sind hierbei der Eingangsdruck vor der Verengung, da er die Strömungsgeschwindigkeit bestimmt und der Ausgangsdruck, der den Druck p_N für die Kavitationszahl definiert. Geometrisch spielen die Größe und Art der Verengung beziehungsweise Aufweitung vor und nach der Engstelle eine Rolle, da sie zum einen das Druckprofil und zum anderen die Turbulenz der Strömung beeinflussen. Bei einer Lochblende wird hier sowohl ein fast schlagartiger Druckanstieg unter hoher Turbulenz verursacht (Moholkar and Pandit, 1997). Entsprechend hat die geometrische Ausformung der Lochkante (rund oder eckig, weich- oder scharfkantig) einen Einfluss auf die Turbulenz. Detaillierte Beschreibungen zu den Eigenschaften von Lochblenden folgen noch im nächsten Kapitel zu den verwendeten technischen Kavitationserzeugern.

Ein wichtiger Aspekt, der bei Innen-Rohrströmungen eine maßgebliche Rolle spielt, sind Skalierungseffekte. Bei Verringerung der Querschnittsgröße in den mikroskopischen Bereich werden zwar prinzipiell ähnliches Verhalten und Einflussgrößen festgestellt, im Detail aber ganz unterschiedliches Kavitationsverhalten. Für Mikrolöcher in Mikrotunnel (in der Größenordnung von 10 – 200 μm) wurde ein Einsetzen der Kavitation erst bei einer C_v von 0,2 – 0,3 beobachtet, während das Aufhören der Kavitation sogar bei einer C_v weit über 1 liegen kann (Mishra and Peles, 2005b). Abhängig von der Querschnittserweiterung kommt es nach dem Einsetzen der Kavitation schnell zu einer abgelösten Strömung mit so genannter „*choked*“ Kavitation, die ähnlich einer Superkavitation bei der Außenströmung verläuft. Man hat schlagartig eine fast völlige Phasentrennung zwischen Flüssig und Gasförmig, die sich bei Mikrokanälen in Form von statischen Riesenblasen oder größeren wandernden Dampfblasen zeigt (Mishra and Peles, 2005a).

3.3.3.3. Technisch eingesetzte Kavitationserzeuger

Prinzipiell wird die Kavitation in Rohrströmungen durch die Beschleunigung der Flüssigkeit auf entsprechend hohe Geschwindigkeiten erzeugt, die dann bei der Kavitationszahl einen Wert unter 1 ergeben. Üblicherweise wird dies durch eine lokale Querschnittsverengung in Form einer Lochblende oder einer Art Venturi-Düse bewerkstelligt, deren Rohrquerschnitte klein genug sind, um bei gegebenem Volumenstrom die nötige Geschwindigkeit zu erzielen. Es gibt noch eine Reihe

weiterer Möglichkeiten um Kavitation zu erzeugen, wie beispielsweise durch Rotationsströmung oder Rotor-Stator-Systeme, die mit sich schnell gegeneinander bewegten Flächen arbeiten.

Am häufigsten untersucht wurde das System der Lochblende, welches von der Forschergruppe um Pandit bereits für die vielfältigsten Anwendungen eingesetzt wurde. Auch existieren hierzu schon einige Modellierungen zu den verfahrenstechnischen sowie geometrischen Einflüssen auf die Kavitationsintensität (Gogate and Pandit, 2001; Moholkar and Pandit, 2001). In Abbildung 3.14 sind Blenden dargestellt, mit denen die Untersuchungen und Modellierungen durchgeführt wurden.

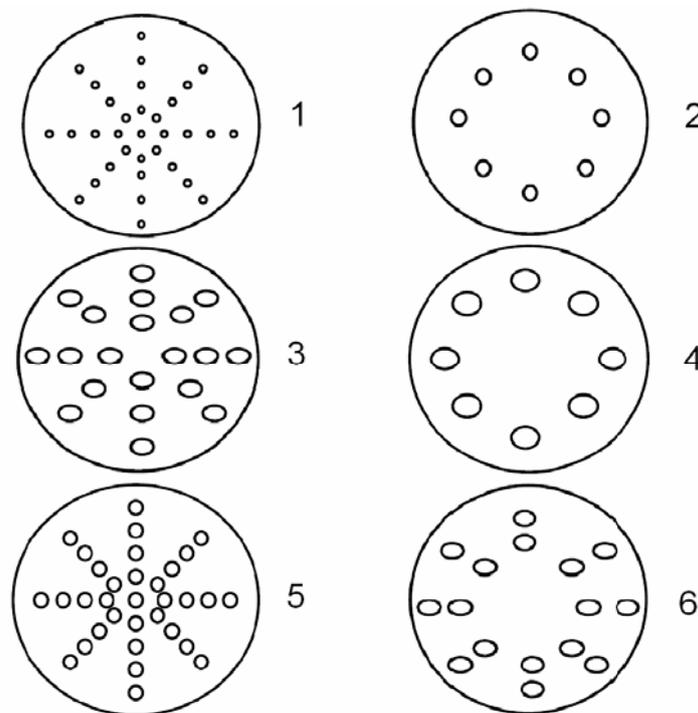


Abbildung 3.14: Auswahl der verwendeten Lochplatten nach der Forschergruppe um Pandit (aus Vichare und Pandit, 2000).

Auch für die Lochblende wurde die allgemeine Notwendigkeit einer turbulenten Strömung für die effektive hydrodynamische Kavitationsgenerierung beschrieben. Die Lochblende eignet sich nach Moholkar und Pandit (1997) am besten zur Beeinflussung dieser notwendigen Turbulenz. Dabei wirkt sich ein steigender Eingangsdruck nach Gogate und Pandit (2000) bis zu der Grenze der Superkavitation immer positiv auf die Kavitationsintensität aus, da mit steigendem

Eingangsdruck auch die Strömungsgeschwindigkeit steigt, und somit die Kavitationszahl herabgesetzt wird. Generell konnte mit der Reduzierung der Kavitationszahl eine Steigerung der Intensität gemessen werden. Kleine Anfangsradien der Kavitationskeime steigern ebenfalls den Kollapsdruck und damit die Kavitationsintensität. Der Durchmesser der Bohrung und die Anzahl der Bohrungen werden dabei kontrovers diskutiert. Der Kollapsdruck der einzelnen Blasen sollte mit steigendem Durchmesser zunehmen. Die Anzahl der Blasen aber nimmt mit steigender Anzahl an Bohrungen und der Zunahme der Umkreislänge der Bohrungen zu. Da hier auch höhere Turbulenzen entstehen, wirken sich mehrere Bohrungen eher positiv auf die Kavitationsintensität aus (Vichare, 2000). Nach Sivakumar und Pandit (2002) kann die Kavitationszahl durch einen Faktor angepasst werden, bei dem der Umkreis aller Bohrungen durch den Umkreis des Nachlaufrohres berechnet wird. Diese korrigierte Kavitationszahl korreliert besser mit den Ergebnissen zur Kavitationsintensität (gemessen mit der sonolytischen Umsetzung von Iodid zu Iod). Folglich schnitt die Lochblende mit vielen kleinen Bohrungen bei entsprechend passender Kavitationszahl besser ab (1 in Abbildung 3.14).

Die Kavitationsintensität einer Venturi-Düse ist im Gegensatz zur Lochblende geringer, reicht aber für viele Anwendungen aus, bei denen nicht so intensive Prozessbedingungen gefordert werden (Gogate and Pandit, 2005). Begründet wird dies mit der Art der Kavitation. Bei einer Venturi-Düse sind die Turbulenz und der Druckanstieg im Nachlauf geringer, weshalb die Kavitation bevorzugt in einer stabilen oszillierenden Art ausfällt (Moholkar and Pandit, 2001). Dabei liegen die erzeugten Kollapsdrücke einzelner Blasen in etwa eine Größenordnung unter denen der Lochblende. Die Kollapsintensität der Blasen steigert sich dabei sowohl mit der Länge des Venturi-Rohrs als auch mit einem kleineren Verhältnis des engsten zum weitesten Querschnitt. Eine Druckerhöhung im Nachlauf hat jedoch den größten Einfluss auf die Kollapsintensität, und steigert diese um das 5-fache bei einer Druckerhöhung von nur 1 bar. Auch die Größe der Kavitationskeime und sogar die Art des Gases in diesen Keimen wurden als Faktoren für die Intensität der Kavitation genannt und als Mittel zur Beeinflussung vorgeschlagen (Kumar and Moholkar, 2007).

3.3.4. Technische Anwendungen der Kavitation

Ultraschall, als eine technisch schon seit den 50-iger Jahren weit entwickelte Methode zur Kavitationserzeugung, wird vornehmlich für die verschiedensten Bereiche der Verfahrenstechnik eingesetzt. Die maßstäbliche Vergrößerung von Ultraschallreaktoren stellte sich aber als komplexer heraus als zunächst angenommen. Die Erhöhung der Intensität und Flächenleistung konnte meist nicht an die Prozessströme angepasst werden ohne neue negative Effekte mit in Kauf zu nehmen, welche teilweise im Versuchsmaßstab nicht bekannt waren. Vor allem Probleme der inhomogenen Behandlung, starke Erosionserscheinungen an Schwingern und hohen Energiekosten wirkten sich negativ bei dem großtechnischen Einsatz von Ultraschall aus (Gogate, 2002; VDI-Technologie-Zentrum / DECHEMA e.V., 1999).

Ultraschall wird dabei für verschiedenste Aufgaben in der Technik, Chemie und auch Biologie und Medizin eingesetzt. Die technische Anwendung besteht dabei hauptsächlich in der Oberflächenreinigung, in Dispergierungs- oder Emulgierungsvorgängen, als Partikelzerkleinerung und Zerstäubung (beispielsweise Kraftstoffdüsen), Wasserstrahlschneiden oder auch zur Beschleunigung von chemischen Reaktionen. (VDI-Technologie-Zentrum / DECHEMA e.V., 1999).

Im Umweltbereich wird ein großes Potential zur Verbesserung des Schadstoffabbaus und zur Abwasser- beziehungsweise Klärschlammaufbereitung sowie zur Desinfektion gesehen. Besonders die Kombination mit anderen Verfahren, wie beispielsweise der chemischen Oxidation, stellt ein große Potential dar (Gogate und Pandit, 2004). Es ergeben sich auch neue Anwendungen für die chemische Verfahrenstechnik (Gogate, 2009). Hervorzuheben ist dabei auch die Selektivität, mit der chemische Reaktionen mit der Intensität der Kavitation gesteuert werden können (Kanthale et al., 2003).

Als eine Modellreaktion zum Nachweis von Kavitation an sich und auch zum Vergleich verschiedener Intensitäten wird die sogenannte Weissler-Reaktion vorgeschlagen (Morris et al., 1980; Morison and Hutchinson, 2009). Dabei weist man die durch die Aquasonolyse (Spaltung von H_2O auf Grund der hohen Temperaturen und Druckbedingungen in kollabierenden Dampfblasen) gebildeten OH^\cdot - und H^\cdot -Radikale durch Oxidation von Iodid zu Iod und Triiodidkomplex entweder photometrisch oder durch iodometrische Titration nach. Auch der Abbau des

Farbstoffs Rhodamin B wird als Modellreaktion für die Intensität der Kavitation vorgeschlagen (Sivakumar and Pandit, 2002). Ein Vergleich von Ultraschall und hydrodynamischer Kavitation zeigt bei beiden Modellreaktionen eine um den Faktor 1,5 – 3 energetisch höhere Effizienz der hydrodynamischen Kavitation abhängig von der eingesetzten Kavitationsgeometrie (Kumar et al., 2000).

3.4. Biologische Anwendungen der Kavitation

3.4.1. Nutzung in der Ultraschalldiagnostik und Therapie

Ultraschalldiagnostik als nicht-invasives Bildgebungsverfahren ist schon seit den sechziger Jahren bekannt. Es werden dabei sehr hohe Frequenzen im Megahertzbereich bei sehr geringen Amplituden gewählt, um möglichst wenig Schaden oder Beeinflussung im Gewebe zu erzeugen. Erst seit Anfang der neunziger Jahre wird auch die externe nicht-invasive Ultraschallanwendung, beispielsweise in Form von Schockwellen, für mögliche therapeutische Zwecke genauer untersucht (Delius, 2002). Bei Anwendung von niedrigeren Frequenzen und höheren Amplituden konnten Permeabilisierung von Membranen und sogar Zerstörung von Zellen und Geweben bewirkt werden. Ziel dieser Anwendung ist es Wirkstoffe oder DNA durch die Membran zu schleusen oder im anderen Fall schädliches Gewebe nicht-invasiv zu zerstören (Mehier-Humbert et al., 2005; Huber et al., 1999).

Je nach Frequenz, Pulsdauer und Amplitude bildet sich entweder eine stabil oszillierende oder auch eine transiente Kavitation mit radikalen Kollapsen (Metin, 2007). Dabei kann sowohl die eine als auch die andere Form der Kavitation zu einer reversiblen und transienten oder auch irreversiblen, meist letalen, Perforation der Membran führen. Der exakte Mechanismus, der zur Schädigung der Membran führt, konnte noch nicht genau bestimmt werden. Es werden Schockwellen aus Blaskollapsen, Dehn- und Scherströmungen aus Blasenoszillation, „Mikrojetting“ sowie sekundäre Mikroströmungen vorgeschlagen (Ohl et al., 2006; Brayman et al., 1999). Sie untersuchten dabei die Auswirkung von Schockwellen (wenige μs an Impulszeit) von 1 – 5 MHz und bis zu 2,5 MPa negativer Druckwelle an fixierten Gewebezellen. Auch aus der Forschung über einzelne laserinduzierte Blasen konnte die maximale Schädigung von fixierten Zellen für den Kollaps von Blasen mit der Folge von Schockwellen und Mikrojets festgestellt werden (Vogel et al., 1990). Rau

et al. (2006) andererseits stellten die Blasenexpansion als wichtigsten Faktor für die Schädigung zur Diskussion. Nach ihnen scheint es vom Abstand der Blase zu den Zellen abzuhängen, welcher Effekt den primären oder auch größeren Schaden hervorruft. Dass die Scherspannungen aus akustischen Mikroströmungen um stabil oszillierende Blasen herum Membrane destabilisieren oder sogar zerstören können, wurde mit künstlichen Lipidvesikeln bereits gezeigt (Marmottant and Hilgenfeldt, 2003). Die Strömungsgeschwindigkeit dieser akustischen Strömung hängt dabei von der Blasengröße, der Frequenz und Amplitude und dem Abstand des Partikels zur Blase ab. Für 20 μm große Blasen und 140 kHz konnten in Blasennähe schon Geschwindigkeiten von 6 mm s^{-1} festgestellt werden (Marmottant et al., 2006).

Für die andauernde Ultraschallbehandlung eignen sich generell niedrige Frequenzen ($\sim 20 \text{ kHz}$) besser für eine irreversible Zerstörung von Membranen und führen schon bei geringeren Energiedosen schnell zu letalen Effekten, als höhere Frequenzen (um 100 kHz). Diese hingegen eignen sich bei mittleren Energiedosen besser zur reversiblen Permeabilisierung ohne eine große Zahl an letalen Zellen zu verursachen (Sundaram et al., 2003). Cochran und Prausnitz (2001) zeigten, dass auch mit steigender Amplitude und Pulsdauer (Anzahl unmittelbar aufeinanderfolgender Pulse) bei immer höheren Energieeinträgen (gesamte Bestrahlungsdauer) erst vermehrt permeabilisierte und später zunehmend stärker letal geschädigte Zellen auftreten.

Ein weiterer Ansatz zur Optimierung und gezielten Steuerung der Ultraschall induzierten Membranperforierung ist der Einsatz von sogenannten Ultraschallkontrastmitteln, die eigentlich für die Ultraschalldiagnostik entwickelt wurden. Ultraschallkontrastmittel sind Mikroblasen in der Größenordnung von $1 - 10 \mu\text{m}$ mit einem Kern aus Luft oder schwer löslichen Gasen, die mit Phospholipiden oder Proteinen stabilisiert sind. Diese Blasen dienen nun als Kavitationskeime, die bei schon sehr geringer Amplitude und höheren Frequenzen ($>100 \text{ kHz} - 5 \text{ MHz}$) in starke Schwingungen und zur Oszillation gebracht werden können (Guzman et al., 2001a). Es kann aber bei entsprechend niedrigen Frequenzen und hoher Amplitude je nach Blasengröße auch eine transiente Kavitation mit Blasen kollaps erzwungen werden, wobei die Mikroblasen sich dann meistens auflösen (Postema and Gilja, 2007). Auch oszillierende Blasen können je nach Abstand von der Zelle eine reversible sowie auch irreversible Schädigung der Zellmembran verursachen. Ward et al. (2000) zeigten, dass dies vornehmlich von der dritten Potenz des Abstands

zwischen Zellen und Blasen abhängt, ob eine letale oder reversible Schädigung stattfindet. Auch Guzmann et al. (2003) stellten eine positive Steigerung sowohl der transienten Permeabilisierung als auch der letalen Schädigung mit steigendem Verhältnis von Zellen zu Blasen fest. Bei geringem Zell- zu- Blasen-Verhältnis nahm mit steigendem Energieeintrag prinzipiell die Zahl der letal geschädigten Zellen auf Kosten der permeabilisierten Zellen zu. Für höhere Zell zu Blasen-Raten konnte aber eine Steigerung beider Effekte beobachtet werden. Sie definierten daher einen von den Bedingungen abhängigen letalen und permeabilisierenden Radius um eine oszillierende Blase, der mit steigendem Energieeintrag zwar zunimmt, aber mit steigender Zahl an Blasen, auf Grund der gegenseitigen Dämpfung und niedrigerem Verhältnis von Zellen zu Blasen abnahm. Tang et al. (2004) konnten diesen Effekt auch für Gasvakuolen enthaltende Cyanobakterien feststellen. Die Schwingungsanregung dieser Gasvakuolen bei einer Frequenz von 1,7 MHz zeigte bei nur wenigen Minuten Behandlung eine Schädigung, während die Kontrollgruppe ohne Gasvakuolen nahezu vital blieb.

Van Wamel et al. (2006) stellten ein prinzipielles Modell zur Wirkungsweise solcher oszillierender Blasen auf Zellmembranen vor (vergleiche Abbildung 3.15). Sie konnten dabei eine reversible kurzfristige Permeabilisierung von Endothelzellen zeigen, ohne dass die Zellen letalen Schaden nahmen und die Integrität der Membranen binnen weniger Sekunden nach der Ultraschallbehandlung wieder hergestellt war. Der Effekt der hydrophilen Porenbildung wird dabei mit der Zugspannung von kollabierenden Blasen begründet, da Membranen diese Elongation nicht schnell genug ausgleichen können. Mehier-Humbert et al. (2005) konnten auch einen schnellen Verschluss der Poren binnen weniger als einer Sekunde nach der Behandlung mit Ultraschall zeigen. Untersuchungen mit verschiedenen großen Molekülen deuteten auf einen maximalen Porendurchmesser von 75 nm hin. Nach Schlicher et al. (2006) konnten Membranschäden und Poren beobachtet werden, die ein Molekültransfer von bis zu 2.000 kDa Größe zuließen, wobei die Transferrate mit der Molekülgröße signifikant abnahm.

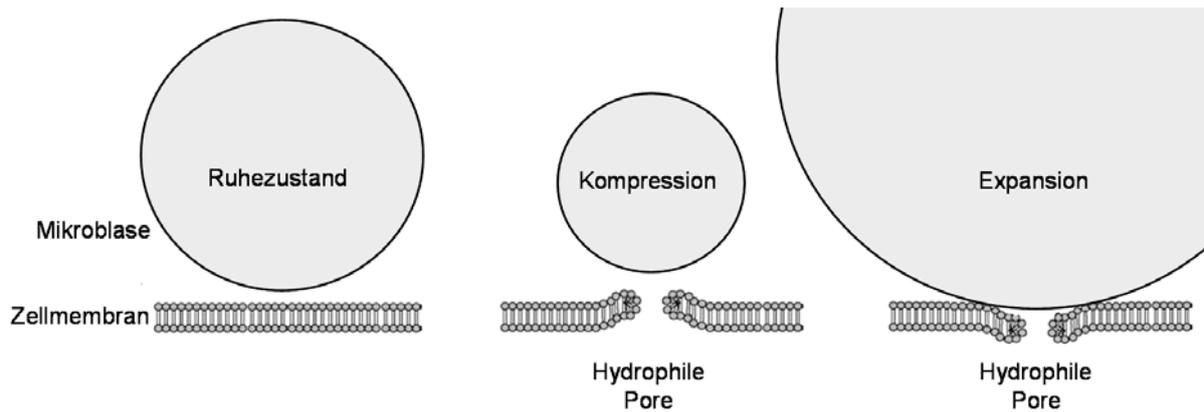


Abbildung 3.15: Modellvorstellung der Wirkung von oszillierenden Mikroblasen auf Zellmembranen (nach VanWamel et al., 2006; modifiziert).

3.4.2. Zellaufschluss und selektive Trenntechnik

Für den erfolgreichen mechanischen Zellaufschluss sind allgemein die Stabilität der Zellhülle und die Größe der Mikroorganismen von Bedeutung. Auch der Wachstumszustand oder die Vorbehandlung der Zellen mit beispielsweise erhöhter Temperatur oder verändertem pH haben einen Einfluss auf die Effektivität der Extraktion von vornehmlich intrazellulären Proteinen und Enzymen (Farkade et al., 2006; Balasundaram and Pandit, 2001a). Middelberg und O'Neil (1993) konnten eine Korrelation der Stabilität von *E. coli* mit seiner Größe und dem Vernetzungsgrad seiner Peptidoglykanhülle herstellen, welches hauptsächlich für die mechanische Stabilität verantwortlich ist. Als wesentlichster Wirkeffekt für die Desintegration der Zellhülle werden die Krafterwirkungen auf die gesamte Zelle oder nur lokal auf einen Bereich der Oberfläche verantwortlich gemacht. Dabei spielen sowohl Druckgradienten, Geschwindigkeitsgradienten als auch Faktoren wie Temperatur, Dichte und Viskosität eine wichtige Rolle (Edebo and Magnusson, 1973). Nach Kleinig und Middelberg (1997) spielen dabei meist Trägheitskräfte eine größere Rolle als durch die Umgebung übertragene Scherkräfte. Nach Miller et al. (2002) spielt nur ein lokaler Stau- oder Stoßdruck an einer Strömungsumlenkung, wie beispielsweise am Distanzring bei einem Hochdruckhomogenisator eine wesentliche Rolle. Die genauen Effekte und das Zusammenspiel sind jedoch noch nicht endgültig geklärt. Eines haben aber alle mechanischen Zellaufschlusssysteme gemein: sehr hohe Impulsänderungen (Krafterwirkungen pro Zeit) entstehen auf sehr kleinen Räumen. Ob durch Beschleunigung in Hochdruckhomogenisatoren, French-Press oder durch

Kavitation (durch Ultraschall oder hydrodynamisch erzeugt), es entstehen immer sehr hohe Scherkräfte auf Grund von Turbulenzen, Mikrowirbeln und Strömungsgradienten sowie durch Blasenimplosion hervorgerufene Schockwellen auf sehr kleinem Raum und für sehr kurze Zeit, die allgemein für den Zellaufschluss verantwortlich gemacht werden (Sawant et al., 2008). Kavitation wird auch bei Hochdruckhomogenisatoren eingesetzt und spielt für den Zellaufschluss eine wichtige Rolle (Floury et al., 2004). Nach Shirgaonkar et al. (1998) ist Kavitation sogar eine notwendige Bedingung, um überhaupt effektiven Zellaufschluss zu erreichen. Sie stellten eine Korrelation mit der Iodfreisetzung (Indikatorreaktion zum Nachweis der Kavitationsintensität) und Zellaufschlussverhalten für Hochdruckhomogenisatoren und Hochgeschwindigkeits-Homogenisatoren (Kavitationserzeuger nach dem Rotor- Stator-Prinzip) fest.

Bei der akustisch und hydrodynamisch erzeugten Kavitation ist der wesentlichste Faktor die Erzeugung von Kavitationsblasen in ausreichender Anzahl und Intensität. Nach Tsukamoto et al. (2004) ist die minimal nötige Amplitude 3 μm bei 27,5 kHz um Kavitation und damit Zellaufschluss bei Hefen zu erzeugen. Feliu et al. (1998) fanden für *E. coli* eine lineare Zunahme der Aufschlussrate mit der Steigerung der akustischen Leistung. Weitere Einflussgrößen sind aber auch Viskosität, Dichte und Oberflächenspannung des Mediums, die sich mit den organischen Inhaltsstoffen wie beispielsweise den Zellen selbst ändern (Gogate and Pandit, 2008). Diese Faktoren beeinflussen zum einen die Entwicklung und das zeitliche Einsetzen von transienter Kavitation und zum anderen die Intensität der Kavitation, sowie die daraus resultierenden Turbulenzen und akustischen Strömungen (Lörincz, 2004). Für den Zellaufschluss werden meist sehr hohe Energiedichten auf kleine Volumina eingesetzt. Die Energieleistung wird meist auf die Abstrahlfläche der Schwinger bezogen und reicht von wenigen mW cm^{-1} bis zu $1,2 \text{ kW cm}^{-1}$ (Lörincz, 2004). Geringe Reichweite der Intensität, und damit inhomogene Behandlung des Mediums, die große Zahl an Einflussfaktoren sowie das Problem der schnellen Schädigung der Sonotroden beschränken Ultraschall eher auf Laboranwendungen. Im Gegensatz dazu wird bei der hydrodynamischen Kavitation ein großes Potential für die Umsetzung im industriellen Maßstab gesehen (Gogate and Kabadi, 2009).

Von Gogate und Pandit (2008) wurden einige Design- und Prozessvorschläge zur hydrodynamischen Kavitation zum Zellaufschluss gemacht. Es eignen sich prinzipiell Lochblenden auf Grund ihrer Variabilität eher als Rotor-Stator-Systeme und Venturi-

Düsen. Die wesentlichen Einflussfaktoren sind dabei Eingangsdruck, Volumenstrom, Anzahl und Größe der Bohrungen, sowie das Verhältnis der freien Querschnittsfläche zum gesamten Rohrquerschnitt. Meist werden diese Bedingungen in der Kavitationszahl (C_v) als maßgebliche Kennzahl zusammengefasst und der Aufschlusserefolg in Abhängigkeit der C_v dargestellt. Als optimale Kavitationszahlen wurden dabei $C_v = 0,13$ und $C_v = 0,17$ festgestellt, bei denen die größte Proteinfreisetzung beobachtet werden konnte. Kavitationszahlen unter oder über diesem Wertebereich führten wieder zu einer starken Abnahme, da in einem Fall die Kavitationsintensität zu niedrig war und im anderen Fall sich durch zu hohe Intensität wieder eine gegenseitig negative Beeinflussung der Kavitationsblasen einstellte (Balasundaram and Harrison, 2006b; Balasundaram and Harrison, 2006a). Sie beschreiben auch eine vornehmliche Selektivität der hydrodynamischen Kavitation auf die Extraktion von membrangebundenen oder periplasmatischen Proteinen und begründen dies durch die im Vergleich zu Ultraschall oder Hochdruckhomogenisator geringeren Energieeinträge, die mehr die Zellhülle angreifen und nicht gleich die ganze Zelle zerstören. Balasundaram und Pandit (2001) beobachteten für diesen Effekt auch eine gute Kongruenz mit den in der Literatur beschriebenen sogenannten Selektivitätsfaktoren, die erkennen lassen, wo ein Protein vornehmlich lokalisiert ist. Auch die Effizienz bezogen auf die notwendige Energie in kJ pro mg extrahiertes Protein (bei Behandlung gleicher Zellsuspensionen unter Bildung des jeweiligen Quotienten aus der Proteinkonzentration in mg ml^{-1} und den dafür nötigen Energieeintrag in kJ pro ml) liegt mit $0,07 \text{ mg kJ}^{-1}$ in der konkurrenzfähigen Größenordnung zu Hochdruckhomogenisatoren (bis $0,12 \text{ mg kJ}^{-1}$; Balasundaram and Pandit, 2001a).

3.4.3. Aufbereitung von Abwässern und Klärschlämmen

Bei der Abwasseraufbereitung durch Kavitation kann man prinzipiell die Anwendung zur Desinfektion, chemischen Dekontamination und Klärschlammaufbereitung unterscheiden. Auf die Desinfektion soll in Kapitel 3.4.4 gesondert eingegangen werden. Die chemische Dekontamination umfasst zum einen die Degradation von höhermolekularen Stoffen (beispielsweise Dextran oder Polysaccharide) oder Partikeln und Agglomeraten zu kleineren, besser abbaubaren Produkten. Dabei werden hauptsächlich die mechanischen Wirkungen der Kavitation genutzt (Portenlänger, 1999). Zum anderen wird die Radikalbildung durch die Aquasonolyse

für die Degradation von schwer abbaubaren Stoffen oder auch zur gänzlichen Mineralisierung von organischen Stoffen genutzt (Tauber et al., 1999; Sivakumar and Pandit, 2002). Da die Radikale in den Zentren der Blasen gebildet werden und sehr kurzlebig sind, erreichen sie nur die flüssige Grenzschicht der Blase und sind im Rest des Mediums nur in geringer Konzentration in Form von Wasserstoffperoxid wirksam. Deswegen spielt die Löslichkeit und Hydrophobizität der zu entfernenden Stoffe eine große Rolle, da diese in die Gasphase der Blase diffundieren oder zur Anlagerung an die Phasengrenzfläche neigen (Tauber et al., 1999).

Bei der Klärschlammaufbereitung wird Ultraschall zum einen eingesetzt, um eine höhere Entwässerbarkeit und Phasentrennung hervorzurufen (Müller and Lehne, 1999) Zum anderen soll die Abbaubarkeit und damit die Biogasgewinnung bei der anaeroben Faulung erhöht werden. Je nach Behandlungsintensität werden bis zu 6 g L⁻¹ der noch gebundenen, löslichen organischen Substanz freigesetzt. Die Fermentationszeit lässt sich zudem von 22 auf 8 Tage reduzieren (Neis and Tiehm, 1999). Ultraschall wurde dabei für mehrere Klärwerke bereits großtechnisch über längere Zeiträume untersucht. Es konnten höhere organische Abbaugrade von bis zu 5 % erzielt und die Biogasausbeuten um bis zu 11 % gesteigert werden (Eder, 2004).

3.4.4. Desinfektion

Die alleinige Anwendung von Ultraschall zur Wasserdesinfektion ist wegen des hohen Energieverbrauchs und den Problemen der maßstäblichen Vergrößerung nicht ökonomisch einsetzbar. In einigen Bereichen wird sie dennoch zur Stabilisierung der mikrobiologischen Flora oder zur Inaktivierung von Plankton und Algen in Kühlwasserkreisläufen bereits großtechnisch eingesetzt (Mason et al., 2003). Dabei wird auch die hydrodynamische Kavitation beispielsweise durch die Sali Group (LLC, United States) schon industriell eingesetzt. Die Anwendung in der Abwassertechnologie zur Desinfektion wird ebenfalls diskutiert. Foladori et al. (2007) konnten bei 150 kJ L⁻¹ für *E. coli* eine sofortige Inaktivierung von 80 % nachweisen. Für Klärschlamm wurde dagegen erst eine deutliche Erhöhung der Keimzahl auf Grund der Desintegration von Zellaggregaten festgestellt. Im Labormaßstab gestaltet sich die Inaktivierung allgemein effektiver. Furuta et. al (2004) setzten bis zu 42 J ml⁻¹ an Energieeintrag für über 99 % Inaktivierung von *E. coli* binnen weniger Minuten in einer speziellen Durchflusszelle ein. Sie konnten dabei einen minimal nötigen Abstand von 2 mm zwischen Ultraschallschwinger und Wand definieren. Hua und

Thompson (2000) konnten sogar eine Inaktivierung um mehr als 2 Dekaden mit 360 J ml^{-1} erreichen. Sie schlugen bereits einen möglichen Zusammenhang zwischen der Aquasonolyse und den mechanischen Effekten auf die Zellmembran vor. Die Radikale aus der Sonolyse allein würden nicht die Inaktivierung bewirken, aber in Zusammenhang mit der mechanischen Beanspruchung würde sich eine höhere Diffusion in die Zelle ergeben. Für größere Maßstäbe wird Ultraschall für die Desinfektion von flüssigen Lebensmitteln diskutiert. Auch hier wird die Kombination mit Temperatur, Druck oder antimikrobiologischen Agenzien als erst wirklich effektiv eingeschätzt (Milly et al., 2007; Piyasena et al., 2003).

Die Nutzung von hydrodynamischer Kavitation mit dem Ziel der Desinfektion ist in der Literatur nur wenig beschrieben. Nur Jyoti und Pandit (2001) stellen erste Ergebnisse zur Desinfektion von Rohwasser vor. Im Vergleich zu Ultraschall oder Hochdruckhomogenisatoren bietet die hydrodynamische Kavitation an einem Ventil die energieeffizienteste Methode mit 99 % Keimabreicherung bei 32 J ml^{-1} Energieeintrag (Startkeimzahl $\sim 5 \cdot 10^3 \text{ KbE ml}^{-1}$). Sie bilanzierten jedoch, dass dieses Verfahren trotzdem 200-mal teurer ist als eine reine Chlordesinfektion. Milly et al. (2007) setzten einen Kavitationsreaktor, der durch Rotation einer Trommel mit zylindrischen Hohlräumen Kavitation erzeugt, zur Desinfektion von Apfelsaft ein. Sie erzielten in Kombination mit einer Behandlungstemperatur von $65,6 \text{ }^\circ\text{C}$ eine völlige Sterilität. Dabei soll der Anteil der Kavitation über die Hälfte des Effekts ausmachen.

Auch von Jyoti und Pandit (2001) sowie von Gashchin und Viten'ko (2008) wurden Rotor-Stator-Systeme zur Kavitationserzeugung verwendet. Sie beobachteten einen 219 J ml^{-1} beziehungsweise 65 J ml^{-1} nötigen Energieeintrag zur Abtötung von 99 % der Keime. Gashchin und Viten'ko (2008) stellten dabei zusätzlich eine negative Abhängigkeit der Effizienz mit steigender Keimzahl fest. Für die Abtötung von Zooplankton scheint es jedoch eine realistische Alternative darzustellen (Sawant et al., 2008). Es werden hierbei Abreicherungen von 82 % bei nur einer Passage durch eine Lochblende gemessen. Angesichts jedoch einer Abreicherung von bereits 28 % durch die alleinige Einwirkung der Pumpe, scheint dieser Erfolg an der extrem hohen Scherempfindlichkeit des Planktons zu liegen.

Daher schlägt nicht nur die Forschergruppe um Pandit den Einsatz der akustischen oder hydrodynamischen Kavitation in Kombination mit Desinfektionsmitteln vor (Mason et al., 2003; Duckhouse et al., 2004).

Die Kombination aus Ultraschall und Desinfektionsmittel wird bereits seit den siebziger Jahren für die Sterilisation von medizinischen Geräten untersucht, da hier Sporen ein schwer zu lösendes Problem darstellten. In wässrigen Lösungen von chemischen Desinfektionsmitteln wie Glutaraldehyd wurde in Kombination mit Ultraschall eine starke Verringerung der Einwirkzeit erzielt (Sierra and Boucher, 1971). Selbst die Behandlung an Luft mit bis zu 162 Dezibel zeigte eine stark erhöhte Inaktivierung von *B. subtilis* Sporen mit Ethylenoxid (Boucher et al., 1967). Bezüglich der Abwasserdesinfektion leisteten Dahi (1976) und Burleson et al. (1975) Pionierarbeit. Beide erreichten bei der Kombination von Ultraschall mit Ozon eine wesentlich höhere und schnellere Abreicherung an Keimen als mit Ozon alleine. Dieses Ergebnis wurde zum einen auf den schnelleren Stofftransport des Ozongases in die flüssige Phase zurückgeführt als auch auf die schnellere Radikalbildung aus O_3 . Eine Vorbehandlung mit Ultraschall zeigte zudem eine höhere Abreicherung, die auf das Auflösen von Zellaggregaten und Partikeln zurückgeführt wurde. Die Erhöhung der Permeabilität der Membran oder eine synergetische Wirkung von Ultraschall auf die toxische Effizienz von Ozon wurde dagegen von Dahi (1976) verneint. Bei der Kombination von Ultraschall (20 kHz bei 350 W) und Chlor konnten Blume und Neis (2005) eine Synergie für die sowohl gleichzeitige Anwendung als auch für die Vorbehandlung mit Ultraschall feststellen. Dies machte sich vor allem bei höheren Feststoffgehalten von 32 bis 50 mg L⁻¹ bemerkbar. Bei einer 10 Sekunden andauernden simultanen Behandlung mit Ultraschall konnte die Inaktivierung von *E. coli* bei 2 mg L⁻¹ Chlor verdoppelt werden. Die Vorbehandlung mit 5 Minuten Ultraschall bewirkte zumindest noch eine Steigerung von bis zu 50 % bei 5 mg L⁻¹ Chlor. Ähnliches stellten sie für die Kombination von Ultraschall mit UV fest (Neis and Blume, 2003). Hier reichte eine 10-sekündige Vorbehandlung mit Ultraschall bei 310 W L⁻¹, um die Inaktivierung der nachfolgenden UV-Behandlung zu verdoppeln. Während für die Kombination mit UV die Effizienz durch die Desagglomeration der Zellen begründet wird, wird die Steigerung der Effizienz bei der simultanen Anwendung mit Chlor auf die erhöhte Diffusion in die Zellen zurückgeführt. Dies belegt Blume (2006) bei der simultanen Inaktivierung mit Chlor durch die zuerst steil abfallende Kurve der Inaktivierung während der Ultraschallbehandlung, die danach aber mit einer Inaktivierungsgeschwindigkeit vergleichbar der bloßen Chlorung verlief. Auch Phull et al. (1997) konnten eine Steigerung der Inaktivierung um das zweifache nach 5 Minuten und nahezu Sterilität nach 20 Minuten

Ultraschallvorbehandlung zusammen mit 1 mg L^{-1} Chlor erzielen. Sie bevorzugten jedoch die Vorbehandlung mit der Begründung, dass Ultraschall ein Ausgasen des Chlors bewirke und deswegen die simultane Behandlung weniger effizient sei. Höhere Frequenzen und höhere Schalleistungen wirkten sich positiv auf die Kombination aus. Bei der Kombination mit UV stellten sie auch eine Wirkung basierend auf der Desagglomeration von Partikeln und Keimen fest (von 25 nach $5 \text{ }\mu\text{m}$ mittlere Partikelgröße bei 5 min US-Behandlung). Bei der gleichzeitigen Anwendung von UV und Ultraschall reduzierte sich die Partikelgröße mit der Behandlungszeit (10 – 60 Sekunden), während die relative Effizienz der Inaktivierung von *E. coli* gegenüber der reinen UV-Behandlung zunahm. Auch bei der Kombination von Chlordioxid mit Ultraschall ließ sich schon eine Steigerung der Effizienz von bis zu 60 % gegenüber der reinen ClO_2 -Behandlung erreichen (Huang et al., 2006).

Bei der hydrodynamisch erzeugten Kavitation in Kombination mit chemischen Desinfektionsmitteln leisteten Pandit und Mitarbeiter die Pionierarbeit. Sie arbeiteten dabei mit einem Kreislauf wie er in der Abbildung 3.16 dargestellt ist. Als kavitationserzeugendes Element wurde dabei das Ventil (V2) vor der Beobachtungszone oder die Multilochplatte nach Abbildung 3.14 (1) verwendet. Ventil 1 diente zum Einstellen des nötigen Drucks und Volumenstroms für den Hauptkreislauf. Behandelt wurden dabei Quellwasser mit einem Keimgehalt von $\sim 1 - 8 \cdot 10^3$ Keime ml^{-1} . Als chemisches Desinfektionsmittel wurden dabei Ozon sowie Wasserstoffperoxid untersucht.

Bei 75 Liter Volumen und einer Behandlungszeit von 15 Minuten wurden bei einem Eingangsdruck der Blende von 5,17 bar in Kombination mit $5 \text{ mg L}^{-1} \text{ H}_2\text{O}_2$ 75 % an Inaktivierung der Gesamtkeimzahl erreicht. Demgegenüber wurden durch H_2O_2 alleine nur 13 % und mit Kavitation alleine nur 68 % an Inaktivierung erreicht. In einer Versuchsanlage mit 10 L Volumen erreichte die Kombination mit 2 mg L^{-1} Ozon eine Reduktion der Gesamtkeimzahl von 80 % gegenüber 60 % mit nur Ozon. Bei den fäkalen coliformen Keimen fiel die Steigerung der Inaktivierung zumeist höher aus (Jyoti and Pandit, 2003b). Die Geschwindigkeitskonstanten der Inaktivierung lagen mit $0,055 - 0,065 \text{ min}^{-1}$ bis zu einer Größenordnung unter der Kombination von Ultraschall und Ozon oder Wasserstoffperoxid. Auf das Reaktorvolumen und den Energieeintrag bezogen war die hydrodynamische Kavitation für 99 % Inaktivierung bezüglich der Energiekosten jedoch etwas effektiver. Auch die Anwendung des kavitierenden Ventils bei 5,17 bar erreichte in Kombination mit 2 mg L^{-1} Ozon eine

meist höhere Effizienz als die Kombination mit Ultraschall-Bad oder -Sonotrode. Die Kosten beliefen sich dabei auf 0,003 – 0,008 US\$ pro Liter (Jyoti and Pandit, 2004b). Auch wenn die Kosten der reinen Anwendung von Ozon um mehrere Größenordnungen geringer sind als die der von ihnen verwendeten Kombination, betiteln Jyoti und Pandit (2004a) diese Kombination dennoch als deutlich besser als die alleinige Anwendung von Desinfektionsmitteln. Sie begründen dies mit der höheren Keimzahlreduktion, der Möglichkeit zur Verringerung der chemischen Desinfektionsmittel und damit der Belastung mit unerwünschten chemischen Nebenprodukten.

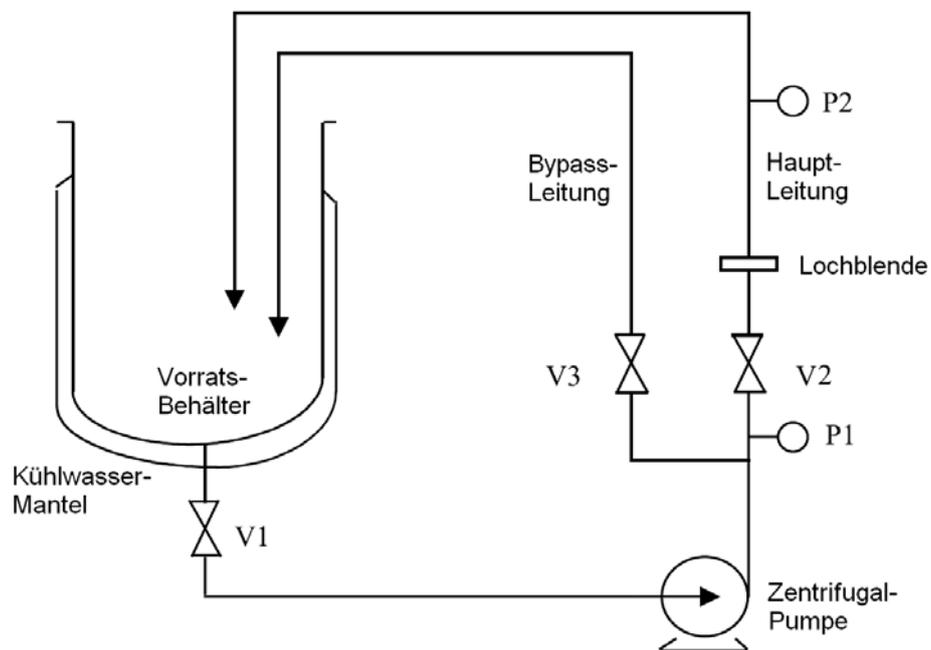


Abbildung 3.16: Kavitationskreislauf (nach Jyoti und Pandit, 2004a).

4. Material und Methoden

4.1. Aufbau zur Untersuchung von hydrodynamischer Kavitation

In den folgenden Kapiteln werden die Versuchsanlage und die wichtigsten Bauteile mit ihren Kenngrößen vorgestellt. Sie wurde zu Beginn dieser Arbeit nach Kriterien wie einem großen Leistungsspektrum (Druck, Volumenstrom), Flexibilität, Reinigbarkeit und Erweiterbarkeit konzipiert und aufgebaut. Der Entwicklungsprozess dieser Anlage wird hier nicht näher aufgeführt, sondern nur die Endversion der Anlage vorgestellt. Detaillierte Beschreibungen und eine genaue Bedienungsanleitung sind im Anhang unter 10.3 zu finden.

4.1.1. Grundaufbau und Schemazeichnung

In Abbildung 4.1 ist ein einfacher schematischer Grundaufbau der Anlage als Fließschema dargestellt. Das Prinzip ist ein Kreislauf in der Art eines Rohrreaktors, der mittels zweier Drei-Wege-Ventile (Typ Koltek DN25, Mogema) mit einem Vorlauftank, der auch gleichzeitig als Nachlauftank nutzbar ist, koppelbar ist. Der Arbeitskreislauf ist während der eigentlichen Versuchsdurchführung dabei immer vom Vorlauftank abgekoppelt. Der Vorlauftank wird nur zur Mischung von Keimen und Pufferlösungen sowie zum Bevorraten benutzt (eine Möglichkeit zur definierten Begasung über einen Sintermetallmantel ist jedoch vorbereitet). Die Befüllung, mit Medium oder VE-Wasser (steril gefiltert), erfolgt über separate Kupplungen und Einfüllstutzen im Deckel. Die Rohrverbindungen sind aus hydraulisch glattem V4A mit Durchmesser von 20 – 25 mm. Die Anschlüsse (Sensoren, Probenahme) und Rohrverschraubungen sind, wenn nicht anders erwähnt, vom Typ Whitworth (3/8“ – 1/2“) und DIN 11851 DN 25 oder auch Klemmflanschverschluss DN 20 nach DIN 32676. Die Abbildung 4.2 zeigt die Versuchsanlage (ohne Kühlaggregate und Computer)

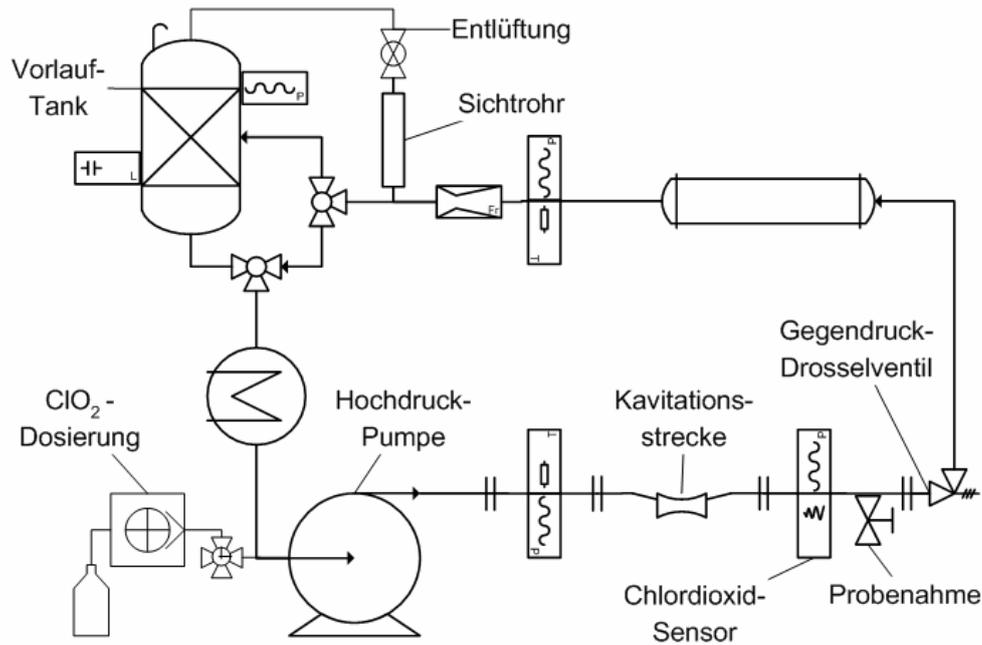


Abbildung 4.1: Vereinfachtes Anlagenschema zur Durchführung von Untersuchungen zur Wirkung von hydrodynamischer Kavitation und deren Kombination mit Chlordioxid auf Zellen.

Die Füllstandskontrolle erfolgt mit einem kapazitiven Füllstandsensor (MulticapT, Endress & Hauser). Es kann die Befüllung der gesamten Anlage inklusive Arbeitskreislaufs, oder nur des Vorlauftanks, mit einer Genauigkeit von +/- 0,1 L kontrolliert werden. Ein Federsicherheitsventil in der Abluftstrecke schützt vor zu hohem Überdruck beim Befüllen und lässt eine ständige atmosphärische Belüftung zu. Zur Kontrolle dient ein Druckmesssensor (Typ S11, 1/2", Wika GmbH).

Der Arbeitskreislauf ist mit zwei Wärmetauschern ausgestattet um die gewünschte Temperatur einzustellen und konstant zu halten. Einer der beiden Wärmetauscher kann dabei wahlweise mit einer Heizung (Thermoblock Typ 13, Haake) oder Kühlung (4 – 15 °C Vorlauftemperatur; direkter Umlaufkühler PC01, Alpha Laval) betrieben werden. Der zweite Kühler (Ultrakryomat WD 60, Lauda) arbeitet für die Versuche bei tiefen Temperaturen stets bei -20 °C und wird bei Bedarf zugeschaltet. Der einstellbare Temperaturbereich des Arbeitskreislaufes liegt somit bei 10 – 70 °C. Die Temperaturkontrolle erfolgt mittels Pt 100 (G1/2" AG mit kurzem Messfühler, Profimess GmbH).



Abbildung 4.2: Fotografie der Versuchsanlage zur Untersuchung der Kombination von hydrodynamischer Kavitation und Chlordioxid zur Desinfektion.

Die Entlüftung am höchsten Punkt der Anlage ist zur optischen Kontrolle als Sichtrohr gestaltet und ermöglicht einen Druck- (in der Regel atmosphärische Verbindung über Vorlauftank) und Volumenausgleich um ein versuchstechnisch bedingtes Volumen als Probenvolumen (bis zu 75 ml) zu bevorraten. Die Entleerung erfolgt an den tiefsten Punkten der Anlage über zwei entsprechende Ventile vor und nach dem Pumpensumpf.

Die Kavitationsgeometrien und die zusätzlichen Stützen für Messfühler sind an einer Schiene verschiebbar oder auch auswechselbar montiert und mittels Klemm-

flanschverschluss (DIN 32676) miteinander verbunden. Somit ist eine Flexibilität zur Nutzung der verschiedenen Kavitationseinbauten und der Auswechslung und Erweiterbarkeit der Sensoren garantiert. Der Pumpendruck und zugleich Druck vor der Kavitationsstrecke wird über einen Membrandrucksensor aufgenommen (Typ 60 bar, KMK Sensortechnik). Nach der Kavitationsstrecke und dem Probenahmeventil (Absperrhahn mit Schlauchtülle, Nocado GmbH) verfügt die Anlage über ein Feder-Kugel-Drosselventil (1 – 4 bar Aseptiküberströmventil, Nocado GmbH), um sehr genau definierte Gegendrücke einstellen zu können (0 – max. 4 bar). Dieser Gegendruck wird ebenfalls durch einen Membrandrucksensor (Typ 10 bar, KMK Sensortechnik) gemessen. Eine flexible Schlauchverbindung kompensiert verschieden lange Einbauten an der Kavitationsstrecke und verbindet diese mit dem Kühler.

Die Umwälzung erfolgt mittels der Hauptpumpe, einer 23-stufigen Kreiselpumpe (CRNE HS1-23, Grundfos GmbH) mit einer Nennleistung von 7,5 kW. Sie kann über einen internen Frequenzumrichter in der Drehzahl von $360 - 5600 \text{ U min}^{-1}$ (in Schritten von 1 % der Maximaldrehzahl) reguliert werden. Der Volumenstrom wird dabei durch einen Vortexdurchflusssensor (VFS 100, Grundfos GmbH) erfasst.

Die Dosierung von Chlordioxid erfolgt durch eine drehzahlregulierbare Schlauchpumpe (Minipuls Abimed, Gilson) mit einem Pumpschlauch (Maprene, Watson Marlow). Als Vorlagebehälter für Chlordioxid dienen 15 ml Schraubreaktionsgefäße (Falcon-Röhrchen, Gilson), die zuvor auf Eis gekühlt werden können. Über eine Teflonsaugleitung und Druckleitung erfolgt die Dosierung in ein Umschaltventil (HV 4-2, Duratec GmbH) am Pumpendom (entspricht der Saugseite des ersten Laufrades der Hauptpumpe, das Entlüftungsventil wurde dabei durch das Umschaltventil ersetzt). Das Umschaltventil dient zum Wechsel der Betriebsarten Entlüftung der Pumpe, Entlüftung des Dosierschlauches und Injektion des Chlordioxids. Die Online-Messung von Chlordioxid erfolgte mit einem amperometrischen Messsystem (KW100 ClO₂, Dr. Kuntze GmbH). Die Temperaturkompensation des Messwertes muss dabei jeweils von Hand an der Elektronik eingestellt werden (interner Korrekturfaktor).

Die Datenerfassung und Aufzeichnung (außer der Drehzahlkontrolle der Hauptpumpe und der Dosierpumpe) erfolgte mittels Digitalanalogwandler (USB 6008, National Instruments) und Datenerfassungssoftware LabVIEW 8.2 (National

Instruments). Signale und Versorgungsspannungen der Sensoren wurden nach Bedarf angepasst.

Mittels eines externen Spülkreislaufes kann die gesamte Anlage inklusive Zu- und Abläufe mit Natronlauge gereinigt und desinfiziert werden. Für den Bedarfsfall sind alle Anlagenbauteile bis 120 °C druck- und hitzestabil, um bei Bedarf eine Dampfsterilisation zu ermöglichen.

4.1.2. Daten und wichtige technische Details

Die Hauptpumpe stellt das Herzstück der Anlage dar, da sie den nötigen Energieeintrag in Form von Druck für die nachfolgende Kavitationsstrecke aufbringt. Ein großer Nachteil dieses Pumpentyps ist das große Totvolumen von ~ 6 Liter im Pumpenkörper und seine schlechte Reinigungsmöglichkeit. Zwar sind alle medienberührenden Bauteile aus Edelstahl gefertigt, aber baulich bedingt bleiben sehr viele Winkel und Spalten an Laufrädern und Lagern jeder einzelnen Stufe, die nicht gut zu reinigen sind. Des Weiteren gestaltete sich die Entlüftung der Pumpe als schwierig, da dieser Pumpentyp umgekehrt arbeitet (oberstes Laufrad ist die Saugseite) und sich das Luftpolster im Pumpendom nur im Betrieb abbauen lässt. Vorteile sind dagegen eine stabile Kennlinie mit einer Druckerhöhung bis zu 47 bar bei einem Volumenstrom von 0,27 L s⁻¹ und noch bis zu 30 bar bei 1,1 L s⁻¹. Je nach Kennlinie der eingesetzten Kavitationsapparatur wurden jedoch nur Volumenströme von 0,1 – 0,7 L s⁻¹ und Drücke von 0,1 – 15 bar realisiert.

Der Durchflusssensor muss laut Herstellerangaben nicht kalibriert werden, da er nach dem Vortex-Messprinzip ein stabiles Signal ausgibt. Um dennoch seine Messgenauigkeit beurteilen zu können, wurde der Messwert laut Sensor mit dem theoretischen Volumenstrom verglichen, der sich aus der Messung der Umlaufzeit des Arbeitsvolumens (8,7 L) ergibt. Das Sichtrohr wurde dabei nicht befüllt und sich ergebende Toträume von wenigen ml an Sensoren und Ventilen können vernachlässigt werden. Dabei wurden bei konstanter Pumprate die Zeitabstände von je 3 bis 4 aufeinanderfolgenden Maxima (Passagen) eines applizierten Dirac-Impulses gemittelt und in den entsprechenden theoretischen Volumenstrom umgerechnet. Die Auftragung von gemessenem zu theoretischem Volumenstrom ist in Abbildung 4.3 dargestellt.

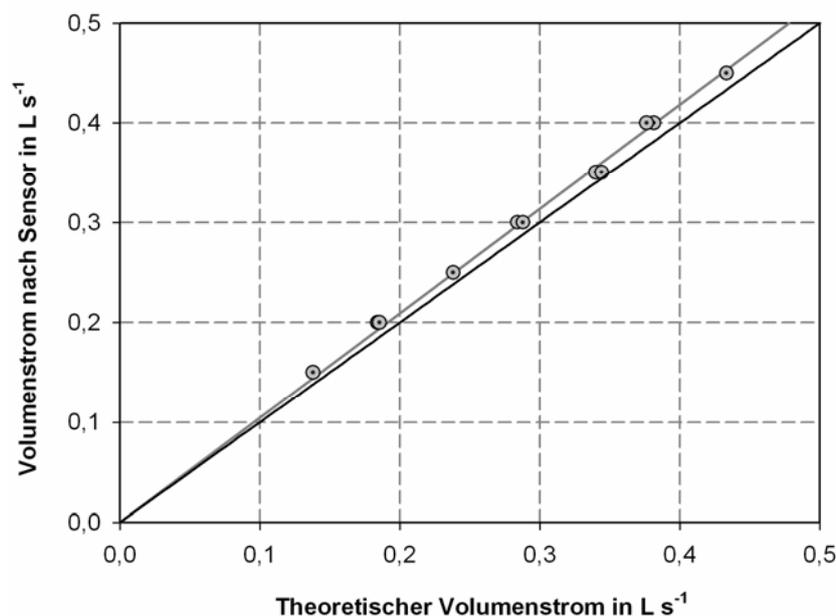


Abbildung 4.3: Vergleich des theoretischen Volumenstroms mit dem Messwert des Durchflusssensors.

Die Steigung der Gerade ist um 4,6 % höher als 1, was auf eine Überbestimmung des Volumenstroms des Durchflusssensors hindeutet. Dieser Unterschied wurde als „systematische“ Abweichung entsprechend in der Signalauswertung von LabVIEW berücksichtigt und korrigiert. Die statistische Streuung der Messwerte ist bei einem Korrelationsfaktor von 0,997 zu vernachlässigen.

Die Dosierpumpe für Chlordioxid fördert mittels mehrerer Walzen mit nur einer geringen Pulsation im Drehzahlbereich von 0 – 47,5 U min⁻¹. Bei dem eingesetzten Pumpschlauch (Außendurchmesser 6,4 mm, Innendurchmesser 3,2 mm, Maprene, Watson Marlow) ergibt sich die nach Abb. 4.4 gemessene Korrelation zwischen Pumprate und Drehzahl (Korrelationsfaktor 0,996). Für die Dosierung wird die Förderrate der Dosierpumpe und das Volumen der Chlordioxidvorlage genau im Verhältnis 1:1000 angepasst. Die Förderrate entspricht dabei dem Hauptvolumenstrom in ml s⁻¹ und die Chlordioxidvorlage dem Gesamtvolumen des Arbeitskreislaufs in ml. Die Konzentration an Chlordioxid wird dabei 1000-fach stärker als die gewünschte Behandlungskonzentration eingestellt. Bei Volumenströmen über 0,4 L s⁻¹ im Arbeitskreislauf wird die doppelte Konzentration bei halbem Vorlagevolumen und entsprechend dem Hauptvolumenstrom halben Dosierrate angesetzt.

Das potentiostatische Messprinzip des Chlordioxidensors verursachte zum einen eine Totzeit der Signalausgabe um bis zu 30 Sekunden (Erreichen von 95 % des Endwertes) und ist zum anderen vom Volumenstrom abhängig (vermutlich je nach Anströmungsrichtung und -Geschwindigkeit des Diaphragmas in der Sensorspitze; laut der Firma Dr. Kuntze GmbH auch individuell von Sensor zu Sensor verschieden). Diese Charakteristik wurde durch eine strömungskorrigierte Kalibrierung ausgeglichen. Die Kalibrierung erfolgte stets bei $0,13 \text{ L s}^{-1}$ Anströmung mit $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ Chlordioxid (Ausgangssignal 4,0 Volt). Die Abweichung für höhere Volumenströme wurde im Rohsignal in Volt gemessen und als Wert über dem Volumenstrom aufgetragen (vergleiche hierzu Abb. 4.5). Mit dieser Korrelation konnte eine Korrektur des Einflusses des Volumenstroms auf die Chlordioxidmessung berücksichtigt und gleich in der Datenaufzeichnung mit einkalkuliert werden.

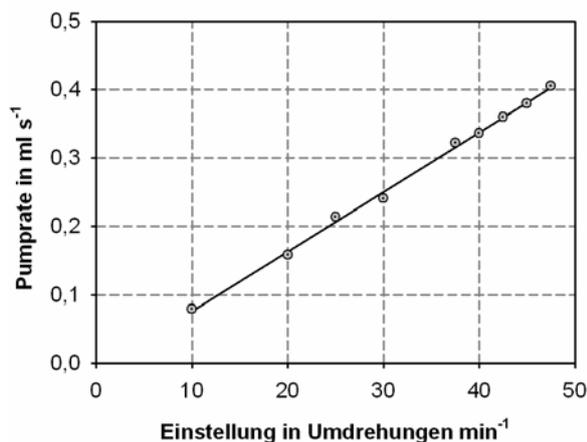


Abbildung 4.4: Kennlinie der Chlordioxidosierpumpe.

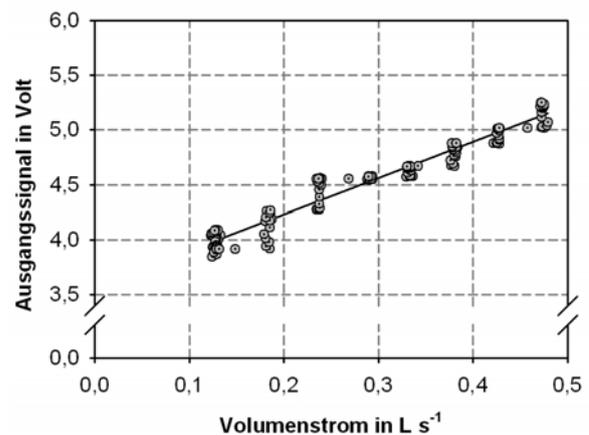


Abbildung 4.5: Volumenstromabhängigkeit des Chlordioxidensors.

Die Sensoren für Druck, Temperatur und Füllstand wurden in regelmäßigen Abständen kalibriert. Die Messgenauigkeit lag dabei durch Kalibrierungsfehler und der Auflösungsgrenze der USB-Messkarte im Regelfall bei weniger als 1 % des maximalen Messwerts.

Die grundlegenden verfahrenstechnischen Parameter der Versuchsanlage und ihrer typischen Werte während des Betriebs sowie deren Messgenauigkeit sind in Tabelle 4.1 noch einmal aufgelistet.

Tabelle 4.1: Auflistung der verfahrenstechnischen Parameter und Kenngrößen der Versuchsanlage.

Parameter	Wertebereich	Einheit	Genauigkeit
Arbeitsvolumen	8,4 – 8,7	L	0,02
Volumenstrom	0,1 – 0,7	L s ⁻¹	0,01
Leerrohrgeschwindigkeit	0,13 – 1,5	m s ⁻¹	-
Pumpendruck (absolut)	1,1 - 15	bar	0,1
Gegendruck (absolut)	1,0 – 3,0	bar	0,03
Temperatur	10 – 65	°C	0,2
Länge Kavitationsstrecke	0,05 – 0,4	m	-
Hydraulische Leistung (Pumpe)	100 – 2600	W	-
Dauer einer Passage (Kreislauf)	12 - 65	s	-
Dosierrate (Chlordioxid)	20 – 47,5	U min ⁻¹	0,1
Onlinemessung Chlordioxid	0,0 – 4,0	mg L ⁻¹	0,03

4.1.3. Strömungstechnische Charakterisierung

Wird die Antwort einer Sprungfunktion einer in den Pumpendrom dosierten 1 M KCl-Lösung (74,5 g L⁻¹ Kaliumchlorid, Merck GmbH) mittels des Leitfähigkeitssensors an der Probenahmestelle gemessen, so ergeben sich vom Volumenstrom abhängige verzögerte Antworten mit einem sigmoidalen Anstieg der Leitfähigkeit. Es wurden dabei die nach der Kennlinie der Dosierpumpe berechneten Dosierraten verwendet. Normiert man die Sprungantworten für verschieden Volumenströme auf die theoretische Verweilzeit (τ) und die maximal gemessene Spannung, so ergeben sich Sprungantworten nach Abbildung 4.6. Der sigmoidale Anstieg ist mit dem Durchmischungsverhalten der Pumpe zu erklären, welches nachfolgend noch genauer charakterisiert wird. Die volumenstromabhängige Verzögerung bis zum Erreichen einer stabilen Konzentration an der Probenahmestelle wird vor allem bei der in Kapitel 4.2.3 erklärten externen Inkubation berücksichtigt. Es wird dabei eine Startzeit für die Probenahme definiert die entsprechend dem Volumenstrom und der hier vorliegenden sigmoidalen Antwort auf die Sprungfunktion angepasst ist. Die Probenahme geschieht dabei bei einem Wert von t/τ von 1,6 (in Abbildung 4.6 durch

einen Pfeil markiert), da hier für alle Volumenströme mindestens 97 % der Endkonzentration erreicht wurde.

Um die komplexe Strömung innerhalb der Pumpe und die damit einhergehende starke axiale Durchmischung zu beurteilen wurden volumenstromabhängig einzelne Dirac-Impulse binnen weniger als 1 Sekunde dosiert und deren Antwort an der Probenahmestelle aufgezeichnet. Es zeigt sich eine leicht unsymmetrische Verteilungskurve mit einer volumenstromabhängigen Verbreiterung der Basis als Antwortfunktion. Die auf die theoretische Verweilzeit und die Maximalspannung normierten Antwortfunktionen sind in Abbildung 4.7 dargestellt. Die Lage und Breite der Verteilungen stellen sich so normiert fast identisch dar, und indizieren damit eine vom Volumenstrom unabhängige Verweilzeitcharakteristik. Der Vergleich von Inaktivierungsmesswerten für verschiedene Volumenströme ist somit valide.

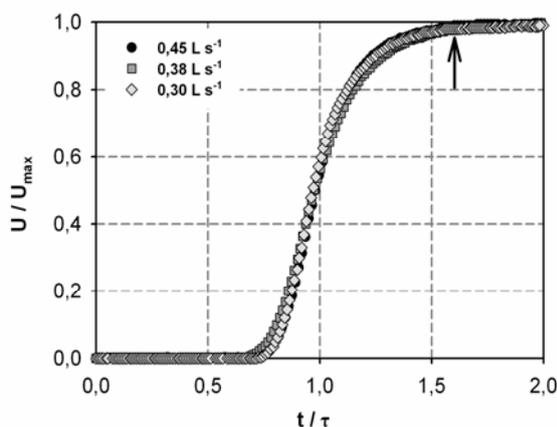


Abbildung 4.6: Vergleich von normalisierten Antworten auf eine Sprungfunktion für verschiedene Volumenströme (Der Pfeil markiert dabei den Zeitpunkt der Probenahme für die externe Inkubation).

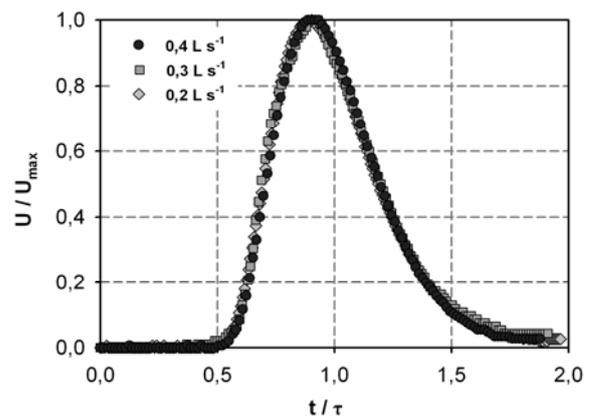


Abbildung 4.7: Vergleich von normalisierten Antworten auf einen Dirac-Impuls für verschiedene Volumenströme.

Weiter lässt sich aus den Verweilzeitspektren über das erste und zweite Moment der Verteilung die Anzahl der Kessel des Äquivalenzmodells einer Rührkessel-Kaskade berechnen (Daten und Formeln nicht gezeigt). Für die drei gemessenen Volumenströme ergibt sich eine Anzahl von 19 ± 1 Kessel (eine Standardabweichung der drei Messwerte) und spricht somit für die Güte des Äquivalenzmodells. Werden nun mehrere Passagen im Kreislauf durchgeführt so ergibt sich eine Verbreiterung des Verweilzeitspektrums. Sieht man das Verweilzeitspektrum einer Passage als

Versuchsreihe an mit der theoretischen Verweilzeit als Mittelwert und den Messwerten als Streuung, so lässt sich eine normierte (Bezug t/τ) Standardabweichung von 0,23 berechnen. Für das 95 % Perzentil ($\pm 1,96$ Standardabweichung) ergibt sich somit ein Wert von 0,45. Sieht man z Passagen als z Wiederholung des Versuchs mit einer Passage an so ergibt sich der Standardfehler der z Passagen wenn die Standardabweichung mit $1/\sqrt{z}$ multipliziert wird. Entsprechend haben 95 % des behandelten Volumens nach beispielsweise 100 Passagen einen Standardfehler von $< 4,5$ Passagen. Eine Betrachtung über der Anzahl an Passagen wie es im Kapitel 6.2 oder Kapitel 6.3.2 noch erfolgt ist somit auch repräsentativ.

4.2. Versuchsdurchführung

Die nachfolgenden Kapitel zur Beschreibung der Versuchsdurchführung betreffen nur die Methoden rund um den direkten Gebrauch der oben beschriebenen Versuchsanlage.

4.2.1. Allgemeine Vorbereitungen

Vor jedem Versuchslauf wurden zuerst die technischen Vorbereitungen der Versuchsanlage getroffen. Dazu gehörte der Einbau der entsprechenden Kavitationsapparaturen und der benötigten zusätzlichen Messsonden (Chlordioxid, Leitfähigkeit), die Inbetriebnahme und der Test der Messsysteme des Computers mit der LabVIEW Programmoberfläche, die Vorbereitung und der Anschluss von VE-Wasser, Kühlung und Druckluft und entsprechende Ventilstellungen zu kontrollieren. Danach wurde die Anlage mit VE-Wasser befüllt und alle Rohrleitungen und Anschlüsse auf Leckagen geprüft. Die Befüllung erfolgte mit 9,5 oder 19 L je nach gewünschter Anzahl von zwei oder nur einem Versuch in Folge. Als nächstes erfolgte die Entlüftung der Versuchsanlage und Pumpe, und nachfolgend die Zugabe der entsprechenden Pufferkonzentrate (meist 20-fach konzentrierter Phosphatpuffer bei pH 6,3 oder 7,0) über den Zusatzstutzen im Deckel des Vorlaufbehälters. Es erfolgte anschließend die Zugabe der gewünschten Keimmenge (siehe Kapitel 4.4.1). Sowohl das Pufferkonzentrat als auch die Keime wurden im offenem Arbeitskreis (Ankopplung des Vorlaufbehälters) und offenem Umlaufventil der Pumpe für mindestens 10 Minuten bei geringen Pumpleistungen (nicht kavitierend)

durchmischt. Alternativ wurde nur die Pufferlösung durchmischt und dann der Arbeitskreislauf abgetrennt (mit vorheriger Justierung des Probevolumens im Sichtrohr) und auf die entsprechende Temperatur vorgeheizt oder gekühlt und anschließend erst die Keime durch Zugabe über das Sichtrohr mit anschließend mehrfachem Ablassen an der Probenahme und wieder Befüllen im Sichtrohr eingemischt. So konnten auch noch einmal vor der Zugabe der Keime die entsprechenden Betriebsparameter zur Erzeugung von Kavitation (Druck, Volumenstrom) kontrolliert und an die Temperatur angepasst werden. Der gewünschte Volumenstrom wurde nach Kapitel 3.3.4 anhand der gewünschten Kavitationszahl und den geometrischen Daten der Kavitationsgeometrien (siehe Kapitel 5.3) bestimmt. Alternativ konnte mit entsprechenden Eingaben auch durch das Messprogramm die Kavitationszahl kontrolliert werden. Die Pumpleistung musste dabei aber immer manuell über die separate Pumpensteuerung eingestellt werden. Entsprechende Kombinationen an Kavitationsapparaturen und eingestellten Pumpleistungen waren bei jeder Wiederholung desselben Versuches identisch. Es konnten somit sukzessive Erfahrungswerte für die unterschiedlichen gewünschten Betriebszustände tabelliert werden. Alle Schritte zur Vorbereitung der Versuchsanlage sind noch einmal ausführlich und mit den zu beachtenden Details im Anhang unter dem Kapitel 11.3 beschrieben.

Die weitere Vorbereitung gestaltete sich je nach gewünschter Untersuchung wie in die beiden Kapiteln „Versuche zur reinen Kavitationsbehandlung“ und „Versuche zur Kombination von Kavitation und Chlordioxid“ beschrieben.

4.2.2. Durchführung reiner Kavitationsversuche

Die Vorbereitungen erfolgten wie in Kapitel 4.4.1 beschrieben. Wenn die gewünschte Temperatur von 20 oder 37 °C erreicht wurde und sowohl Puffer als auch Keime homogen gemischt waren, wurde als nächstes die Blindprobe (je nach Verwendungszweck 1 – 20 ml) genommen. Generell wurde vor jeder Probenahme ein Totvolumen des Probenahmeventils von mindestens 3 ml verworfen. Die Proben wurden in entsprechenden Reaktionsgefäßen von 1,5, 15 oder 50 ml (Eppendorf Reaktionsgefäße, Falcon-Röhrchen) bis zur weiteren Verwendung, wenn nicht anders erwähnt, auf Eis gelagert. Zum Versuchsstart wurde gleichzeitig die Pumpleistung auf den gewünschten Wert gesteigert und die Aufzeichnung im Messprogramm gestartet. Es erfolgte eine sofortige Kontrolle des Volumenstroms auf

seinen gewünschten Wert und die Pumpleistung wurde bei Abweichung noch nachjustiert. Die Proben wurden meist in Abhängigkeit von der Anzahl an Passagen gezogen. Es wurde dabei die theoretische hydraulische Verweilzeit einer Passage zur Berechnung der Anzahl der Passagen herangezogen. Die reale Anzahl an Passagen, die ein Fluidelement durchlief, variierte auf Grund des Verweilzeitverhaltens der Versuchsanlage. Aus Kapitel 4.1.3 kann jedoch abgeleitet werden, dass 95 % der Keime mit einem Standardfehler von 0,45 pro Passage die entsprechende Anzahl an Passagen nach theoretischer Verweilzeit erfahren (bei 100 Passagen beispielsweise $\pm 4,5$ Passagen). Eine Betrachtung der Anzahl an Passagen ist somit auch aussagekräftig.

Die Probenahme der ersten Passage erfolgte dabei in dem Zeitfenster zwischen Latenzzeit und einer Umlaufzeit nach Abbildung 4.8. Jede weitere Probenahme erfolgte in dem entsprechenden Zeitfenster der $(n - 1)$ Passage. Dabei wurde die Anzahl der Passagen n automatisch im Messprogramm durch Berechnung aus Gesamtversuchszeit und Umlaufzeit mitgezählt. Für die korrekte Berechnung wurde das genaue Gesamtvolumen des Arbeitskreislaufs zu Beginn des Versuchs korrigiert. Es wurden dabei die Volumina der jeweiligen Kavitationsapparaturen und Rohren für die Sensoren und der Einstellung der Füllstandshöhe im Sichtrohr mit berücksichtigt. Das sich verändernde Volumen des Sichtrohrs konnte dann während dem Versuch sukzessive dem aktuellen Füllstand angepasst werden um auch den Volumenverlust durch die Probenahme für die korrekte Umlaufzeit zu berücksichtigen. Die Temperaturkontrolle war gerade bei den reinen Kavitationsversuchen in kontinuierlicher Behandlung wichtig, da hier der pumpenseitige Energieeintrag konstant hoch war. Die Temperaturführung erfolgte per Hand durch Zu- und Abschalten des Kühl- beziehungsweise Heizkreislaufs. Auf Grund der hohen Wärmekapazität des gesamten Systems konnte aber auch hier die Temperatur innerhalb von ± 1 °C genau geführt werden. Nach dem Versuch wurde die Pumpe auf den Minimalwert gedrosselt und der Versuchskreislauf entleert, wie es in Kapitel 4.2.4 beschrieben wird.

4.2.3. In Kombination mit Chlordioxid

Bei den Versuchen zur kombinierten Anwendung von Kavitation und Chlordioxid wurde die gewünschte Menge an gekühlter ClO_2 -Stammlösung und VE-Wasser in ein 15 ml Reaktionsgefäß gefüllt und bis zur Verwendung auf Eis gelagert. Dabei

wurde unter Berücksichtigung der genauen Konzentration der Stammlösung (in der Regel $3,0 \text{ g L}^{-1}$) eine 1000-fach stärkere Konzentration eingestellt als die im Arbeitskreislauf gewünschte Konzentration. Das gesamte Volumen dieser Mischung wurde dabei auf 1/1000 des Volumens des Arbeitskreislaufes (in der Regel 8,5 L) mittels VE-Wasser aufgefüllt (vergleiche auch Kapitel 4.1.2). Weiter wurden entsprechend der Anzahl an gewünschten Proben Reaktionsgefäße mit 0,25 ml Reaktionslösung zur ClO_2 -Bestimmung (DPD-Lösung siehe Kapitel 4.4.2; für ein Probenvolumen von 5 ml) für die Konzentrationsbestimmung oder mit 0,05 ml einer $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ Lösung an Natriumthiosulfat für die Proben der Keimzahlbestimmung (für Probenvolumen von 1 – 2 ml) vorbereitet. Die Chlordioxidvorlage wurde dann an die Dosierpumpe angeschlossen und der Pumpschlauch und die Zuleitung bis zum Dosierventil entlüftet. Der Versuch startete zunächst durch die Steigerung der Pumpenleistung und nach Erreichen des Nennvolumenstroms ($\sim 1 - 2$ Sekunden später) durch die Aktivierung der Messwertaufzeichnung und dem Start der Dosierung des Chlordioxids.

Prinzipiell wurden die Versuche dann auf zwei verschiedenen Betriebsarten durchgeführt. Die Betriebsart für die kontinuierliche Behandlung der Mischung mit hydrodynamischer Kavitation (Durchlaufen von mehreren Passagen), nachfolgend als „interne Inkubation“ bezeichnet, entspricht in der Verweilzeitcharakteristik einer Rührkesselkaskade. Der Vergleich von Daten innerhalb der Methode ist dabei auch bei verschiedenen Volumenströme valide (vergleiche hierzu Kapitel 4.1.3). Diese Betriebsart wurde teilweise auch für die Untersuchung des Einflusses von tiefer und hoher Temperatur verwendet, da bei der externen Inkubation keine absolut konstante Temperierung möglich war.

Bei der externen Inkubation wird während des ersten Umlaufs in der Versuchsanlage sofort nach der Passage der Kavitationsapparatur eine Probe von 40 ml innerhalb von maximal 8 Sekunden in ein geschlossenes, gerührtes Inkubationsgefäß abgezweigt. Die Wahl des Probezeitpunkts der Probenahme erfolgt dabei abhängig vom Volumenstrom zum Zeitpunkt des Erreichens einer homogenen Mischung von *E. coli* und Chlordioxid an der Probenahmestelle (vergleiche „Probenahmezeit für externe Inkubation“ in Abbildung 4.9). Aus diesem Reaktionsgefäß wurden anschließend zu gewünschten Zeitpunkten wiederum Proben für die Keimzahlbestimmung und Chlordioxidbestimmung mittels der DPD-Methode (siehe Kapitel 4.4.2) genommen. Dabei wurden je Probenzeitpunkt 5 ml für die

Chlordioxidbestimmung in die entsprechende DPD- Vorlage gemischt und 1 ml für die Keimzahlbestimmung in die Natriumthiosulfat-Vorlage. Für die Betrachtung der Inaktivierungszeit ist die reale Kontaktzeit zu berechnen. Diese addiert sich aus der volumenstromabhängigen theoretischen hydraulischen Verweilzeit der Keime von der Chlordioxid-Injektionsstelle bis zum Erreichen der Probenahmestelle (nachfolgend auch als „Latenzzeit“ bezeichnet) und der weiteren Verweilzeit im externen Inkubationsgefäß. Die Latenzzeiten (t_L , vergleiche auch Abbildung 4.8) wurden dabei aus den Messreihen der Dirac-Impulse (vgl. Kapitel 4.1.3) bestimmt und sind normiert in Abbildung 4.7 dargestellt. Auf Grund der Dauer von maximal 8 Sekunden für die externe Probenahme ergibt sich auch hier eine zeitliche Varianz der Kontaktzeit von Chlordioxid und *E. coli*. Diese beschränkt sich für die erste Probe (früheste Probenahmezeit von 30 Sekunden aus dem externen Inkubationsgefäß) auf maximal 13 %. Danach liegt in dem externen Inkubationsgefäß die ideale Durchmischung eines Rührkessels vor und die Varianz von maximal ± 4 Sekunden nimmt für jede weitere Bestimmung an Einfluss auf die reale Kontaktzeit ab. Bei einer Probenahme bei 3 Minuten beläuft sich die Varianz nur noch auf 2 % und liegt damit sogar innerhalb der Fehlertoleranz der Probenahmezeit.

Die interne Inkubation lässt sich in die zwei Betriebsarten iterative Kavitationsbehandlung und interne Inkubation ohne weitere Kavitation aufteilen. Bei der iterativen Kavitationsbehandlung wird der Prozess wie folgt gestaltet: nach dem Erreichen des stabilen Drucks und Volumenstroms wird die Zeitaufzeichnung und die Chlordioxiddosierung in den Pumpenkopf gestartet. Diese endete automatisch nach einer Passage durch das Leerlaufen des ClO_2 -Vorlagengefäßes. Dies entspräche theoretisch dem Eintreffen der ersten Chlordioxidfront nach einem Umlauf im Arbeitskreislauf bei einem idealen Rohrströmungs-Reaktor. Da aber kein idealer Rohrströmungs-Reaktor vorliegt, musste die Dosierrate an diesem Punkt iterativ an eine möglichst überlagerungsarme Dosierung (keine Über- oder Unterdosierung) optimiert werden, da die starke axiale Durchmischung immer zu einem Gebiet von zu geringer Konzentration im Übergang der 1. zur 2. Passage verursacht hätte. Es wurde dabei zu den Volumenströmen von $0,15 - 0,45 \text{ L s}^{-1}$ in Schritten von $0,5 \text{ L s}^{-1}$ die passende Dosierrate ermittelt, die am wenigsten vom Mittelwert der Leitfähigkeit abwich. Die Dosierrate reduzierte sich dabei allgemein um 17 % gegenüber der nominalen Förderrate. Durch diese Anpassung lag für die folgenden Passagen eine möglichst homogene Verteilung an Chlordioxid vor. Da die gewünschte Chlordioxid-

Menge an dem gesamten Volumen des Versuchskreislaufes berechnet wurde, ist die mittlere Konzentration im Kreislauf somit entsprechend dieser Vorgabe sicher festgelegt.

Die folgenden Proben werden direkt an der Probenahmestelle bei den gewünschten Versuchszeiten genommen (erst 5 ml für die Chlordioxidbestimmung und dann 1 ml für die Keimzahlbestimmung). Da sich die Dosierstelle von Chlordioxid aber stromaufwärts weit vor der Probenahmestelle befindet, weicht auch die reale Kontaktzeit von *E. coli* und Chlordioxid von der Versuchszeit um den Faktor der Latenzzeit ab. Die reale Kontaktzeit berechnet sich daher wie folgt:

$$t_K = z \cdot t_U + t_L \quad \text{Gleichung 14}$$

mit t_K als Kontaktzeit, z der ganzzahlig durchlaufenen Anzahl an Passagen der Kavitationsapparatur, t_U der theoretischen Umlaufzeit einer Passage und t_L als Latenzzeit (theoretische Verweilzeit zwischen Chlordioxidinjektion und Probenahme). Die entsprechende Abhängigkeit der Umlauf- und Latenzzeit vom Volumenstrom sind demonstrativ für ein mittleres Gesamtvolumen des Arbeitskreislaufs von 8,5 L in Abbildung 4.8 dargestellt.

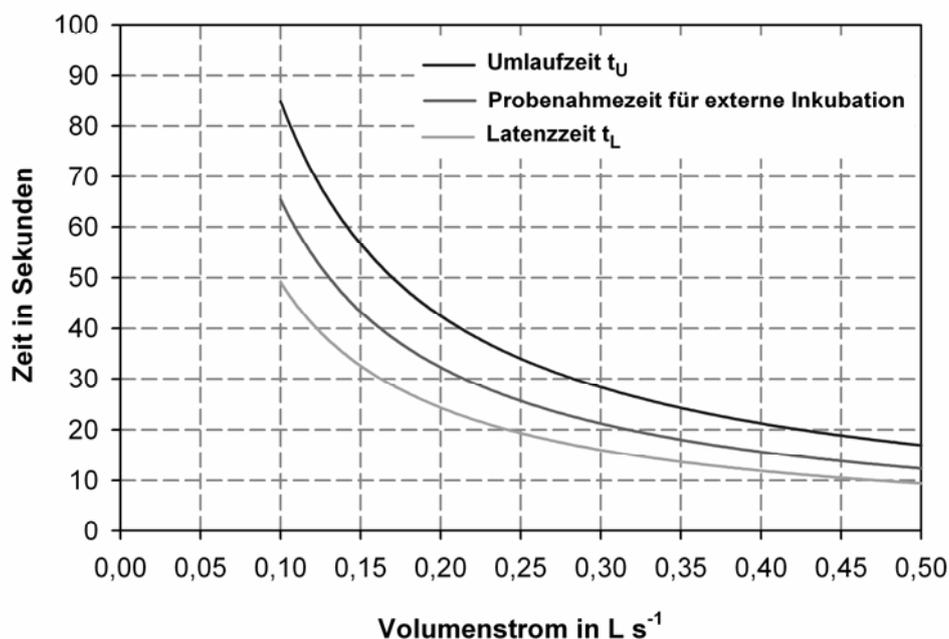


Abbildung 4.8: Abhängigkeit charakteristischer Zeiten vom Volumenstrom (bei 8,5 L Füllvolumen des Arbeitskreislaufs).

Die Versuchsanlagen-„interne“ Inkubation bei nur einer Passage Kavitation gestaltet sich ähnlich. Nach dem Start des Versuchs wird nach genau der ersten vollständigen Passage des gesamten Volumens des Arbeitskreislaufes durch die Kavitationsapparatur die Pumpleistung gedrosselt (auf $0,13 \text{ L s}^{-1}$), so dass keine kavitierenden Bedingungen mehr vorherrschen. Die weitere Probenahme gestaltet sich wie bei der kavitierenden iterativen Behandlung, wobei jetzt zwei unterschiedliche Umlaufzeiten für die Berechnung der realen Kontaktzeit berücksichtigt werden müssen. Die Probe während der ersten Passage hat noch die Kontaktzeit der Latenzzeit. Nach der Drosselung des Volumenstroms berechnet sich die korrekte Kontaktzeit wie folgt:

$$t_K = t_M - t_{U1} \cdot \left[\frac{(t_M - t_{U1} - t_L)}{1,09 \text{ min}} - z_2 \right] \quad \text{Gleichung 15}$$

Mit t_K als Kontaktzeit, t_M der Messzeit ab Versuchsbeginn, t_{U1} der Umlaufzeit für die erste Passage mit kavitierender Strömung, t_L der Latenzzeit und z_2 der ganzzahlig durchlaufenen Passagen ab der zweiten Passage (ab Drosselung der Pumpe). Der Faktor 1,09 Minuten entspricht dabei der zweiten Umlaufzeit entsprechend bei einem Volumenstrom von $0,13 \text{ L s}^{-1}$, welcher dann für alle Versuche mit interner Inkubation gleich verwendet wurde.

4.2.4. Nachbereitungen und Reinigung der Versuchsanlage

Nach jedem Versuchslauf wurde der Arbeitskreislauf oder entsprechend nach 2 Versuchen die gesamte Versuchsanlage entleert. Dazu wurde der Versuchskreislauf über zwei Bodenablassventile (je an den tiefsten Punkten des Kreislaufs) in einen Behälter zum Autoklavieren der Medien entleert und mit gefilterter Druckluft die Reste der Flüssigkeit aus Toträumen ausgeblasen. Die Pumpe wurde dabei laufen gelassen um auch aus den Toträumen der einzelnen Impeller alle Restflüssigkeit zu entfernen (genaue Beschreibung ist im Anhang unter 11.3 zu finden).

Falls im Vorratsbehälter noch Puffer oder Keimlösung für einen weiteren Versuch vorhanden war, wurde dieses in den Versuchskreislauf abgelassen und ein weiterer Versuch nach Kapitel 4.2.1 vorbereitet. Andernfalls wurde die gesamte Anlage neu befüllt. Der Betrieb erfolgte in den meisten Fällen im Prinzip monoseptisch, da keine explizite Zwischenreinigung erfolgte. So lange keine allzu geringen Keimzahlen in Folge nach einem Versuch mit hohen Keimzahlen untersucht wurden, war dieses Vorgehen legitim, da eventuell in Toträumen noch vorhandene Reste des

vorgehenden Versuchs in einer Größenordnung von weniger als 0,1 % (entsprechende Reste von bereits hoch geschätzten 8 ml des Vorversuchs) ausmachen und somit für die Untersuchung im Bereich von 90 – 99,9 % Inaktivierung kaum Einfluss haben sollten. Auch restliches ClO_2 wurde durch das neue Medium so stark verdünnt, dass es nicht mehr nachweisbar war. Des Weiteren war die Zeitspanne zwischen zwei Versuchsläufen mindestens eine Stunde. Somit konnte sich noch vorhandenes ClO_2 verflüchtigen, bevor ein neuer Versuch gestartet wurde.

Um eine Kontamination der Versuchsanlage und somit auch der Proben mit fremden Keimen zu unterbinden und um eventuelle Ablagerungen, die zur Verkeimung führen könnten, zu verhindern, wurde die Anlage regelmäßig, jedoch mindestens wöchentlich, mit 60 °C heißer 2 %-iger Natronlauge für eine halbe Stunde gespült. Anschließend wurde die Natronlauge wieder in den Vorratsbehälter abgelassen und die Anlage mit Druckluft ausgeblasen. Daraufhin wurde die Versuchsanlage 2-mal mit VE-Wasser gespült um Reste der Natronlauge sicher zu entfernen und jeweils mit Druckluft ausgeblasen.

4.3. Puffer und Reagenzien

In diesem Kapitel sind nur die wichtigsten Puffer und Reagenzien aufgelistet, die sonst nicht explizite erwähnt wurden. Listen der allgemein standardmäßig üblichen Materialien und Geräte sowie Chemikalien sind im Anhang aufgeführt. Die Sortierung hier orientiert sich nach dem chronologischen Erscheinen in den Kapiteln 4.1 und 4.2 sowie 4.4. Die Puffer und Medien wurden, wenn nicht anders erwähnt, mit vollentsalztem Wasser angemischt und bei Bedarf steril autoklaviert.

Tabelle 4.2: Zusammensetzung der physiologischen Phosphatpufferkonzentrate (20-fach) mit pH 6,3 und 7.

Komponente	Einwaage in g L ⁻¹ für pH 6,3	Einwaage in g L ⁻¹ für pH 7,0
Kaliumchlorid	4	4
Natriumchlorid	160	160
Kaliumdihydrogenphosphat	18,0	4,8
Dikaliumhydrogenphosphat	10,6	35,3

Tabelle 4.3: Herstellung der Natronlauge (2 %) zur Reinigung der Versuchsanlage.

Komponente	Einwaage g L ⁻¹
Natriumhydroxid (Pulver)	20

Tabelle 4.4: Zusammensetzung des Anzuchtmediums und Agars (Basis Luthia-Broth).

Komponente	Einwaage LB-Medium in g L ⁻¹	Einwaage LB-Agar in g L ⁻¹
Hefeextrakt	5	5
Kasein-Pepton	10	10
Natriumchlorid	5	5
Agar-Agar	-	13

Tabelle 4.5: Zusammensetzung des Analysenpuffers (pH 7) für die Iodometrie.

Komponente	Einwaage in g L ⁻¹
Kaliumdihydrogenphosphat	4,8
Dikaliumhydrogenphosphat	35,3

Tabelle 4.6: Herstellung der Kaliumiodid Lösung (0,1 mol L⁻¹) für die Iodometrie.

Komponente	Einwaage in g L ⁻¹
Kaliumiodid	16,6

Tabelle 4.7: Herstellung der Natriumthiosulfat Lösungen zur Analyse oder zum Quenchen von ClO₂.

Komponente	Lösung mit 0,1 mol L ⁻¹	Titrationlösung mit 1,0 mmol L ⁻¹
Natriumthiosulfat	Einwaage von 24,8 g in 1 L	(Verdünnung 1 : 100 der Referenzlösung von Roth GmbH)

Tabelle 4.8: Herstellung der Stärkelösung zur Iodometrie.

Komponente	Einwaage in g L ⁻¹
Lösliche Stärke	30

Tabelle 4.9: Zusammensetzung der DPD-Lösung zur Konzentrationsbestimmung von ClO₂.

Komponente	Anteil in ml L ⁻¹
Diphenylendiamin (Lösung)	0,4
Schwefelsäure (96 %)	10

Tabelle 4.10: Zusammensetzung des β-Mercaptoethanolpuffer (10-fach konzentriert) für die Aktivitätsmessung).

Komponente	Anteil beziehungsweise Einwaage pro 100 ml
Mercaptoethanol in ml	7,8
Magnesiumchlorid in g	0,085
Phosphatpuffer (pH 7)	92

Tabelle 4.11: Herstellung der ONPG-Lösung (10-fach konzentriert) für die Aktivitätsmessung.

Komponente	Einwaage in g L ⁻¹
2-Nitrophenyl-β-Galactopyranosid (ONPG)	3,01

4.4. Methoden und Durchführungen

4.4.1. Anzucht und Keimzahlbestimmung von *E. coli*

Die Anzucht von *Escherichia coli* K12 (Deutsche Stammsammlung DSM 498) erfolgte meist im Schüttelkolben mit Luthia-Broth-Medium (LB-Medium) in einem Arbeitsvolumen von 100 ml (im 500 ml Kolben) oder 200 ml (im 1000 ml Kolben).

Angeimpft wurde mit 100 µl oder 200 µl einer Kryokultur (40 % Glycerin und 60 % Zellmedium aus der späten exponentiellen Phase einer Vorkultur) die bei -80 °C oder kurze Zeit bis zum Gebrauch auch bei -20 °C gelagert wurde. Anschließend wurden die Kolben bei 250 U min⁻¹ und 37 °C im Inkubationsschüttler (Multiphor II, Infors GmbH) etwa 16 – 18 Stunden bis zum Erreichen der stationären Phase inkubiert. Dabei wurde in der Regel eine optische Zelldichte ($\lambda = 600$ nm) zwischen 3,8 und 4,5 erreicht. Die Zellen wurden in den meisten Fällen zum Ernten und Aufkonzentrieren bei 5500 g für 10 min abzentrifugiert und je nach Verwendungszweck in 25 oder 50 ml Ringerlösung (Pufferlösung für mikrobiologische Zwecke, Merck GmbH) resuspendiert und bis zur weiteren Verwendung auf Eis gelagert. Dieses Vorgehen diente für einige Versuche auch als Waschschrift, wobei dabei meist in größeren Volumina (100 – 200 ml) resuspendiert wurde. Für die Inkubationen mit entsprechenden Farbstofflösungen wurde nach Kapitel 4.4.4 weiter verfahren.

Für die Untersuchung der β -Galaktosidase Extraktion wurde der Stamm JM101 entsprechend in LB-Medium mit 1 mmol L⁻¹ Ampicillin 10 – 12 Stunden bis zum Erreichen der späten exponentiellen Phase inkubiert. Die Expression der β -Galaktosidase wurde mit 0,1 mmol L⁻¹ Isopropyl-Galakturon-Pyranosid und 1 g L⁻¹ Laktose induziert und für zwei weitere Stunden inkubiert. Die Zellen wurden anschließend per Zentrifugation geerntet.

Die Untersuchung der Inaktivierung erfolgte mittels Bestimmung der Lebendkeimzahl in Form Kolonie-bildender-Einheiten (KbE) auf LB-Agar Platten (90 mm Petrischalen mit Nocken, Roth GmbH) mittels Tropfplattenverfahren. Dazu wurden die mikrobiellen Proben zu einer entsprechend auszählbaren Keimzahl verdünnt. Die zu verwendenden Verdünnungen wurden je nach Keimzahl zu Beginn des Versuchs aus Erfahrungswerten der zu erwartender Inaktivierung abgeschätzt. Die Verdünnungsreihen wurden mit Ringerlösung und einer Multikanalpipette (8-Kanal 1200 µl ePet, BioHit GmbH) in 96-Well Platten (2ml, Nunc GmbH) durchgeführt. Für jede Verdünnung wurden 1080 µl Ringerlösung und 120 µl der Probe beziehungsweise der vorhergehenden Verdünnung mittels der 8-Kanal-Pipette gemischt um so je Verdünnungsstufe eine Verdünnung der Keime von 1 : 10 zu erreichen. Die gewünschten Verdünnungen wurden mit 4 x 50 µl großen Tropfen pro Probe auf den LB-Agar getropft und durch Schwenken verteilt ohne die einzelnen Tropfen zu vermischen. Alternativ wurde einmalig 200 µl auf die Agarplatten aufgetragen. Mit der Auftragung von verschiedenen Verdünnungen konnte die

erwartete Keimzahl nach oben und unten abgesichert werden und somit die Zählbarkeit von mindestens einem Tropfen gewährleistet werden. Wenn die Proben Tropfen in den Agar adsorbiert waren, wurden die Platten kopfüber für 24 – 48 Stunden bei 37 °C inkubiert (48 Stunden für alle Versuche mit Chlordioxidinkubation). Die gewünschte Verdünnung ergab, je nach Probe, in der Regel 10–100 Keime pro Tropfen. Tropfen mit mehr als 150 Keimen wurden auf Grund der ineinander wachsenden Kolonien nicht mehr gezählt. Meist erfolgte eine Mittelung der bestimmten Keimzahl aus der gleichen oder auch aus den unterschiedlichen Verdünnungsstufen (je immer 1 : 10). Unterschiedliche Verdünnungen wurden dabei nach folgender Gleichung gemittelt:

$$\text{Mittelwert der Verdünnungsstufen} = \frac{\sum \text{KbE}(\text{je Verdünnungsstufe})}{1,1} \quad \text{Gleichung 16}$$

Diese Mittelung gewährleistet auch die entsprechende Gewichtung der Verdünnungsstufen, da wenige Keime eine größere statistische Unsicherheit verursachen und somit weniger in der Mittelwertberechnung gewichtet werden. Die Hochrechnung auf KbE ml⁻¹ erfolgte je nach Tropfenvolumen und Verdünnung durch entsprechende Multiplikatoren. Es wurde dabei für 50 µl-Tropfen einmalig mit 20 und für 200 µl-Tropfen einmalig mit 5 multipliziert (Hochrechnung auf 1 ml) und für die Berücksichtigung der Verdünnungsstufen mit 10^{Verdünnungsstufe} multipliziert.

4.4.2. Darstellung und Analytik von Chlordioxid

Das Herstellungsverfahren von Chlordioxid beruht auf dem Salzsäure-Chlorit-Verfahren. Dazu wurde ein zwei-Komponentensystem der Firma clo2tec GmbH verwendet. Es besteht aus den Komponenten A (500 ml stabilisierte Natriumchloritlösung) und B (4,5 L verdünnte Salzsäure). Nach Herstellerangaben sollen die beiden Flüssigkeiten 1 : 10 (A : B) gemischt und für mindestens 2 Stunden bei Raumtemperatur zur Reaktion inkubiert werden. Die Lösung sollte danach laut Hersteller bei kühler und dunkler Lagerung für bis zu einen Monat stabil sein. Die Lösung wurde täglich für jeden Versuch frisch hergestellt und die genaue Konzentration bestimmt. Die Lösungen A und B wurden dabei in einem braunen Glasbehälter mit wenig Kopfraum (je nach gewünschter Menge 5 – 50 ml) angemischt. Nach 2 Stunden wurde die Lösung auf Eis gestellt und nachdem sie abgekühlt war, wurde die ClO₂-Konzentration bestimmt.

Die iodometrische Titration nach DIN-EN-12671 (2009) ist die am häufigsten angewandte Methode zur Bestimmung der ClO_2 -Konzentration, mit einer relativen Standardabweichung von 0,76 % (DIN EN ISO 7393-3). Die Nachweisgrenze liegt allerdings mit $0,5 \text{ mg L}^{-1}$ sehr hoch und eignet sich nicht für den Nachweis von entsprechenden Anwendungskonzentrationen in der Wasserdesinfektion. Die iodometrische Titration wurde nur für die Bestimmung von konzentrierten ClO_2 -Stammlösungen verwendet. Zur Bestimmung wurde 1 ml der Stammlösung mit 49 ml VE-Wasser in einem 50 ml Glaskolben mit Schliffstopfen verdünnt und auf Eis gelagert um das Ausgasen von Chlordioxid zu verhindern. 5 ml dieser Verdünnung wurden in einem Erlenmeyerkolben mit 3 ml Phosphat-Puffer (pH 7,0) und 3 ml $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ Kaliumiodid Lösung gemischt und anschließend 0,5 ml einer 3 %-igen Stärkelösung hinzugefügt. Bei einem pH von 7 setzt das Chlordioxid quantitativ Iodid zu Iod um und wird dabei selbst zu Chlorit reduziert. Pro 2 Mol Chlordioxid entsteht 1 Mol Iod. Die Iodmoleküle lagern sich in die Stärkekettens an, was eine intensive Blaufärbung hervorruft. Diese blaue Lösung wurde mit $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ Natriumthiosulfat Lösung (1 : 100 Verdünnung einer Standardlösung von Roth GmbH) bis zur Entfärbung titriert. Für den Umsatz reagieren 2 Mol Natriumthiosulfat pro 1 Mol Iod. Somit ist der Verbrauch 1 Mol Natriumthiosulfat pro 1 Mol Chlordioxid. Diese Bestimmung wurde jeweils dreifach durchgeführt und der Mittelwert der Bestimmungen zur Berechnung der aktuellen ClO_2 -Konzentration verwendet. Die Berechnung der Konzentration der Stammlösung in g L^{-1} erfolgt nach folgender Formel:

$$C_{\text{Stammlösung}} = v' \cdot 0,01 \cdot 67,45 \frac{\text{g}}{\text{mol}} \cdot 1,0 \frac{\text{mol}}{\text{L}} \quad \text{Gleichung 17}$$

Mit $67,45 \text{ g Mol}^{-1}$ als Molekulargewicht von Chlordioxid, 0,01 als Umrechnungsfaktor der Verdünnung von 1:50 der Chlordioxidstammlösung und 5 ml Probevolumen sowie der Umrechnung von mmol zu mol. $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ als Konzentration der Natriumthiosulfat Lösung und v' dem gemittelten Verbrauch dieser Lösung in ml.

Zur Bestimmung der niedrigen ClO_2 -Konzentrationen in der Versuchsanlage wurde die kolorimetrische Methode nach DIN 38408–G5 (1990) verwendet. Bei dieser Methode wird die Bildung eines rötlichen Farbstoffs aus der spezifisch mit Chlordioxid reagierender Substanz N'-N'-Diethyl-p-Phenylendiamin (DPD, Lösung, Merck GmbH) photometrisch bei $\lambda = 515 \text{ nm}$ gemessen (vergleiche Abbildung 4.9).

Der Umsatz des Farbstoffes erfolgt bei einem pH von 6 – 6,5 sehr schnell und ist quantitativ 1 : 1 zu Chlordioxid. Die Zunahme der Absorption ist direkt proportional zur Ausgangsmenge an Chlordioxid. Um die Quereinflüsse der Lösungen, der Zellen und die Qualität der Stammlösung an DPD zu berücksichtigen wurde für jede neue Stammlösung eine Kalibrierung durchgeführt. Dazu wurde eine Lösung aus Zellen ($\sim 2 \cdot 10^7$ KbE ml⁻¹) und Phosphatpuffer (pH = 6,3) hergestellt und mit 1/20 des Volumens an DPD Lösung versetzt. Jeweils 5 ml dieser Lösung wurden in Glasküvetten mit 50 mm Schichtdicke gefüllt und mit entsprechender Menge der iodometrisch bestimmten 1 : 50 Verdünnung an Chlordioxidlösung versetzt, sodass ClO₂-Konzentrationen von 0,3 mg L⁻¹, 0,2 mg L⁻¹, 0,1 mg L⁻¹ und 0,05 mg L⁻¹ entstanden. Die Absorption dieser Proben wurde photometrisch bei $\lambda = 515$ nm bestimmt und daraus eine Korrelation zwischen Absorption und Konzentration an ClO₂ entwickelt. Die Nullwertbestimmung (Referenz der Absorption) erfolgte gegen eine Lösung aus Keimen ($\sim 2 \cdot 10^7$ KbE ml⁻¹), die vor der DPD Zugabe mindestens 30 min mit einer ClO₂-Konzentration von 0,3 mg L⁻¹ abreagieren konnte. Dieses Vorgehen sollte die Absorptionsänderung durch lysierte Zellen kompensieren, da die optische Dichte der Zellen bei $\lambda = 515$ nm noch einen sehr großen Quereinfluss auf die Messung der Chlordioxidkonzentration besitzt.

Bei der Bestimmung der ClO₂-Konzentration der Untersuchungsproben wurde ebenfalls jeweils 5 ml Probe ($\pm 0,5$ ml) mit 0,25 ml an DPD-Lösung in Reaktionsgefäßen von 15 ml gemischt und in den 50 mm Glasküvetten vermessen. Für die Nullwertbestimmung (Referenz zur Kompensation der optischen Dichte der Zellen) wurde eine ClO₂-freie Probe aus der Versuchsanlage kurz vor Beginn des Versuches verwendet.



Abbildung 4.9: Reaktion von DPD mittels ClO₂ zum Chromophor.

Die Qualität und Genauigkeit dieser Methode wurde sehr stark von der Anzahl an Keimen und der Konzentration an Chlordioxid beeinflusst. Da die Zellen bei sehr hoher Konzentration die optische Dichte bei $\lambda = 515$ nm sehr stark quer beeinflussen, wurde die Messung hier sehr unsicher, da der Farbstoff (vor allem bei geringen

Konzentrationen an ClO_2) nur noch in der Größenordnung des „Messrauschens“ war. Auch verursachte die Anwesenheit der Zellen eine gewisse Nullpunktabweichung, so dass sehr geringe Konzentrationen kaum mehr sicher detektiert werden konnten. In Abbildung 4.11 ist eine typische Kalibrierkurve für die DPD Methode dargestellt. Die Nullpunktabweichung verhindert eine sichere Aussage zur genauen Konzentration unter $0,05 \text{ mg L}^{-1}$ an Chlordioxid. Die Messgrenze ist somit entsprechend in dieser Größenordnung und der relativen Unsicherheit in einer ähnlichen Größenordnung von $\sim \pm 0,03 \text{ mg L}^{-1}$ oder bei höheren Werten mindestens jedoch 10 % des Messwertes. Weiter verursachten aber besonders hohe Konzentrationen an Chlordioxid und Zellen einen Einfluss durch das Lysieren der Zellen und somit eine Abnahme der optischen Dichte bei $\lambda = 515 \text{ nm}$, die mit einer einfachen Referenz (Nullwert) ohne Chlordioxid nicht kompensiert werden konnte.

Alternativ wurde daher eine alternative Substanz namens 3,3',5,5'-Tetramethylbenzidin (TMB, Merck GmbH) für die Bestimmung von Chlordioxid herangezogen (Hach-Lange AG, 2005). Diese Substanz reagiert ebenfalls sehr spezifisch 1 : 1 mit Chlor oder 2 : 1 mit Chlordioxid als Oxidationspartner (vergleiche Abbildung 4.10). Das Reaktionsprodukt ist gelb und lässt sich quantitativ photometrisch bei $\lambda = 440 \text{ nm}$ bestimmen. Der Quereinfluss der Zellen ist hier nicht mehr so groß. Auch bei der TMB Methode wurde eine $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ TMB-Lösung 1 : 20 mit der Probe gemischt und in 10 mm Küvetten gegen eine Referenz ohne Chlordioxid gemessen. Der pH dieser Versuche und Puffer lagen dann allerdings bei pH 7,0 (Optimum der Reaktion mit TMB). Auch hierfür wurde eine Kalibrierkurve über verschiedene Konzentrationen an ClO_2 erstellt (vgl. Abbildung 4.12). Es wurde dabei für Konzentrationen $> 0,25 \text{ mg L}^{-1}$ ein mit Literaturangaben vergleichbarer Extinktionskoeffizient von $29.000 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ bestimmt (Literatur $32.000 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$). Bei geringeren Konzentrationen kam es jedoch zu einem steileren Abfall der Kalibrierkurve und daher auch zu unsichereren Messwerten. Der relative Fehler für diese Methode liegt daher auch in der gleichen Größenordnung wie bei der DPD-Methode bei 10 %, mindestens aber bei $0,03 \text{ mg L}^{-1} \text{ ClO}_2$.

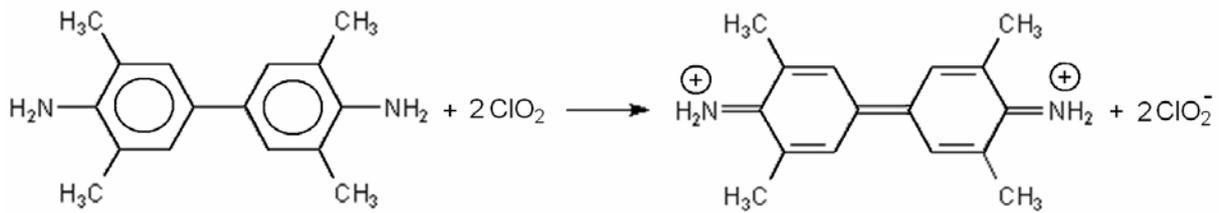


Abbildung 4.10: Reaktion von TMB mit 2 ClO_2 zu einem gelben Farbstoff.

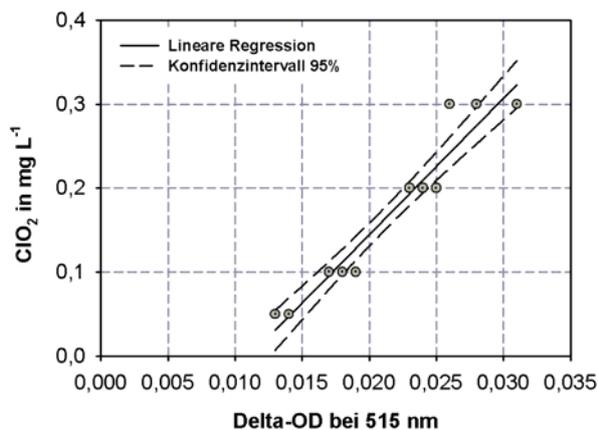


Abbildung 4.11: Beispiel einer Kalibrierung für die Bestimmung der ClO_2 -Konzentration (DPD-Methode, DIN 38408-G5).

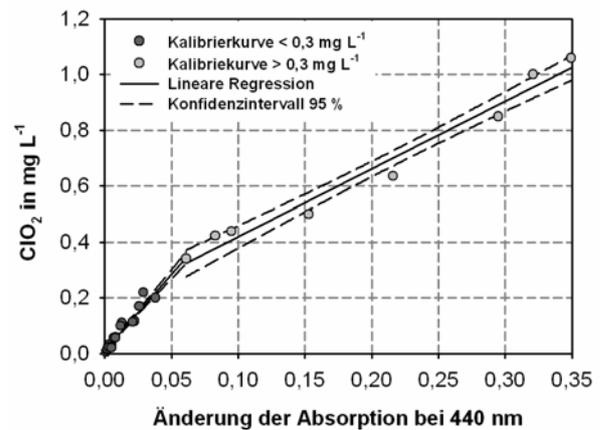


Abbildung 4.12: Kalibrierung der Chlordioxidbestimmung nach der Tetramethylbenzidin- Methode.

Zur Online-Bestimmung der ClO_2 -Konzentration wurde ein amperometrisches Messsystem der Firma Dr. Kuntze GmbH verwendet, welches in Kapitel 4.1.2 schon beschrieben wurde.

4.4.3. Versuche zur Inaktivierung von *E. coli* mit Chlordioxid

Die Referenzversuche zur reinen Inaktivierung von *E. coli* mit Chlordioxid wurden in kleinen gerührten Enghalsglaskolben (50 oder 100 ml Kulturkolben, Schott GmbH) oder dreihalsigen Kulturkolben (3 Schraubanschlüsse, maximal 120 ml) bei 600 U min^{-1} (35x6 mm Rührfisch, VWR GmbH) auf einer Magnetrührplatte durchgeführt. Alle Kolben hatten einen engen Hals mit nur kleiner Öffnung um das Verdunsten des Chlordioxids möglichst gut zu unterbinden. Die zuletzt genannten Kolben hatten den Vorteil der möglichen Integration der ClO_2 -Messsonde in das Gefäß. Die Messung war auch hier von der Anströmung und somit von der genauen Position des Sensors und der Rührerdrehzahl abhängig (Daten nicht gezeigt). Die Temperatur wurde

entweder durch die Heizplatte oder durch einen eisgekühlten Styropormantel kontrolliert. Als Medium diente wiederum Phosphatpuffer bei pH 6,3, der jeweils durch die Mischung von VE-Wasser und Pufferkonzentrat hergestellt und vortemperierte wurde. Danach erfolgte die Zugabe der gewünschten Menge an Keimen aus der resuspendierten Kultur (vgl. Kapitel 4.4.1). Die Zugabe von Chlordioxid erfolgte hierbei aus der 1:50 Verdünnung der Chlordioxidstammlösung, da für diese Größenordnung an Reaktionsgefäßen sonst nur wenige μl gebraucht würden, die generell mit höheren Volumenfehler behaftet sind. Die Probenahme erfolgte entsprechend Kapitel 4.2.3 zu den gewünschten Zeitintervallen (0,25 – 8 Minuten) in die vorbereiteten Reaktionsgefäße. Dabei wurde das Probenvolumen für die DPD Methode mittels 5 ml Pipette (Brand GmbH) zeitlich immer um 5 – 7 Sekunden versetzt zur mikrobiologischen Probe genommen, da eine gleichzeitige Probenahme durch den engen Hals nicht möglich war. Die Keimzahl wurden entsprechend nach Kapitel 4.4.1 und die Chlordioxidkonzentration entsprechend nach Kapitel 4.4.2 bestimmt.

4.4.4. Methoden zur Bestimmung der Membranpermeabilisierung

Eine *E. coli*-Kultur in der späten exponentiellen Phase ($OD \sim 3,5$) wurde für die Färbung mit Calcein-Acetoxy-methylester (Calcein AM, Calbiochem, Merck KGaA) inkubiert. Dieser Farbstoff wird intrazellulär enzymatisch durch Esterasen zu dem fluoreszierenden Calcein ($M_g = 623$) umgesetzt (vergleiche Abbildung 4.13). Um höhere Umsatzraten des Farbstoffs zu erreichen, wurden die Zellen weiter unter möglichst optimalen Bedingungen (250 U min^{-1} und $37 \text{ }^\circ\text{C}$) inkubiert. Sie erhielten zusätzlich 1 g L^{-1} Glukose als Energiequelle. Calcein AM ist ein relativ großes Molekül ($M_g = 994,9 \text{ g Mol}^{-1}$) und wird durch die äußere Membran schon stark an der Diffusion in die Zelle behindert. Daher wurde ein Waschschrift, gefolgt von einer Inkubation mit 1 mmol L^{-1} EDTA für 2 min eingefügt, um die Aufnahme des Farbstoffs zu erhöhen (EDTA komplexiert die Ca^{2+} -Ionen der äußeren Membran und erhöht damit seine Permeabilität). Diese Inkubation wurde durch Zugabe von $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ Magnesiumchlorid gestoppt. Es folgte ein zweiter Waschschrift mit Aufkonzentrierung der Zellen auf eine Optische Dichte (OD bei $\lambda = 600 \text{ nm}$) von 10 und der anschließenden Inkubation mit $0,5 \text{ mg L}^{-1}$ Calcein AM in LB-Medium mit 1 g L^{-1} Glukose (dieses Vorgehen erzielte bei der Untersuchung mehrerer verschiedener Varianten die höchste Beladung der Zellen mit Calcein AM (Daten nicht gezeigt). Vor

der Verwendung in der Versuchsanlage wurden die Zellen noch zweimalig gewaschen um den restlichen unverbrauchten Farbstoff zu entfernen.

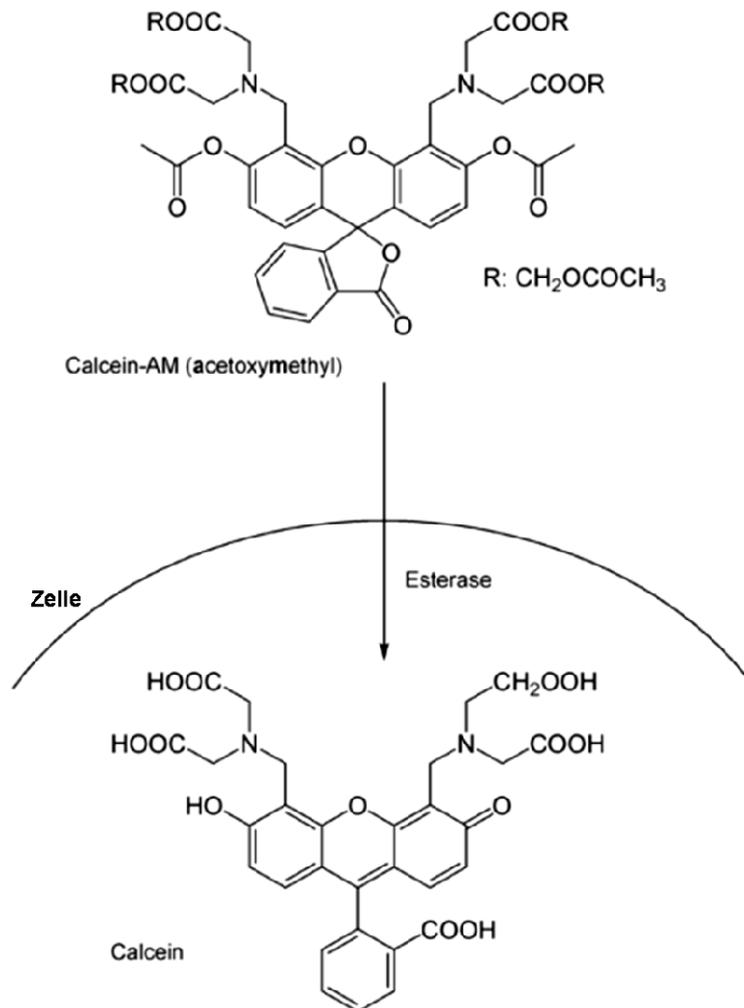


Abbildung 4.13: Intrazelluläre Umsetzung von Calcein AM zu Calcein durch Esterasen.

Nach der Behandlung mit Kavitation in der Versuchsanlage (Blindproben entsprechend ohne Kavitation) wurden die Proben (1 – 2 ml) abzentrifugiert (15 min bei 5500 g) und nur der Überstand in Mikrotiterplatten (MTP) mit 96 Vertiefungen (F-Typ 300 µl, Nunc GmbH) zu je drei Ansätzen von 200 µl im Mikrotiterplatten-Fluoreszenzphotometer (Fluostar Galaxy, Tecan) gemessen. Die Messung von Calcein erfolgte dabei bei einer Anregung von $\lambda = 450$ nm und die Emission wurde bei $\lambda = 515$ nm mit einem Verstärkungsfaktor von 60 gemessen (Verzögerungszeit 0 und Integrationszeit 100 µs, 25 Messungen pro Vertiefung bei 27 °C). Bei jeder

Messung wurden neben den behandelten Proben auch Pufferlösung als Blindwert und Überstände von unbehandelten Blindproben mitgeführt. Als maximal positive Referenz der Farbstofffreisetzung diente ein Kugelmühlenaufschluss der Zellen. Dazu wurden 1 ml der Blindprobe (Versuch bei OD 0,05) oder eine Aufkonzentrierung der Blindprobe (Versuch bei OD 1 um 1 : 10 auf OD 10) 10 min bei 30 Hz (MM200, Retsch) mit 0,5 ml Glasperlen (0,25 – 0,5 mm Durchmesser, Roth GmbH) in einem 1,5 ml Reaktionsgefäß aufgeschlossen. Nach der Zentrifugation bei 5500 g für 15 min wurde wiederum nur der Überstand verwendet.

Bei der parallelen Bestimmung der Lebendkeimzahl wurde eine Probe vor der ersten Zentrifugation für die Keimzahlbestimmung nach Kapitel 4.4.1. abgenommen

4.4.5. Methoden zur β -Galaktosidaseextraktion und Nachweis

Die Aktivitätsmessung der β -Galaktosidase erfolgt photometrisch bei $\lambda = 438$ nm durch Umsetzung des farblosen 2-Nitrophenyl- β -Galactopyranosid (ONPG) zum gelblichen o-Nitrophenol. Die zeitliche Zunahme der Absorption korreliert direkt proportional zu der Aktivität der eingesetzten Enzymmenge. Die Aktivität in U (μmol Produktbildung pro Minute) berechnet sich dabei nach folgender Formel:

$$A = \frac{\Delta E}{\Delta t} \cdot \frac{V'}{v \cdot d \cdot \epsilon_{\text{ONPG}}} \quad \text{Gleichung 18}$$

Mit ΔE als Änderung der Extinktion in dem Zeitintervall ΔT (in min), v' dem Probenvolumen, V' dem Gesamtvolumen und d der Schichtdicke der Küvette (in cm) und ϵ_{ONPG} als molaren Absorptionskoeffizienten von ONPG mit $3,5 \text{ mmol cm}^{-1}$. Die Umrechnung zur Aktivität pro Liter erfolgte durch Teilung durch das eingesetzte Probenvolumen v und die Berechnung zur Aktivität pro g Biotrockenmasse durch weitere Quotientenbildung mit der entsprechenden $\text{OD}_{600} \cdot 0,5$ (beispielsweise OD 1,0 bei Kugelmühle und OD 0,05 in der Versuchsanlage). Der Faktor 0,5 beschreibt die Korrelation zwischen optischer Dichte und Biotrockenmasse (Daten nicht gezeigt).

Die Kultur wurde wie unter Kapitel 4.4.1 beschrieben vorbereitet und die Versuche wie unter Kapitel 4.2.2 beschrieben durchgeführt. Das Probenvolumen wurde dabei für jede Probe zu ~ 6 ml gewählt (in 15 ml Falcon-Röhrchen). Vor Kavitationsbeginn wurde noch eine zweite Blindprobe für den Zellaufschluss mittels Kugelmühle mit 2 mal 1 ml (Versuchslauf bei OD 4) oder 2 mal 20 ml (Versuchslauf bei OD 0,05) genommen. Alle Proben wurden bis zur weiteren Verwendung auf Eis gelagert. Vor

der Aktivitätsmessung wurde zunächst noch eine Probe von 120 μl für die Keimzahlbestimmung abgenommen und dann wurden die Proben bei 5500 g für 15 min abzentrifugiert. Ein genaues Volumen des Überstands wurde dann mit dem in der Küvette vorgelegten 10-fach konzentrierten Mercaptoethanolpuffer und der ONPG Lösung gemischt und die Änderung der Absorption bei $\lambda = 438 \text{ nm}$ alle 10 Sekunden für insgesamt mindesten 90 Sekunden gemessen. Die 20 ml Blindproben wurden in je 1 ml Phosphatpuffer resuspendiert und dem Kugelmühlenaufschluss (wie in Kapitel 4.4.4 beschrieben) unterzogen. Bei dem Versuch mit OD 4 wurde keine Aufkonzentrierung der Blindprobe für den Kugelmühlenaufschluss vorgenommen. Die Mischungsvolumina der Proben und Puffer sind in Tabelle 4.12 aufgelistet. Da die Aktivitäten der Kugelmühlenaufschlüsse sehr hoch waren, mussten hier die Proben 1 : 10 verdünnt werden. Andererseits waren die Aktivitäten der Kavitationsproben (besonders bei den ersten Passagen) so gering, dass bei den Küvetten eine Schichtdicke von 50 mm und ein maximales Probevolumen von 4,5 ml gewählt wurden.

Tabelle 4.12: Eingesetzte Volumina der Proben und Puffer für die Aktivitätsmessung

Komponente	Menge in ml für Kavitationsproben	Menge in ml für Kugelmühlenaufschluss
Probevolumen	4,5	0,1
Mercaptoethanolpuffer (10-fach)	0,4	0,08
ONPG Lösung (10-fach)	0,1	0,02
Verdünnung (Phosphatpuffer pH 7)	0	0,8
Küvettschichtdicke	50 mm	10 mm

5. Charakterisierung der Kavitationsapparaturen

Antrieb zur Entwicklung eines neuen Kavitationsreaktors waren die bisher strömungstechnisch unzulänglich gestalteten Kavitations-Geometrien, die in der Literatur beschrieben werden. Die meisten Geometrien bestehen entweder aus einem oder mehreren Öffnungen in Form von Bohrungen oder Spalten in der Art einer Blende oder als ein lang gezogenes Rohr in der Art einer Venturidüse. Dabei entsteht meistens ein zeitlich inhomogener Zustand der Dampfblasenbildung mit einem Wechsel aus Aufbau an Blasenclustern, Ablösen der Strömung und Blasencluster und folgend kurzzeitiger homogener Umströmung des Bauteils oder der Kante ohne Kavitationsbildung. Da die initiale Generierung von Dampfblasen meist in den turbulenten Strömungsfeldern in direkter Nähe von Strömungsabrisskanten erfolgt, bleibt ein Großteil der Strömung oft frei von Kavitation. Dies wurde zwar durch Sivakumar und Pandit (2002) bis zu einem gewissen Grad optimiert, indem mehrere kleine Bohrungen anstatt weniger großer Bohrungen bei ähnlicher Strömungsquerschnittsfläche in eine Blende integriert wurden.

Bei der neuen Entwicklung sollte zum einen die Wirkung oszillierender Blasen auf Zellen, welche aus der medizinischen Ultraschallforschung bekannt war, in die hydrodynamisch erzeugte Kavitation übertragen werden. Zum anderen sollte eine homogenere und effizientere Generierung der Kavitationsblasen bei geringen Druckverlusten erfolgen. Daraus ergaben sich zwei wesentliche Erweiterungen die zusammen mit den vorher erwähnten Entwicklungen einen neuartigen Kavitationsreaktor bilden (Patentanmeldung DE 10 2009 034 977).

5.1. Kavitationsreaktor: Mikrogitter mit Nachlaufdüse

Abbildung 5.1 zeigt den Längsschnitt des Kavitationsreaktors Mikrogitter mit Nachlaufdüse (GND) mit einem Detailausschnitt A-A am engsten Rohrquerschnitt. Die Flussrichtung des Fluids ist dabei von unten nach oben und es werden die nachfolgend noch genauer erklärten Bereiche durchlaufen und ihre entsprechenden Eigenschaften auf die Strömung dargestellt.

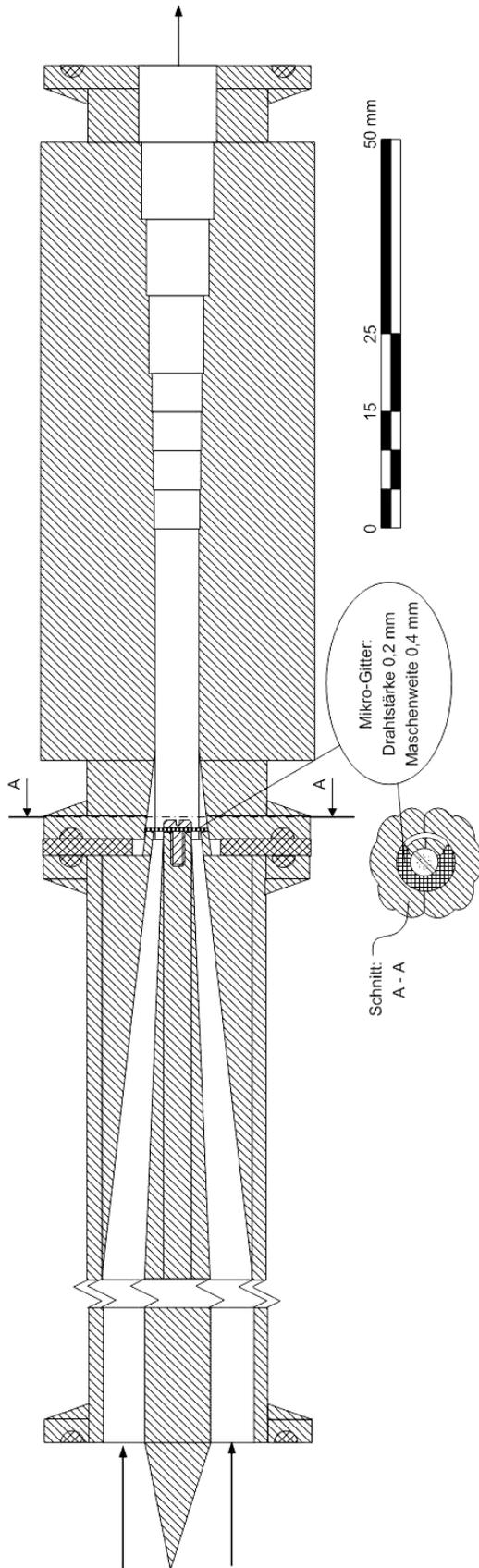


Abbildung 5.1: Technische Zeichnung des Längsschnitt durch den neu entwickelten Kavitationsreaktor (Mikrogitter mit Nachlaufdüse) mit Querschnitt A-A. Die Durchflussrichtung verläuft von unten nach oben.

Nach einer Beschleunigung der Strömung in einer sich kontinuierlich verengenden Düse mit wenig Druckverlust durch Staupunkte, erfolgt bei hoher Strömungsgeschwindigkeit die Passage eines Ringspalt, welcher mit einem Mikrogitter über den ganzen Querschnitt abgedeckt ist. Dieses Mikrogitter weist eine Maschenweite von 0,40 mm bei einer Drahtstärke von 0,20 mm auf. Die freie Durchtrittsfläche beträgt demnach 43 % und berechnet sich zu $8,5 \text{ mm}^2$. Die feine Struktur dieses Gitters verursacht nun homogen über den ganzen Ringspalt verteilt feine Kavitationsblasen und Blasencluster. Da die Generierung einzelner Blasen an vielen verschiedenen feinen Gitterpunkten stattfindet, kommt es auch nicht zu einem periodischen Ablösen der gesamten Strömung (wie es bei einer Lochblende üblich ist) und damit zu einer zeitlichen inhomogenen Kavitationsgenerierung, sondern zu einer Bildung von Blasenschwärmen, die über dem gesamten Gitterbereich verteilt sind. Durch die Zusammenführung der Strömung nach dem Gitter kommt es auch noch zu einer Vermischung aller generierter Kavitationsblasen. Die Nachlaufstrecke bildet ein doppelt konisches Rohr, dessen Durchmesser sich zunächst von 6,4 auf 5,6 mm verengt, dann für 45 mm konstant ist, um sich anschließend stufenweise von je 0,2 oder 1 mm wieder zu erweitern. Im konstanten Querschnitt werden die zuvor generierten Kavitationsblasen in einem oszillierenden Zustand gehalten, da die Strömungsgeschwindigkeit weiterhin hoch genug und der statische Druck damit niedrig genug ist. Die konische Erweiterung bewirkt einen langsamen Druckanstieg, um die Kavitation kontinuierlich zu beenden. Die Blasen kollabieren schließlich je nach Stabilität über einen Bereich von mehreren Millimetern in einem finalen Kollaps. Zur Prozessanpassung und auch zur Optimierung an spezielle Verfahren oder zur Maßstabsvergrößerung werden in Kapitel 8.2 mögliche Abwandlungen bezüglich dieses Kavitationsreaktors (Mikrogitter mit Nachlaufdüse) noch vorgeschlagen.

5.2. Mehrlochblende

Um die Effizienz und Wirkung dieses Reaktors direkt vergleichen zu können wurde als Referenz eine Lochblende nach Abbildung 5.2 gefertigt. Sie unterscheidet sich noch von der üblichen beschriebenen Variante (wie beispielsweise bei Gogate, 2007), da sie im Querschnitt an die Größenordnung des Mikrogitters mit Nachlaufdüse angelehnt wurde. Sie besteht aus 12 Bohrungen mit 1,0 mm Durchmesser, die auf zwei Kreisen je leicht versetzt um den Mittelpunkt angeordnet

sind. Die freie Querschnittsfläche ergibt sich somit zu $9,5 \text{ mm}^2$ im Gegensatz zu $8,5 \text{ mm}^2$ des Mikrogitters mit Nachlaufdüse.

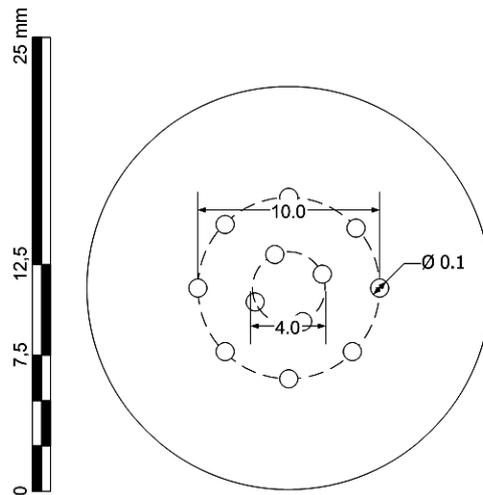


Abbildung 5.2: Technische Zeichnung der Lochblende (Aufsicht).

5.3. Hydrodynamischer Vergleich

Ein hydrodynamischer Vergleich verschiedener Bauteile ist über die Auftragung des Druckverlusts (Δp) als Funktion des Volumenstroms (F) möglich. Abbildung 5.4 zeigt, dass das Mikrogitter mit Nachlaufdüse (in der kompletten Ausführung nach Abbildung 5.1) bei gleichem Volumenstrom zu etwas geringerem Druckverlust führt als die Lochblende. Dies ist zum einen auf die bessere Anströmung und Abströmung des Reaktors zurückzuführen, zum anderen verursacht das feine Gitter Turbulenzen in einem deutlich kleineren Maßstab als die relativ großen Dimensionen der Blende (Durchmesser der Bohrungen und Abstand zueinander), was wiederum die Reibungsverluste an Wandungen und Dissipation auf Grund von großen Massenbewegungen reduziert. Zum Vergleich und für die spätere Berechnung der Kavitationszahl in der Gitterebene, ist nur der zweite Abschnitt des Mikrogitters mit Nachlaufdüse (Nachlaufkonus) alleine vermessen worden (Zulauf über einen zweiten Zulaufkonus, vergleiche hierzu Abbildung 5.3).

Interessanterweise ist für alle Bauteile in guter Näherung das Einsetzen „stabiler“ Kavitation als Änderung in der Steigung des Druckverlusts (als „Knick“, jeweils markiert mit einem Pfeil) zu erkennen. Wobei die Knickpunkte in den Kurven meist

5 Charakterisierung der Kavitationsapparaturen

bei etwas höheren Volumenströmen liegen als die ersten Anzeichen des Kavitationsbeginns. Generell liegt das Einsetzen der Kavitation für die 3 untersuchten Bauteile typischerweise bei etwas höheren Volumenströmen und damit niedrigeren Kavitationszahlen unter $C_v = 1$ im Bereich von $C_v = 0,5 - 0,7$. Dieses Einsetzen der Kavitation hängt unter anderem auch vom Gehalt an Luftbläschen und der Temperatur des Mediums ab und variiert daher in der Größenordnung von $\pm 10\%$. Die entsprechenden charakteristischen Werte sind in Tabelle 5.1 noch einmal verglichen.

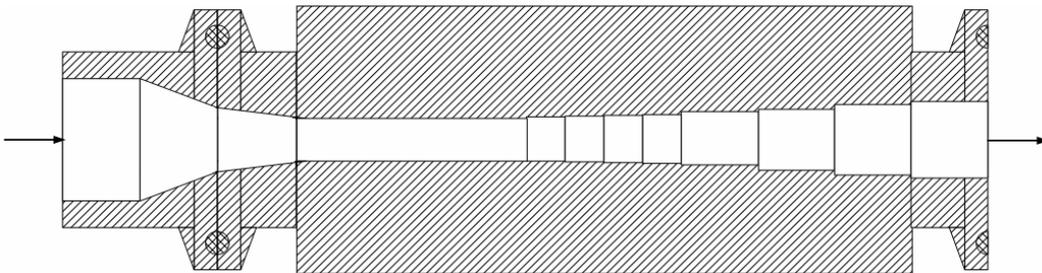


Abbildung 5.3: Technische Zeichnung des Längsschnitts durch die Nachlaufdüse mit Zulaufkonus (Durchfluss von links nach rechts).

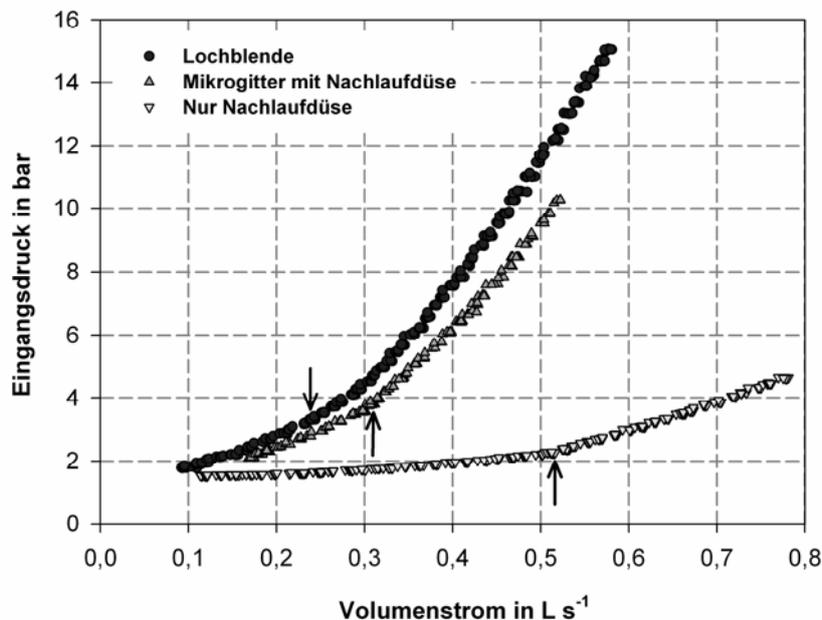


Abbildung 5.4: Eingangsdruck als Funktion des Volumenstroms für verschiedene Kavitationsapparaturen und Bauteile. Der Beginn der Kavitation zeigt sich dabei charakteristisch durch einen Knick in der Steigung (markiert durch einen Pfeil).

Ein direkterer Vergleich der Kavitationseffizienz (erreichbare Kavitationszahl pro Energieeintrag) lässt sich in der Auftragung der erreichbaren Kavitationszahl C_v über der zu erbringenden hydraulischen Leistung in kWh pro m^3 behandeltem Wasser aufstellen (P/V in $kWh\ m^{-3}$, mit $P = \Delta p \cdot F$). Damit lassen sich die Effizienzen von Kavitationsapparaturen auch für verschiedene Volumenströme gut vergleichen, da in dieser Auftragung der Druckverlust und der Volumenstrom gekoppelt sind (Hydraulische Leistung = Volumenstrom * Druckverlust) und die Effizienz direkt an der erreichbaren Kavitationszahl ablesbar wird (vergleiche Abbildung 5.5). Die Kavitationszahl für das Mikrogitter wurde dabei in der Gitterebene bestimmt. Dafür wurde auch der nachfolgende Druckverlust (Kennlinie der Nachlaufdüse aus Abb. 5.4) im Nachlauf des Gitters als entsprechender Bezugspunkt des Druckes (p_∞) für die Berechnung der Kavitationszahl berücksichtigt.

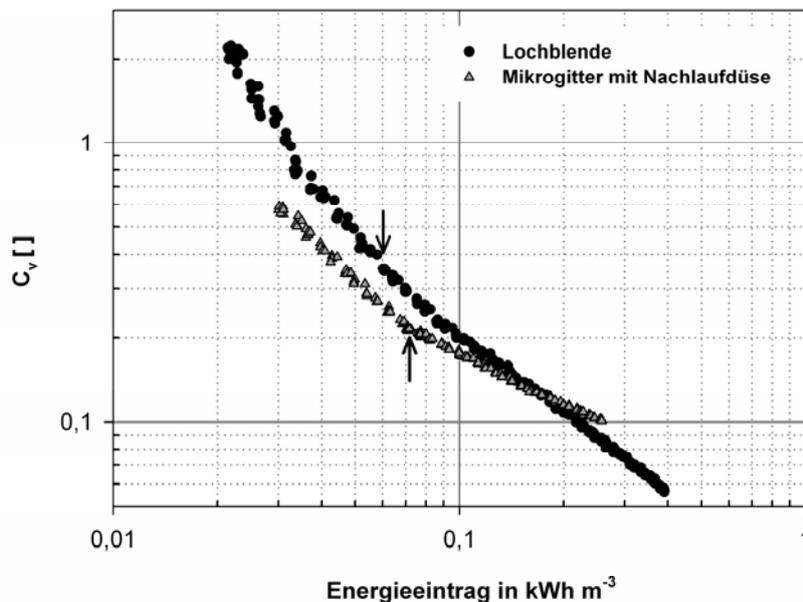


Abbildung 5.5: Vergleich der erreichbaren Kavitationszahlen über die dafür benötigten hydraulischen Leistungseinträge. Das Einsetzen der Kavitation zeigt sich durch einen Knick in der Steigung (markiert durch einen Pfeil).

Der Vergleich zeigt, dass die Nachlaufdüse generell erst für hohe Energieeinträge (bedingt durch entsprechend hohe Volumenströme) niedrige Kavitationszahlen erreicht. Das Mikrogitter mit Nachlaufdüse erreicht über einen großen Bereich und auch bei seinem minimalen Betriebspunkt (ab $0,9\ kWh\ m^{-3}$ mit dem stabilen Einsetzen der Kavitation im gesamten Reaktor) eine etwas niedrigere Kavitationszahl

als die Lochblende. Erst bei hohen Energieeinträgen (ab $1,7 \text{ kWh m}^{-3}$) erreichen sie eine ähnliche Kavitationszahl und somit Kavitationseffizienz. Dies ist vor allem durch den starken Anstieg des Druckverlusts in der Nachlaufdüse bedingt. Dieser steigert sich mit zunehmendem Volumenstrom, da zum einen die Länge der oszillierenden Kavitationszone, und zum anderen die Intensität der Oszillation zunehmen. Letzteres bewirkt einen größeren Energieverlust durch stärkere Wandreibung und Energiedissipation durch die Turbulenzen. Im Gegensatz dazu steigert sich bei der Lochplatte nur die transiente Kavitation und nur in einem sehr geringen Ausmaß die axiale Ausdehnung des Kavitationsbereichs.

Ein sehr interessanter Effekt des Mikrogitters mit Nachlaufdüse ist die Erniedrigung der Kavitationsschwelle in der Nachlaufdüse. Der Umschlagspunkt zur vollständigen Blasenoszillation, bis hin zur konischen Erweiterung im Nachlauf, erfolgt nämlich schon bei einem Volumenstrom von $0,31 \text{ L s}^{-1}$. Zwar besteht in diesem Betriebspunkt schon Kavitation (transiente Form) in der Gitterebene, die aber sofort wieder zusammenbrechen sollte, da die theoretische Kavitationszahl der alleinigen Nachlaufdüse bei diesem Volumenstrom bei einem Wert von $C_v = 1,3$ liegt. Der Vergleich mit der Nachlaufdüse alleine (vergleiche Abb. 5.3) bestätigt, dass das Einsetzen der Kavitation bei einem Volumenstrom von $0,53 \text{ L s}^{-1}$ und damit bei einer Kavitationszahl $C_v = 0,5$ liegt (vergleiche auch Tabelle 5.1).

Ab diesem Betriebspunkt mit $0,31 \text{ L s}^{-1}$ erstreckt sich ein homogenes Feld aus oszillierenden Kavitationsblasen bis zu den ersten Erweiterungen der Nachlaufdüse. Steigert man den Volumenstrom, so erstreckt sich die Kavitationszone immer weiter in den sich öffnenden Konus. Der endgültige Blasen kollaps geschieht dann erst bei einem Querschnitt von 7 oder 8 mm.

Die homogene und feine Blasengenerierung im Gitter scheint demnach zum einen die Schwelle der Kavitationsbildung herabzusetzen und zum anderen ein stabileres Kavitationsfeld zu erzielen, welches schlagartig für den Nachlauf in einer axialen Länge von 45 mm stabilisiert ist.

Tabelle 5.1: Vergleich verschiedener Betriebszustände von Lochblende, nur Nachlaufdüse und des gesamten Kavitationsreaktors Mikrogitter mit Nachlaufdüse.

Parameter	Lochblende	Nachlauf-Düse	Mikrogitter mit Nachlaufdüse
$C_v = 1$ bei Volumenstrom [$L s^{-1}$]	0,14	0,36	0,15
$C_v = 1$ bei P/V [$kWh m^{-3}$]	0,031	0,024	0,015
Festgestelltes Einsetzen der Kavitation bei einer C_v von	0,70	0,50	0,20*
Festgestelltes Einsetzen der Kavitation bei Volumenstrom [$L s^{-1}$]	0,17	0,53	0,31*
Festgestelltes Einsetzen der Kavitation bei P/V [$kWh m^{-3}$]	0,037	0,038	0,072*

* Für stabil oszillierende Kavitation

6. Ergebnisse und Diskussion

6.1. Inaktivierung von *Escherichia coli* mit Chlordioxid

Da zum einen in der Literatur sehr unterschiedliche Werte für die Inaktivierungsgeschwindigkeit von *E. coli* zu finden sind, und zum anderen der Einfluss von hohen Startkeimzahlen selten untersucht wurde, soll in diesem Kapitel eine eigene Identifizierung der Kinetik der Desinfektion von hohen Zellzahlen an *E. coli* mittels Chlordioxid vorgestellt werden. Auf deren Basis können dann auch die weiteren Vergleiche in der Kombination mit Kavitation erfolgen. Als grundlegende Kinetik wird hier die Reaktion nach pseudo erster Ordnung („Watson-Chick“-Kinetik) beobachtet, die sich unter Einschränkung von Randbedingungen auch validieren lässt.

6.1.1. Einfluss der Chlordioxidkonzentration

In Abbildung 6.1 sind beispielhaft die Verläufe der Lebendkeimzahlen (in KbE ml⁻¹) und der Chlordioxidkonzentration (ClO₂ in mg L⁻¹) für vier verschiedene Startkonzentrationen (C₀) an ClO₂ über der Zeit dargestellt (je 20 °C, Phosphatpuffer bei pH 6,3 und ~ 2·10⁷ Start-KbE ml⁻¹ an *E. coli*). Es zeigt sich, dass unter einer Schwellenkonzentration von C₀ = 0,30 mg L⁻¹ an Chlordioxid nur noch eine geringe Inaktivierung an *E. coli* zu verzeichnen ist. Erst ab C₀ = 0,30 mg L⁻¹ an ClO₂ wird mit zunehmender Startkonzentration ein steilerer Verlauf der Inaktivierung und auch eine niedrigere absolute Endkeimzahl gegen Ende der Inaktivierung erreicht. Die Inaktivierung verläuft dabei nach Reaktion pseudo erster Ordnung („Watson-Chick“-Kinetik, vergleiche Gleichung 2) und besitzt über weite Bereiche einen konstanten Verlauf. Wenn das Chlordioxid nahezu verbraucht ist, lässt sich eine Reduzierung der Inaktivierungsgeschwindigkeit beobachten. Auch kann man bei der Chlordioxidstartkonzentration von 0,30 mg L⁻¹ eine kurze Verzögerung der Inaktivierungsgeschwindigkeit für die ersten 15 Sekunden beobachten. Abhängig von der Startkeimzahl und der eingesetzten Startkonzentration an ClO₂ variiert diese Verzögerungszeit im Bereich von 0 – 0,5 Minuten. Bei hohen Startkonzentrationen an ClO₂ über 0,35 mg L⁻¹ ist eine Verzögerung fast nie zu verzeichnen (Daten nicht gezeigt). Für die Bestimmung der Inaktivierungsgeschwindigkeit wurde diese Verzögerung dann entsprechend der Verzögerungskinetik nach Gleichung 6 nicht

berücksichtigt. Auch die Reduzierung der Reaktionsgeschwindigkeit wurde für die exponentielle Regression nicht mehr berücksichtigt. Für die Regression wurden dabei mindestens vier Datenpunkte (in Ausnahmen nur drei) herangezogen. Der Korrelationsfaktor R^2 lag dabei meist über 0,95 und nur in Ausnahmen bei minimal 0,90.

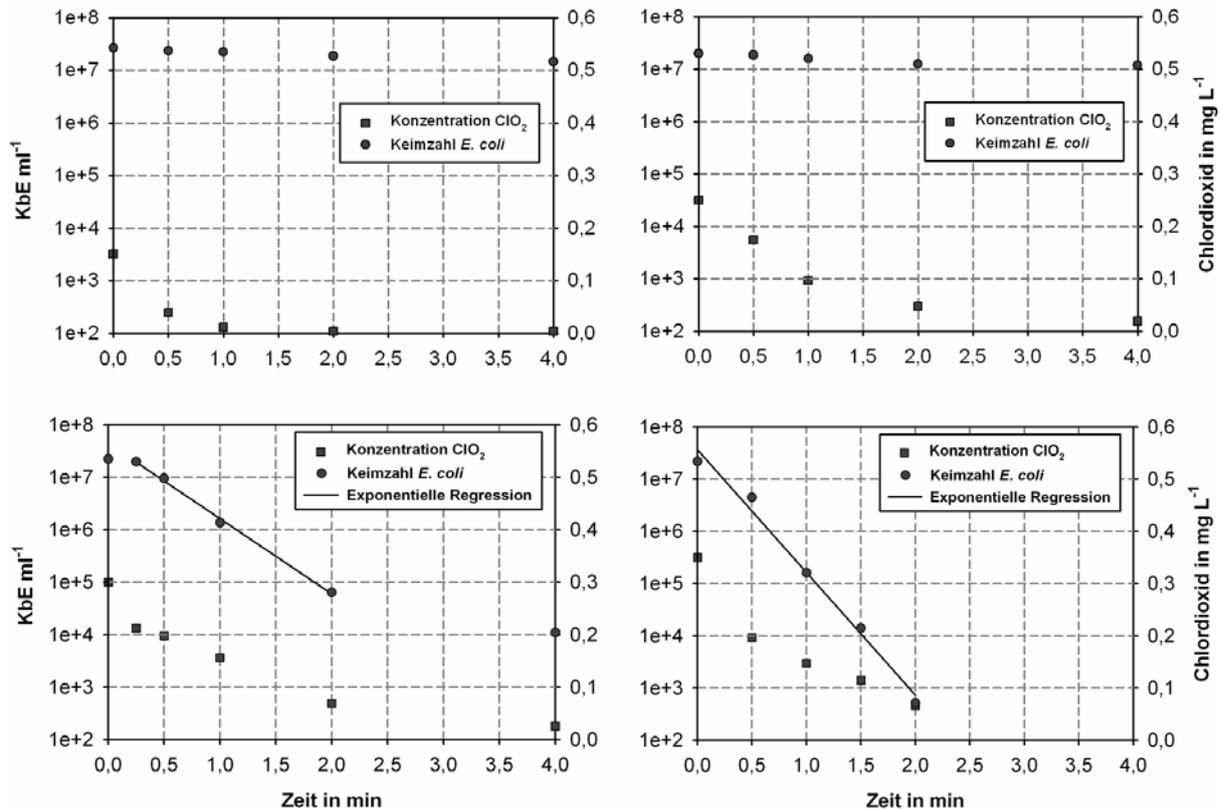


Abbildung 6.1: Beispiele für den Verlauf der Lebendkeimzahl und der Chlordioxidkonzentration über der Zeit für verschiedene Startkonzentrationen ($C_0 = 0,15; 0,25; 0,30$ und $0,35 \text{ mg L}^{-1}$) an Chlordioxid (Startkeimzahl $\sim 2 \cdot 10^7 \text{ ml}^{-1}$, $20 \text{ }^\circ\text{C}$).

Die Chlordioxidkonzentrationen nehmen dabei typischerweise binnen der ersten Sekunden sehr schnell und dann im weiteren Verlauf langsamer mit einem exponentiellen Verlauf ab (vergleiche auch Abbildung 6.2). Sowohl der erste Abfall in der ClO_2 -Konzentration als auch der y-Achsenabschnitt der folgenden exponentiellen Abnahme nehmen mit steigender Startkonzentration proportional zu. Die Reaktionsgeschwindigkeiten der weiteren exponentiellen ClO_2 -Abnahmen liegen jedoch unabhängig von den Startkonzentrationen in ähnlicher Größenordnung (Geschwindigkeitskonstante $k_q \sim 0,4 - 0,8 \text{ min}^{-1}$).

Trotz dieser anfänglichen schnellen Reduzierung der Startkonzentration an Chlordioxid ist ab der Schwellkonzentration von $C_0 = 0,30 \text{ mg L}^{-1}$ eine konstante Inaktivierungsrate der Keime beobachtbar, die eine absolute Inaktivierung von meist mehr als 99,99 % nach 3 bis 6 Minuten erreicht (vergleiche hierzu Abbildung 6.3). Unterhalb der Schwelle von $C_0 = 0,30 \text{ mg L}^{-1}$ an Start- ClO_2 bis $C_0 = 0,25 \text{ mg L}^{-1}$ wurde teilweise noch eine absolute Inaktivierung von über 99 % erreicht. Unterhalb von $C_0 = 0,25 \text{ mg L}^{-1}$ zeigt sich ein Verlauf der Keimzahlen wie in den oberen beiden Diagrammen in Abbildung 6.1 und die absolute Inaktivierung (mindestens 3 Minuten Betrachtungszeitraum) erreicht nicht mehr als 30 – 60 % der Startkeimzahl (Ausnahme bei $C_0 = 0,23 \text{ mg L}^{-1}$). Das Chlordioxid wird binnen des Betrachtungszeitraums von 3 Minuten meist komplett verbraucht und eine nahezu konstante Endkeimzahl erreicht. Bei hohen Startkonzentrationen an Chlordioxid ($> 0,40 \text{ mg L}^{-1}$) wird meist eine Inaktivierung unter die Nachweisgrenze von 20 Keime pro ml erreicht. Die Werte in Abbildung 6.3 entsprechen somit meist der letzten noch messbaren Keimzahl.

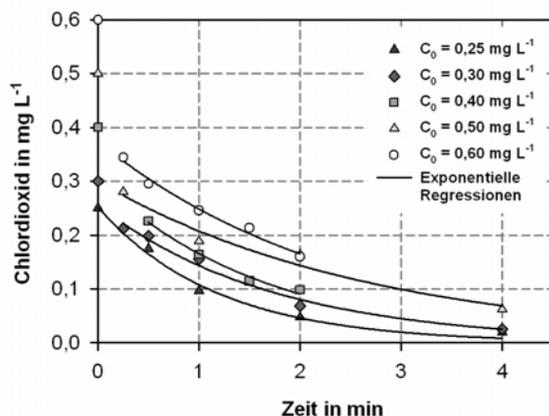


Abbildung 6.2: Verlauf der Chlordioxidkonzentration über der Zeit für verschiedene Startkonzentrationen bei der Inaktivierung von $2 \cdot 10^7 \text{ E. coli ml}^{-1}$.

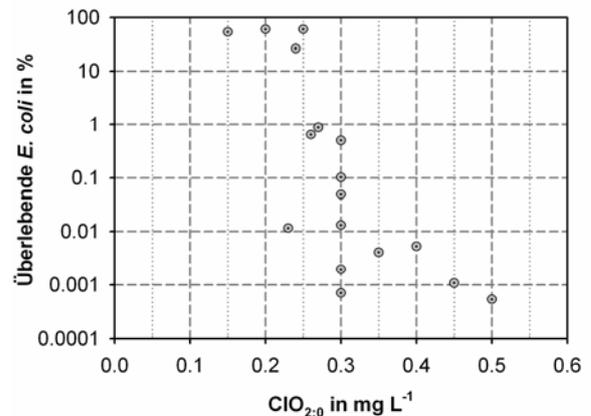


Abbildung 6.3: Gemessene Endkeimzahlen (> 3 Minuten Inaktivierungszeit) in % zu Startkeimzahl bei verschiedenen Startkonzentrationen an ClO_2 .

Unter der Einschränkung, dass eine konstante Inaktivierungsgeschwindigkeit für mindestens 2 Dekaden an Keimzahlreduktion vorliegt, können die gewonnenen Geschwindigkeitskonstanten der Inaktivierung zur Bestimmung von t_{99} Zeit für die 99 % Inaktivierung der Startkeimzahl) für die doppelt logarithmischen Darstellung über

der Startkonzentration C_0 verwendet werden (Entsprechend dem C^*t -Konzept unter Verwendung von Gleichung 3). Dabei entspricht t_{99} der Zeit, die für eine Keimzahlreduktion um 99 % der Startkeimzahl nötig ist. Für die Konzentration wurde die Startkonzentration C_0 gewählt, wie es meist auch nach dem klassischen Ansatz der „Watson-Chick“-Kinetik und dem C^*t -Konzept üblich ist. Auch ist die Startkonzentration rein messtechnische am genauesten bestimmbar und empfiehlt sich somit auch deswegen als Bezugspunkt.

In Abbildung 6.4 sind die t_{99} über der entsprechenden Startkonzentration an ClO_2 aufgetragen und die Abhängigkeit (für $C_0 > 0,30 \text{ mg L}^{-1}$ und eine Wert für $C_0 = 0,30 \text{ mg L}^{-1}$) linear angenähert und das Konfidenzintervall von 95 % bestimmt. Die Steigung der Geraden ergibt sich dabei zu $-0,7$. Das entspricht einem Verdünnungsfaktor von $n = 0,7$ (nach Gleichung 4). Innerhalb der Konfidenz von 95 % wären Steigungen von $-0,4$ bis $-1,0$ möglich (bei Betrachtung der maximalen unteren und oberen Grenzen des Intervalls). Die Unsicherheit des Verdünnungsfaktors ergibt sich somit zu $\pm 22 \%$ (eine Standardabweichung).

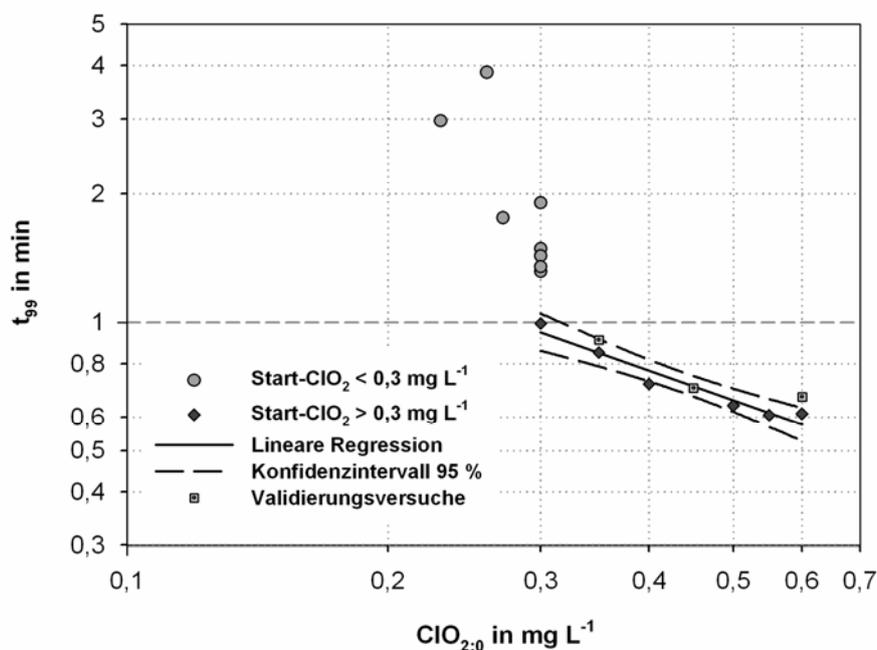


Abbildung 6.4: Doppelt logarithmische Auftragung der benötigten Zeit in Minuten für eine Inaktivierung von 99 % der Startkeimzahl über der Startkonzentration an Chlordioxid (Startkeimzahl $\sim 2 \cdot 10^7 \text{ KbE ml}^{-1}$, $20 \text{ }^\circ\text{C}$).

Drei Startkonzentrationen wurden dabei in zusätzlichen Experimenten zur Validierung der beobachteten Abhängigkeit untersucht (quadratische graue Messpunkte). Die dabei beobachteten t_{99} befinden sich bis auf den Wert bei $C_0 = 0,60 \text{ mg L}^{-1}$ innerhalb des Konfidenzintervalls. Die Steigung einer linearen Näherung durch diese drei Messwerte würde jedoch mit $-0,8$ im Rahmen der Standardabweichung die zuvor bestimmte Kinetik bestätigen.

In der Abbildung 6.4 sind darüber hinaus auch diejenigen Messwerte aufgetragen, die bei einer Startkonzentration von $\leq 0,30 \text{ mg L}^{-1}$ eine Keimzahlreduktion von über 99 % erreichten. Bei einigen dieser Versuche zeigte sich aber schon eine beginnende Reduktion der Inaktivierungsgeschwindigkeit noch vor Erreichen der 99 % an Inaktivierung, so dass diese Versuchsreihen nicht mehr mit dem klassischen Ansatz nach Reaktion pseudo erster Ordnung beschrieben werden konnten. Folglich wurden sie auch für die Bestimmung des Verdünnungsfaktors nicht mehr berücksichtigt (ausgenommen dem niedrigsten Messwert bei $C_0 = 0,30 \text{ mg L}^{-1}$).

Dass die bestimmte Kinetik, trotz des sich bei solch hohen Startkeimzahlen schnell verbrauchenden Chlordioxids, über einer Startkonzentration von $C_0 = 0,30 \text{ mg L}^{-1}$ ebenso gültig ist, kann mit Abbildung 6.5 und 6.6 noch bestätigt werden. In Abbildung 6.5 wurden die entsprechenden t_{99} bei je der gleichen Startkonzentration an ClO_2 von $0,30 \text{ mg L}^{-1}$ für verschiedenen Startkeimzahlen ($2 \cdot 10^6 - 5 \cdot 10^7 \text{ KbE ml}^{-1}$) aufgetragen und bis zu einer Startkeimzahl von $2 \cdot 10^7 \text{ KbE ml}^{-1}$ linear angenähert und das Konfidenzintervall von 95 % bestimmt. Es zeigt sich dabei ein nahezu konstanter Wert des t_{99} von $1,16 \pm 0,19 \text{ min}$ (1 Standardabweichung). Dabei konnte bei den Versuchen bei den niedrigen Startkeimzahlen ($< 5 \cdot 10^6 \text{ KbE ml}^{-1}$) für die Dauer des ganzen Versuchs nur ein geringer Verbrauch an Chlordioxid festgestellt werden. Die Reduzierung der Startkonzentration belief sich nach 4 Minuten um 15 % des Anfangswertes von $0,30 \text{ mg L}^{-1}$ (Daten nicht gezeigt). Unter diesen Bedingungen ist eine Gleichsetzung der effektiv wirkenden ClO_2 -Konzentration mit der Startkonzentration definitiv gültig. Somit lässt sich die Kinetik auch bei $0,30 \text{ mg L}^{-1}$ an ClO_2 beschreiben, solange die Startkeimzahl unter $2 \cdot 10^7 \text{ KbE ml}^{-1}$ liegt. Die Berechnung des $C_0^n \cdot t_{99}$ als Mittelwert aus den gemessenen t_{99} ergibt hier $0,35 \text{ mg L}^{-1} \text{ min}$.

In Abbildung 6.6 sind zum Vergleich für eine relativ niedrige Startkeimzahl von $\sim 2 \cdot 10^6 \text{ KbE ml}^{-1}$ die t_{99} über der jeweiligen Startkonzentration an ClO_2 aufgetragen.

Auch bei diesen Versuchen stellte sich, unabhängig von der Startkonzentration, nur ein geringer Verbrauch an ClO_2 ein. Die Annahme mit $C = C_0$ ist somit auch hier für alle Versuche gegeben. Zum Vergleich ist die bestimmte lineare Korrelation mit Konfidenzintervall aus Abbildung 6.4 mit aufgetragen (mit Extrapolation bis zu den Achsen). Die beobachteten t_{99} bei der Startkeimzahl von $\sim 2 \cdot 10^6$ KbE ml^{-1} befinden sich bis auf 2 Werte innerhalb der 95 % Konfidenz. Tendenziell scheint die Inaktivierungsgeschwindigkeit bei der niedrigen Startkeimzahl von $1 \cdot 10^6$ KbE ml^{-1} sogar etwas geringer auszufallen als bei der höheren Startkeimzahl von $2 \cdot 10^7$ KbE ml^{-1} . Der Verdünnungsfaktor mit $n = 0,9$ unterscheidet sich unter Berücksichtigung der Varianz nicht wesentlich von dem bei $2 \cdot 10^7$ KbE ml^{-1} an Startkeimzahl ($n = 0,7$). Die Berechnung des mittleren $C_0^{n \cdot t_{99}}$ kann hier mit n nahezu an 1 durchgeführt werden und ergibt $0,33 \text{ mg L}^{-1} \text{ min}$. Dieser Wert stimmt mit dem aus Diagramm 6.5 berechnetem Wert von $0,35 \text{ mg L}^{-1} \text{ min}$ nahezu überein.

Die Gültigkeit der vorliegende „Watson-Chick“-Kinetik lässt sich innerhalb dieser Grenzen (Startkeimzahl $< 2 \cdot 10^7$ KbE ml^{-1} und Start- $\text{ClO}_2 \geq 0,30 \text{ mg L}^{-1}$) somit bestätigen.

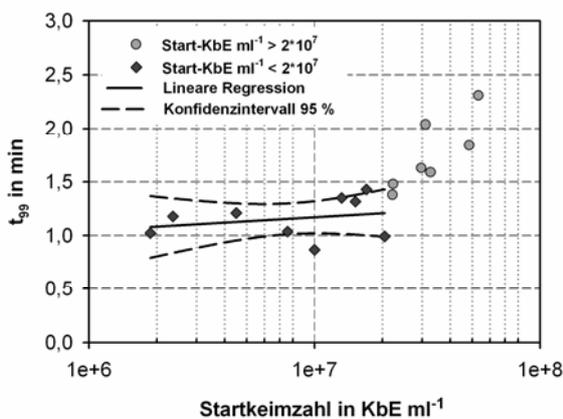


Abbildung 6.5: Vergleich der t_{99} über verschiedene Startkeimzahlen an *E. coli* bei einer konstanten ClO_2 -Startkonzentration von $C_0 = 0,30 \text{ mg L}^{-1}$.

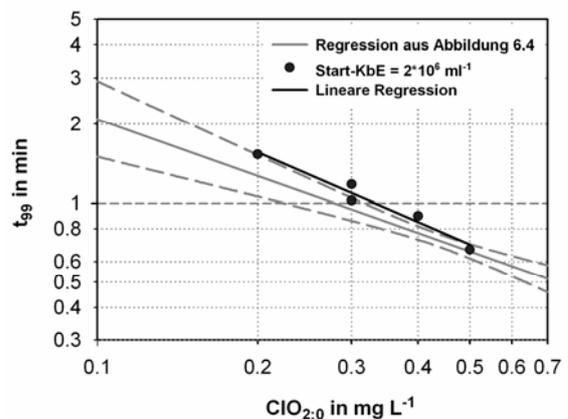


Abbildung 6.6: Vergleich der t_{99} über der Startkonzentration an ClO_2 bei einer Startkeimzahl von $2 \cdot 10^6$ KbE ml^{-1} mit der Regression aus Abb. 6.4.

6.1.2. Einfluss der Temperatur

In Abbildung 6.7 sind beispielhaft die Auswirkungen einer Temperaturänderung auf den zeitlichen Verlauf der Keimzahl dargestellt (je $0,30 \text{ mg L}^{-1}$ Start- ClO_2 und $\sim 2 \cdot 10^7$ Start-KbE ml^{-1}). Eine Temperaturerhöhung bewirkt eine deutliche Verkürzung der Inaktivierungszeit und damit einhergehend eine Zunahme der Inaktivierungsgeschwindigkeit. Bei den niedrigen Temperaturen von 10 und 20 °C kann eine anfängliche Verzögerung der Inaktivierung beobachtet werden, während bei den hohen Temperaturen eine Reduzierung der Inaktivierung schneller erreicht wird. Die Chlordioxidkonzentrationen nehmen ebenfalls mit steigender Temperatur schneller ab. Bei 40 °C beispielsweise ist es bereits nach zwei Minuten komplett verbraucht (Daten nicht gezeigt). Die erreichbaren absoluten Keimzahlen liegen aber bei allen Temperaturen in ähnlicher Größenordnung (bei 10 °C und 20 °C wurde der endgültige Wert noch nicht erreicht). Die absolute Inaktivierung von ungefähr $99,99$ % bei $0,30 \text{ mg L}^{-1}$ lässt sich durch Temperaturerhöhung nicht steigern.

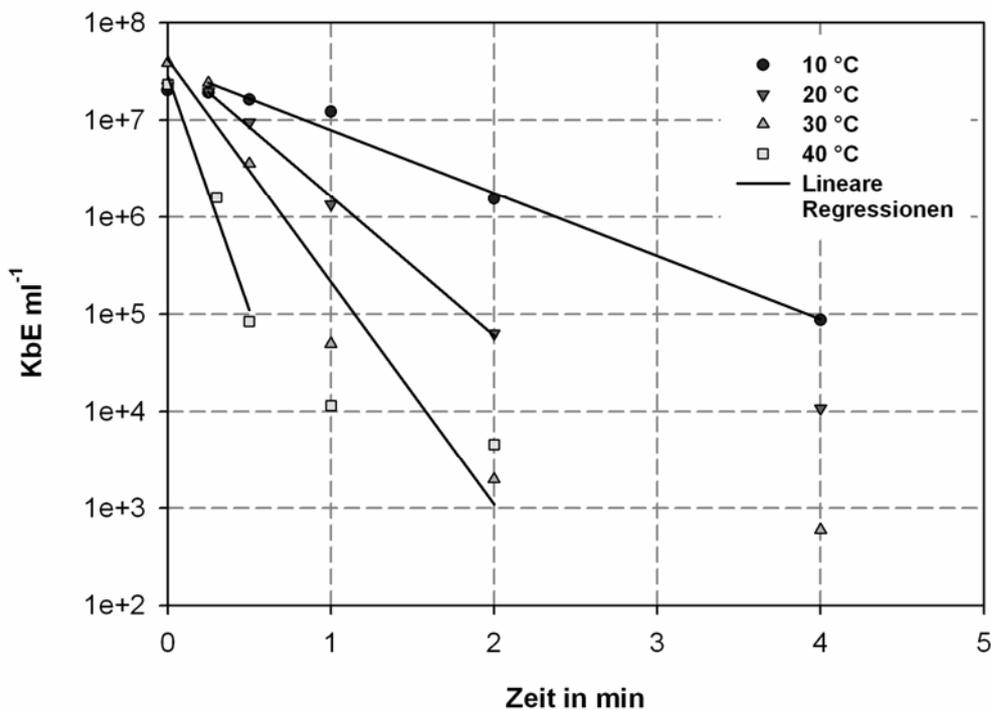


Abbildung 6.7: Verlauf der Lebendkeimzahl (KbE ml^{-1}) für verschiedene Temperaturen ($C_0 = 0,30 \text{ mg L}^{-1} \text{ ClO}_2$, Start-KbE $\sim 2 \cdot 10^7 \text{ ml}^{-1}$).

Die Temperaturabhängigkeit des $C_0^{n^*}t_{99}$ bei einer konstanten Startkonzentration von $C_0 = 0,30 \text{ mg L}^{-1} \text{ ClO}_2$ bei einer Startkeimzahl von $\sim 2 \cdot 10^7 \text{ KbE ml}^{-1}$ ist in Abbildung 6.8 dargestellt. Die $C_0^{n^*}t_{99}$ wurde dabei mit einer potentiellen Funktion ($y = a \cdot x^{-b}$) genähert. Trägt man die nach der Gleichung 5 berechneten Geschwindigkeitskonstanten k in einem Arrhenius-Plot logarithmisch über dem Kehrwert der absoluten Temperatur in Kelvin auf, so ergibt sich eine lineare Näherung nach Abbildung 6.9. Das relativ schmale Konfidenzintervall von 95 % deutet auf eine lineare Abhängigkeit hin und auch der quadratische Standardfehler liegt mit $R^2 = 0,94$ noch hoch genug um die Korrelation die Temperaturabhängigkeit der Desinfektion von *E. coli* mittels Chlordioxid nach Arrhenius zu bestätigen.

Dabei kann aus dem y-Achsenabschnitt den Frequenzfaktor $\text{Ln } k_0$ abgelesen und aus der Steigung der Geraden die Aktivierungsenergie E_a berechnet werden, indem man diese durch die universelle Gaskonstante R teilt. Hierbei ergeben sich für den logarithmierten Frequenzfaktor $\text{Ln } k_0 = 21 \text{ Ln (L mg}^{-1} \text{ min}^{-1})$ oder $k_0 = 1,3 \cdot 10^9 \text{ L mg}^{-1} \text{ min}^{-1}$ und für die Aktivierungsenergie $E_a = 45 \text{ kJ mol}^{-1}$.

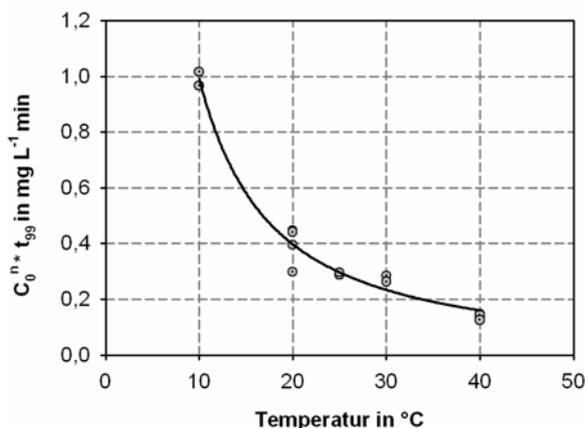


Abbildung 6.8: Auftragung der $C_0^{n^*}t_{99}$ über der Temperatur bei konstanter $C_0 = 0,30 \text{ mg L}^{-1}$ Chlordioxid und $\sim 2 \cdot 10^7$ Start-KbE ml^{-1} (Potentielle Regression).

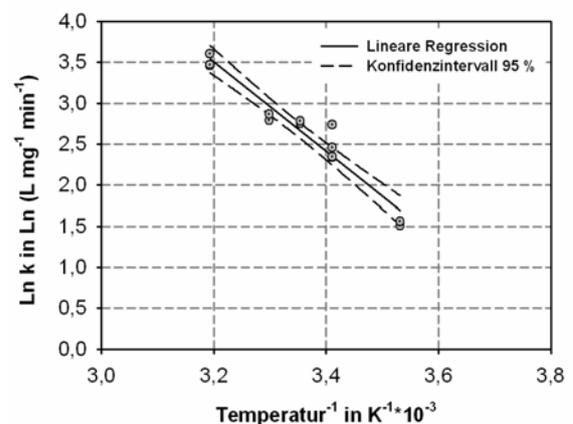


Abbildung 6.9: Arrhenius-Plot der Inaktivierungskonstanten k über dem Kehrwert der Temperatur in Kelvin ($C_0 = 0,30 \text{ mg L}^{-1} \text{ ClO}_2$, $\sim 2 \cdot 10^7$ Start-KbE ml^{-1}).

6.1.3. Diskussion

Abhängig von den einzelnen Versuchsbedingungen (Startkeimzahl, Chlordioxid-Startkonzentration, Temperatur) zeigen sich tendenziell alle Varianten an

Inaktivierungskurvenverläufen wie sie auch von Gyürek et al. (1998) oder Hoff und Akin (1986) vorgestellt werden. Dabei liegen die hier beobachteten Effekte aber nicht in der Diversität der Kultur begründet, da ausschließlich eine Monokultur an *E. coli* verwendet wurde. Auch eine Diversität auf Grund der vorgehenden Wachstumsbedingungen, wie nach Berg et al. (1982 und 1986) beschrieben wurde, kann wahrscheinlich ausgeschlossen werden, da hier Zellen konstant aus der stationären Phase bei sonst immer gleichen Kultivierungsbedingungen verwendet wurden. Die hier beobachteten Effekte der sich steigernden Inaktivierung liegen mehr in der Startkonzentration an Chlordioxid und der Temperatur begründet. Ähnlich wie von Ruffel et al. (2000) für die Inaktivierung von *Oozysten* schon festgestellt werden konnte, reduziert sich auch hier die Ausbildung einer anfängliche Verzögerung der Inaktivierungsgeschwindigkeit mit steigender Temperatur. Auch Benarde et al. (1967b) konnten dies bei der Inaktivierung von *E. coli* mittels Chlordioxid bestätigen. Sie kompensieren dies durch die Auftragung der Keimzahl über dem Quadrat der Inaktivierungszeit (Benarde et al., 1967a), um so eine bessere Korrelation zu erhalten und den entsprechenden Einfluss der Temperatur extrapolieren zu können. Bei den Datensätzen hier wurde aber für die Auswertung die Verzögerungs-Kinetik (Rennecker et al., 1999; Rennecker et al., 2001) herangezogen, bei der diese anfängliche Verzögerung der Inaktivierung bei der Betrachtung der nachfolgenden exponentiellen Reduktion der Keimzahl nicht berücksichtigt wird.

Auch die hier teilweise festgestellte Reduzierung der Verzögerungszeit mit steigender Konzentration an Chlordioxid konnte durch Fernando und Othman (2006) schon festgestellt werden. Sie begründen dies bei der Inaktivierung von *B. subtilis* durch Ozon mit steigendem Diffusionsdruck und damit steigendem Stofftransport des Desinfektionsmittels durch die Zellhülle zu den effektiveren inneren Wirkorten in der Zelle.

Die Reduzierung der Inaktivierungsgeschwindigkeit mit der Zeit ist vornehmlich durch den zumeist kompletten Verbrauch an Chlordioxid begründet und weniger durch Effekte wie Klumpenbildung oder Heterogenitäten in der Population. Meist wurde ab entsprechenden Konzentrationen von $> 0,35 \text{ mg L}^{-1} \text{ ClO}_2$ eine Inaktivierung bis zur Nachweisgrenze der Keimzahlbestimmung (minimal 20 KbE ml^{-1} detektierbar), bei immer noch vorhandenen geringen Restkonzentrationen an ClO_2 festgestellt. Selten wurde hierbei im weiteren Verlauf der Inaktivierung eine Reduzierung der Inaktivierungsgeschwindigkeit festgestellt (Inaktivierung dabei meist aber schon $>$

99,99 %). Diese ist dann eventuell doch auf Zellagglomerate aufgrund ungenügender Homogenisierung bei der Resuspendierung zurückzuführen. Auch bei Roller et al. (1980) ließ sich trotz Verwendung von *E. coli* Laborkulturen in reinen Pufferlösungen eine Reduzierung der Inaktivierungsgeschwindigkeit (ab > 99,9 % Inaktivierung) erkennen, obwohl auch hier noch wirksame Restkonzentrationen an Chlordioxid vorhanden waren.

Die Zehrung an Chlordioxid ist dabei generell, ähnlich wie bei Roller et al. (1980), die auch *E. coli* in der Größenordnung von 10^8 KbE ml⁻¹ verwendeten, binnen der ersten Minute am größten und macht dabei meist mehr als 60 % der Gesamtzehrung aus. Auch für *E. coli* und Chlor wurden von Shang und Blatchley (2001) eine Art zweiphasige jeweils exponentielle Zehrung an Desinfektionsmittel festgestellt. Hier dauert die erste Phase des rapiden Abfalls der Chlorkonzentration aber meist 4 – 5 Minuten bis sich dann eine geringere Verbrauchsgeschwindigkeit für die Folgezeit einstellte.

Trotz dieses ersten starken Abfalls der Konzentration ist aber auch hier nicht sofort eine Abweichung von der Reaktion pseudo erster Ordnung zu erkennen (konstante Inaktivierungsgeschwindigkeit bezüglich der Keimzahlreduktion). Zu erwarten wäre hier eigentlich eine Reduktion der Inaktivierung nach den Modellen von Hom (1972, Gleichung 7) oder dem IQ-Modell von Lambert und Johnston (2001, Gleichung 8). Auch bei Roller et al. (1980) zeigt sich eine abweichende Kinetik erst mit dem nahezu kompletten Verbrauch an Chlordioxid. Auch Helbling und VanBriesen (2007) stellten eine durchweg konstante Inaktivierung von *M. aurum* für die Dauer von bis zu einer Stunde fest, obwohl die Konzentration an Chlor schon nach 20 Minuten auf nur mehr 30 % der Startkonzentration reduziert wurde. Die Ursache liegt vermutlich darin, dass sowohl in dieser Arbeit als auch bei den gerade erwähnten Gruppen die Zehrung an Desinfektionsmittel durch die Biomasse selbst und nicht durch zusätzlichen passiven organischen Ballast, welcher einen zusätzlichen Verbrauch an Chlordioxid darstellt, bewirkt wurde. Entsprechend reichen dann auch immer geringere Restkonzentrationen aus, um die individuelle letale Dosis der sich verringenden Zahl an überlebenden Bakterien zu erreichen.

Die Interpretation, dass eine sich reduzierende Konzentration an Chlordioxid für eine weitere konstante Inaktivierungsgeschwindigkeit ausreicht, würde sich mit der Modellvorstellung der „letalen Dosis“ nach Najm (2006) oder auch den Vorstellungen

der *Multi-Hit*-Modelle (Oliver and Shipston, 1964) decken. Nach diesen Modellen wird nach dem Erreichen einer gewissen Dosis am Anfang der Inaktivierung die Schwelle zum Erreichen einer letalen Dosis immer mehr herabgesetzt. Folglich reichen auch die sich verringernden Konzentrationen an ClO_2 für die Fortführung der Inaktivierung nach Reaktion erster Ordnung weiter aus und stehen in keinem Widerspruch zu der hier über weite Zeitbereiche beobachtbaren konstanten Inaktivierungsgeschwindigkeit ohne Einfluss der sich zeitlich verändernden Chlordioxidkonzentration.

Mit den *Multi-Hit*-Modellen würde sich auch die Existenz der minimal wirksamen Konzentration von $0,25 \text{ mg L}^{-1}$ an ClO_2 bei einer Startkeimzahl von $2 \cdot 10^7 \text{ KbE ml}^{-1}$ in gewisser Weise erklären lassen, da unterhalb einer Chlordioxidkonzentration von $0,25 \text{ mg L}^{-1}$ (bis auf eine Ausnahme) generell fast keine Inaktivierung mehr erreicht wurde. Nach dem *Multi-Hit*-Modell wäre es vorstellbar, dass die letale Dosis an Chlordioxid auch unter idealen Bedingungen (jedes Chlordioxidmolekül trifft ein Bakterium) generell nicht mehr für alle Bakterien zur Verfügung steht und die sich schnell reduzierende Konzentration an Chlordioxid nur noch für die Inaktivierung (Erreichen der letalen Dosis) von weniger als 40 % der Keime (wie hier für Startkonzentrationen $< 0,25 \text{ mg L}^{-1}$ ClO_2 beobachtet wurde) ausreicht. Ähnliche Beobachtungen einer 2-phasigen Inaktivierungsabhängigkeit von der Startkonzentration an Chlordioxid machten auch Taylor et al. (2000) bei der Inaktivierung von *M. avium*. Auch sie stellten für einen Stamm eine Grenz-Startkonzentration von $0,75 \text{ mg L}^{-1}$ fest, bis zu der fast keine Inaktivierung beobachtbar war, oberhalb dieser aber eine Steigerung der Inaktivierungsgeschwindigkeit mit zunehmender Startkonzentration.

Bei den Versuchen mit der Startkeimzahl von $2 \cdot 10^6 \text{ KbE ml}^{-1}$ zeigte sich aber bei einer Startkonzentration von $0,15 \text{ mg L}^{-1}$ noch eine Inaktivierung von weit über 99 % (Daten nicht gezeigt). Die Schwellenkonzentration ist folglich von der Startkeimzahl aufgrund des schnellen Verbrauch des Chlordioxids an dem organischen Ballast der Zellen selbst, abhängig. Auch Ayildiz et al. (2009) fanden eine Abnahme der Inaktivierung mit der Zunahme der Konzentration an organischer Last (gemessen in Form von chemischen Sauerstoffbedarf CSB in mg L^{-1}). Bei ihnen wurde aber keine charakteristische Schwellenkonzentration beobachtet, sondern die Inaktivierung reduzierte sich dabei mit steigendem CSB exponentiell gegen 0. Dies mag an dem Unterschied liegen, dass hier die Keime selbst als organischer Ballast dienten und

bei Ayildiz et al. geringere Startkeimzahlen unter Beimengung von organischem Material verwendet wurde. Sie definierten eine CSB zu ClO₂-Ratio und fanden eine Reduktion der Inaktivierung auf unter 90 % bei einem Wert von ~ 100 mg L⁻¹ pro mg L⁻¹. Der hier identifizierte Wert würde sich für weniger als 40 % Inaktivierung ebenfalls zu 100 ergeben (bei 2*10⁷ KbE ml⁻¹ entsprechend 25 mg L⁻¹ BTM zu 0,25 mg L⁻¹ ClO₂ als Schwellenkonzentration).

Unabhängig davon konnte aber die Gültigkeit der „Watson-Chick“-Kinetik und des C*t-Konzepts (Gleichungen 1 – 4) auch unter der Vereinfachung von C_{t;ClO₂} = C_{0;ClO₂} für die Betrachtungsgrenzen von C₀ ≥ 0,30 mg L⁻¹ ClO₂ und Startkeimzahl ≤ 2*10⁷ KbE ml⁻¹ bewiesen werden. Somit sind auch die Betrachtungen des Temperatureinflusses oder der, noch in den folgenden Kapiteln zu beschreibenden, Einflüsse der Kavitation mit diesem Modell valide.

Betrachtet man den Bereich über 0,35 mg L⁻¹ ClO₂ bei der Startkeimzahl von 2*10⁷ KbE ml⁻¹ und 20 °C, so ergibt sich ein gemittelter C₀ⁿ*t₉₉ in der Größenordnung von 0,33 ± 0,04 mg L⁻¹ min (die hohe Standardabweichung ist auch durch den Verdünnungsfaktor ≠ 1,0 begründet), welcher innerhalb der für die Temperatur in der Literatur beschriebenen Werte von 0,07 – 0,45 mg L⁻¹ min liegt. Der Verdünnungsfaktor liegt hier jedoch eher niedrig bei 0,7 und damit (mit Berücksichtigung der Standardabweichung von 22 % jedoch nicht signifikant) am unteren Ende der in der Literatur meist beschriebenen Werte von 0,8 – 1,3.

Betrachtet man den Temperatureinfluss auf die Inaktivierung, so zeigt sich eine Erhöhung der Inaktivierungsrate um den Faktor 1,5 – 2 pro 10 °C, der im Schnitt in der Größenordnung von der von Benarde et al. (1965) beobachteten Erhöhung von 1,7 pro 10 °C liegt. Vergleicht man den Arrhenius-Plot und die daraus resultierenden Berechnungen für die Aktivierungsenergie und den Frequenzfaktor, so liegen diese mit E_a = 45 kJ mol⁻¹ und Ln k₀ = 21 Ln (L mg⁻¹ min⁻¹) etwas unter den Werten von Benarde et al. (1965) mit E_a = 62 – 68 kJ mol⁻¹ und Ln k₀ = 21 – 34 Ln (L mg⁻¹ min⁻¹). Junli et al. (1997) fanden jedoch eine noch niedrigere Aktivierungsenergie mit E_a = 19 kJ mol⁻¹ für *E. coli* und Chlordioxid.

6.2. Wirkung von hydrodynamischer Kavitation auf *E. coli*

In diesem Kapitel werden die Effekte der bloßen hydrodynamischen Kavitation auf *Escherichia coli* Zellen genauer erläutert. Da Kavitation sowie neuerdings die hydrodynamische Kavitation als alternative Zellaufschlussmethode beschrieben sind, werden nachfolgend entsprechende Ergebnisse zur Inaktivierung (letalen Schädigung), zur Proteinextraktion eines intrazellulären Proteins und im Vergleich dazu die Freisetzung eines niedermolekularen Farbstoffes aus der Zelle dargestellt.

6.2.1. Zellinaktivierung und Proteinfreisetzung

Für die Untersuchung der Proteinextraktion wurde *E. coli* JM 101 verwendet, der nach Induktion mit Laktose das Enzym β -Galaktosidase (Molekulargewicht ~ 71 kDa) überexprimiert und löslich in hohen Konzentrationen im Inneren der Zelle akkumuliert. Eine erfolgreiche Desintegration dieser Zellen mit Kavitation sollte eine Freisetzung des Proteins in den Überstand bewirken. Durch Enzymaktivitätsbestimmung ist die freigesetzte Menge messbar. Abbildung 6.10 und 6.11 zeigen die im Überstand gemessenen Enzymaktivitäten pro Liter Medium über der Anzahl der Passagen durch die Lochblende und dem Mikrogitter mit Nachlaufdüse. Dabei wurden zum einen die optische Zelldichte von 0,05 (entspricht einer Menge von 25 mg L^{-1} Biotrockenmasse) und zum anderen die optische Dichte von 4,0 ($2,0 \text{ g L}^{-1}$ Biotrockenmasse) verwendet. Die Versuchsbedingungen waren dabei $25 \text{ }^\circ\text{C}$, Phosphatpuffer bei pH 7 und $0,4 \text{ L s}^{-1}$ für das Mikrogitter mit Nachlaufdüse ($C_v = 0,14$) und $0,38 \text{ L s}^{-1}$ für die Lochblende. Dies entspricht bei ihr einer Kavitationszahl von $C_v = 0,13$, welche sich in vorhergehenden Versuchen als effektiv gezeigt hatte (Daten nicht gezeigt) und die auch in der Größenordnung des in der Literatur vorgeschlagenen Optimums der Kavitationszahl von 0,17 liegt.

Es zeigt sich bei beiden optischen Dichten (OD) generell eine basale Enzymaktivität im Überstand der Blindproben. Diese Aktivität kann auf eine Schädigung der Zellen durch die vorgehende Behandlung (Zellernte, Waschen und Resuspendierung) zurückgeführt werden. Bedingt durch die unterschiedlichen Standzeiten bis zur Verwendung der *E. coli*-Zellen in der Versuchsanlage ergeben sich hierbei auch Unterschiede zwischen den einzelnen Versuchsreihen. Die Blindproben hatten dabei jedoch immer die gleiche Standzeit wie die zu jedem Versuch mit Kavitation

behandelten Proben und entsprechen somit den jeweiligen „Null-“ beziehungsweise „Blindwerten“ ohne Kavitation.

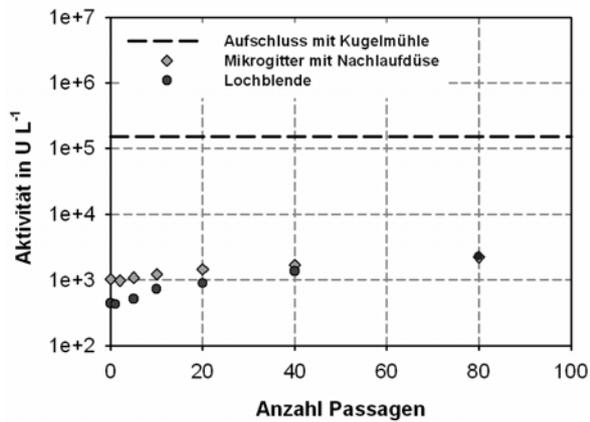


Abbildung 6.10: Vergleich der β -Galaktosidaseaktivitäten im Überstand nach entsprechender Anzahl an Passagen von *E. coli* durch Lochblende und Mikrogitter mit Nachlaufdüse bei einer optischen Dichte von 0,05.

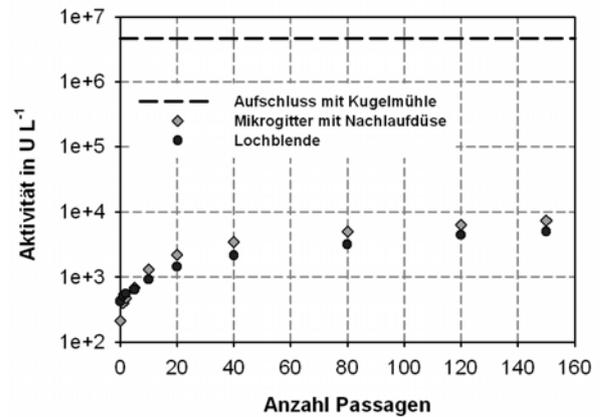


Abbildung 6.11: Vergleich der β -Galaktosidaseaktivitäten im Überstand nach entsprechender Anzahl an Passagen von *E. coli* durch Lochblende und Mikrogitter mit Nachlaufdüse bei einer optischen Dichte von 4,0.

Entsprechend der eingesetzten Zellkonzentration (OD 0,05 oder 4,0) werden dabei unterschiedlich hohe maximale Enzymaktivitäten pro Liter erreicht (Aufschluss durch Kugelmühle bei 30 Hz für 10 min, gestrichelte Linien). Bei einer OD von 0,05 wird dabei im Mittel $1,5 \cdot 10^5$ U L⁻¹ an Aktivität erreicht während bei der OD von 4,0 im Mittel mit $5,5 \cdot 10^6$ U L⁻¹ auch eine entsprechend um 37-fach höhere Aktivität erreicht wird.

Die im Gegensatz dazu erreichten Aktivitäten mittels Freisetzung durch Kavitation liegen jeweils um 2 - 3 Größenordnungen geringer. Es zeigt sich jedoch bei beiden Kavitationsapparaturen ein eindeutiger Anstieg der Aktivität im Überstand der Proben mit steigender Anzahl durchlaufener Passagen.

Um eine Einstufung der Größenordnung des Freisetzungsgrades bewerten zu können, werden die Enzymaktivitäten mit Bezug auf die Biotrockenmasse (U g⁻¹) relativ zu der Referenz des Kugelmühlenaufschlusses aufgetragen. Es ergeben sich dabei die Freisetzungsgrade in % über der Anzahl an durchlaufenen Passagen nach Abbildung 6.12 und 6.13.

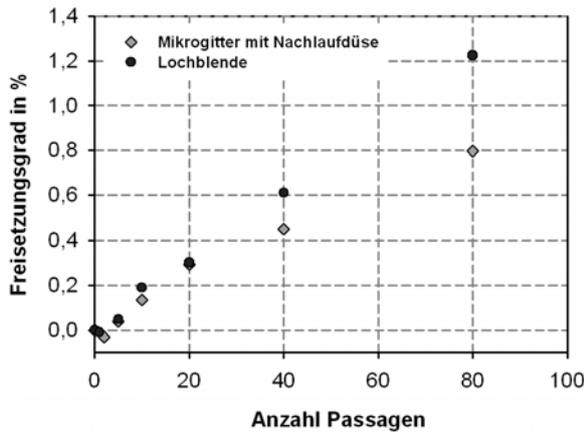


Abbildung 6.12: Vergleich des erzielten Aufschlussgrades in % bei hydrodynamischer Kavitation mit Lochblende und Mikrogitter mit Nachlaufdüse gemessen als β -Galaktosidaseaktivität im Überstand bei einer OD von 0,05.

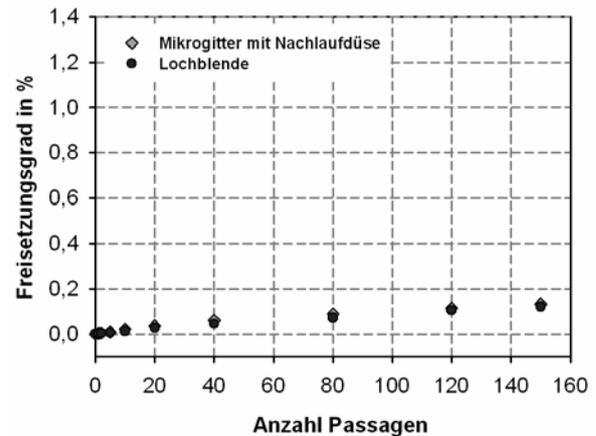


Abbildung 6.13: Vergleich des erzielten Aufschlussgrades in % bei hydrodynamischer Kavitation mit Lochblende und Mikrogitter mit Nachlaufdüse gemessen als β -Galaktosidaseaktivität im Überstand bei einer OD von 4,0.

Bei der optischen Dichte von 0,05 nimmt die Freisetzung näherungsweise linear mit der Anzahl der Passagen zu. Bei der optischen Dichte von 4,0 jedoch nimmt zu Beginn der Behandlung die Aktivität etwas schneller zu als im weiteren Verlauf. Bei dem Mikrogitter mit Nachlaufdüse ist dies noch etwas stärker und eindeutiger ausgeprägt (vergleiche hierzu auch Abbildung 6.11).

Der Freisetzungsgang nach 80 Passagen liegt dabei bei einer optischen Dichte von 0,05 für beide Kavitationsapparaturen um eine Größenordnung höher als bei einer OD von 4,0. Die relativen Aktivitäten ($U\ g^{-1}$) der Kugelmühlenaufschlüsse liegen jedoch für beide optischen Dichten in derselben Größenordnung von $3,7 \cdot 10^6\ U\ g^{-1}$ bei OD 4,0 beziehungsweise $6,0 \cdot 10^6\ U\ g^{-1}$ bei OD 0,05).

Es lassen sich sowohl mit dem Mikrogitter mit Nachlaufdüse als auch mit der Lochblende bei einer OD von 0,05 mit mehreren Passagen nur wenige Prozent an Freisetzungsgang erreichen. Im Falle einer linearen Zunahme würde für die Lochblende alle 60 – 80 Passagen ein Prozentpunkt mehr Protein frei gesetzt werden. Das Mikrogitter mit Nachlaufdüse zeigt hier eine etwas niedrigere Freisetzungsrate von 0,8 % bei 80 Passagen. Bei einer optischen Dichte von 4,0 werden durch beide Kavitationsapparaturen nach 150 Passagen nur 0,13 % erreicht. Die für eine Passage berechneten Freisetzungsgänge sind in Tabelle 6.2 dargestellt.

Tabelle 6.1: Freisetzungsgrad an β -Galaktosidase für eine Passage in %.

Optische Dichte	Lochblende	Mikrogitter mit Nachlaufdüse
0,05	0,015	0,01
4,0	0,0008	0,0009

Bei den oben beschriebenen Versuchen wurden auch die Lebendkeimzahlen bestimmt. Die sich ergebende Reduzierung der Lebendkeimzahl wurde linear genähert und das Konfidenzintervall (95 %) bestimmt. Die entsprechenden relativen Inaktivierungsraten (in Bezug zur Startkeimzahl) und aus den Konfidenzintervallen ermittelten Standardabweichungen sind für eine Passage in Abbildung 6.14 aufgetragen.

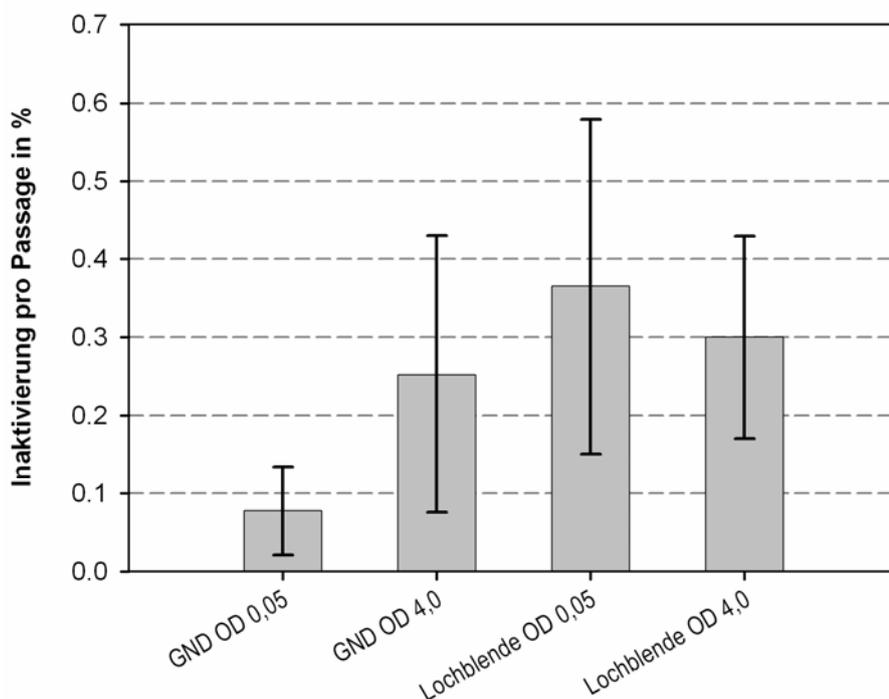


Abbildung 6.14: Vergleich der relativen Zellinaktivierungsraten pro Passage durch Lochblende und Mikrogitter mit Nachlaufdüse (GND) bei den optischen Zelldichten von 0,05 und 4,0.

Es zeigt sich, dass sich die Zellinaktivierung im Bereich von 0,1 – 0,4 % pro Passage bewegt und somit 1 – 2 Größenordnungen über dem Freisetzungsgrad an β -Galaktosidase liegt. Tendenziell ist für das Mikrogitter mit Nachlaufdüse bei der

optischen Zelldichte von 0,05 eine niedrigere Inaktivierungsrate als bei der Lochblende (für beide optischen Dichten) zu verzeichnen. Bei der optischen Dichte von 4,0 ist kein signifikanter Unterschied in der relativen Inaktivierungsrate ersichtlich.

6.2.2. Transiente Permeabilisierung der Zellmembran

Calcein-Acetoxymethylester (Calcein AM, Molekulargewicht von 998 Da) ist ein Molekül, das im Inneren der Zelle zu einem nicht mehr membrangängigen fluoreszierendem Derivat (Calcein M_g = 623 Da) umgesetzt wird. Dieses Derivat besitzt nur noch eine geringe temperaturabhängige Diffusion aus der Zelle. Durch eine Behandlung der Zellen mit hydrodynamischer Kavitation kann untersucht werden, ob dieser fluoreszierende Farbstoff an das umgebende Medium abgegeben wird, da er über die eventuelle kurzfristige Öffnung der Membran schneller aus der Zelle diffundieren kann. Diese Fluoreszenzzunahme kann dann im zellfreien Überstand gemessen werden. In Abbildung 6.15 ist die Änderung Fluoreszenz (Abzüglich des Blindwerts des unbehandelten Zellüberstands) von Calcein über der Anzahl der Passagen durch das Mikrogitter mit Nachlaufdüse oder durch die Lochblende aufgetragen. Die Versuchsbedingungen waren je 37 °C und eine Strömungsgeschwindigkeit von 0,40 L s⁻¹ (C_v = 0,14) bei dem Mikrogitter mit Nachlaufdüse und 0,38 L s⁻¹ (C_v = 0,13) bei der Lochblende. Die optischen Dichten der Zellen (gemessen bei λ = 600 nm) in der Versuchsanlage betragen dabei bei dem Mikrogitter mit Nachlaufdüse 0,46 und bei der Lochblende 1,0. Die Fluoreszenz jeder Probe wurde dabei dreifach bestimmt und die entsprechende Standardabweichung berechnet. Für das Mikrogitter mit Nachlaufdüse wurde dabei zusätzlich noch eine Dreifachbestimmung oder Doppelbestimmung von jeder untersuchten Passagenzahl durchgeführt, um die statistischen Abweichungen der folgenden Probenaufbereitung und Analytik abschätzen zu können.

In Abbildung 6.16 sind die maximal erreichbare Zunahme der Fluoreszenz im Überstand mit ihrer Standardabweichung aus zwei unterschiedlichen Ansätzen für die beide Versuchsreihen dargestellt. Die maximale Fluoreszenz wurde dabei wieder durch Aufschluss der Zellen mittels Kugelmühle erreicht. Die Graphik verdeutlicht, dass bei der Versuchsreihe mit der Lochblende die maximale Fluoreszenz in etwa 4-fach geringer ausfällt als bei der Versuchsreihe mit dem Mikrogitter mit

Nachlaufdüse. Die Beladung der Zellen mit Farbstoff während der Inkubationsphase fiel in diesem Versuch offensichtlich deutlich geringer aus.

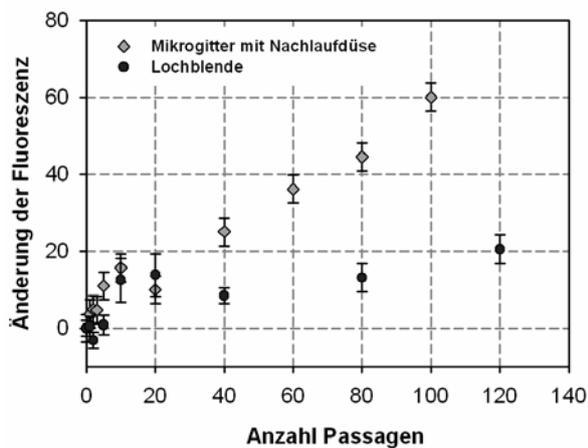


Abbildung 6.15: Auftragung der Fluoreszenzänderung von Calcein im Überstand über der Anzahl an Passagen von *E. coli* durch Mikrogitter mit Nachlaufdüse und Lochblende.

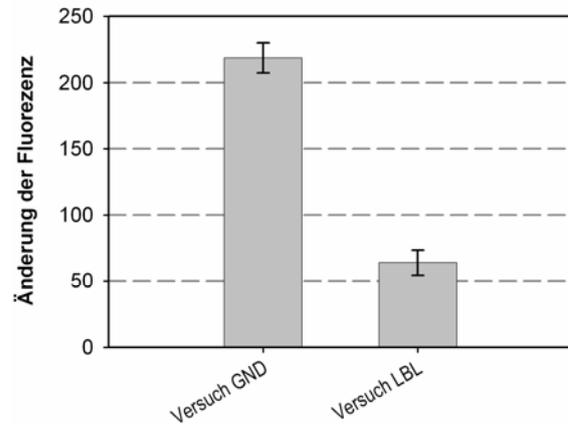


Abbildung 6.16: Vergleich der maximalen Fluoreszenzänderung bei den Versuchsansätzen von Mikrogitter mit Nachlaufdüse (GND) und Lochblende (LBL).

Für beide Kavitationsapparaturen ist ein steter Anstieg des Signals mit der Anzahl an durchlaufenen Passagen zu beobachten (Ausnahme 20 Passagen beim dem Mikrogitter mit Nachlaufdüse und 40 Passagen bei der Lochblende). Auf Grund der geringen Beladung der Zellen mit Calcein ist bei der Versuchsreihe mit der Lochblende eine hohe statistische Abweichung der Messwerte zu verzeichnen, die keine genauen Aussagen über den Verlauf der Fluoreszenzzunahme zulassen. Bei dem Mikrogitter mit Nachlaufdüse zeigt sich aber zu Beginn (bei den ersten 5 – 10 Passagen), ähnlich wie bei der β -Galaktosidasefreisetzung, ein steilerer Anstieg in der Fluoreszenzänderung als bei den späteren Passagen.

Vergleicht man die relativen Fluoreszenzänderungen mit Bezug auf die jeweils maximal erreichte Fluoreszenz des Kugelmühlenaufschlusses, so ergibt sich für beide Kavitationsapparaturen eine ähnliche prozentuale Zunahme mit der Passagenzahl (vergleiche Abbildung 6.17; Die Standardabweichung des Kugelmühlenaufschlusses und der einzelnen Messwerte wurden dabei nach entsprechender Fehleraddition berücksichtigt). Die Freisetzung an Calcein in den

Überstand erreicht für beide Kavitationsapparaturen in etwa 30 % nach 100 – 120 Passagen. Dies entspräche dabei einem Freisetzungsgrad von $\sim 0,3$ % pro Passage.

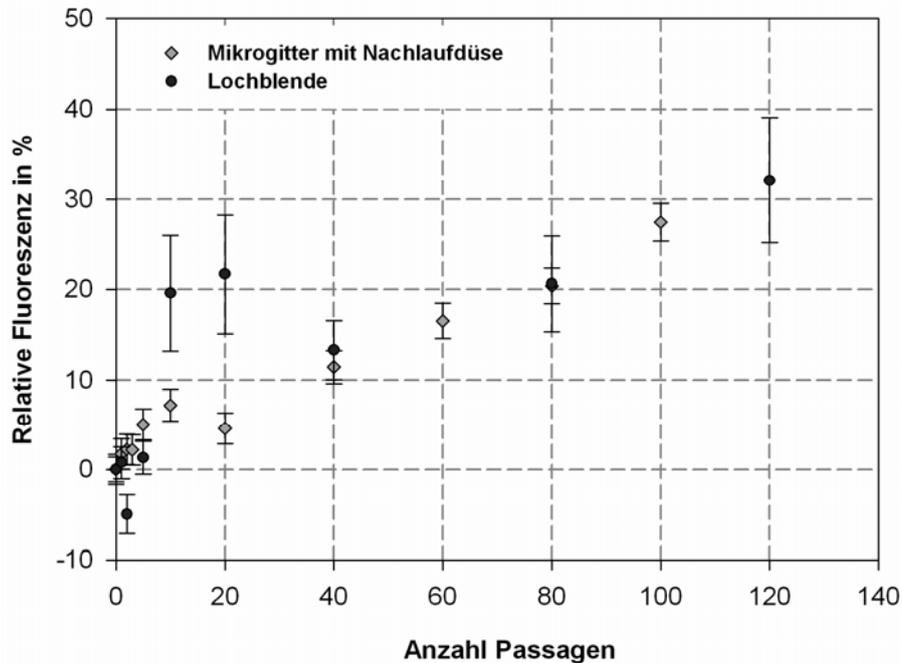


Abbildung 6.17: Vergleich der relativen Fluoreszenzänderung an Calcein in Abhängigkeit der Anzahl an Passagen durch Lochblende und Mikrogitter mit Nachlaufdüse in % zum Kugelmühlenaufschluss.

6.2.3. Diskussion

Der Freisetzungsgrad an β -Galaktosidase und die Inaktivierung von *E. coli*-Zellen ist bei der Nutzung von hydrodynamischer Kavitation allgemein sehr gering und erreicht bei der Bestimmung der Zelinaktivierung erst mit mehreren Passagen eine signifikante Größenordnung. Sowohl die Lochblende als auch das Mikrogitter mit Nachlaufdüse zeigen dabei mit steigender Passagenzahl und steigender Zellzahl (optischen Dichte) einen steigenden absoluten Proteinfreisetzungsgrad und auch Inaktivierungsgrad an Zellen. Während die relative Zelinaktivierung gemessen zur Startkeimzahl für beide Kavitationsapparaturen in der Größenordnung ähnlich bleibt, sinkt die β -Galaktosidasefreisetzung um eine Größenordnung gemessen an der Referenz des Kugelmühlenaufschlusses. Der Vergleich der Prozent an inaktivierten Zellen pro Passage mit der Aktivitätszunahme pro Passage zeigt ebenfalls eine

gewisse Diskrepanz. Auch wenn die Bestimmung der Inaktivierungsrate mit großen Fehlern behaftet ist, so ist sie doch minimal in der Größenordnung von 0,05 – 0,5 % pro Passage, während die relative Aktivität der β -Galaktosidase, bei der niedrigen optischen Dichte von 0,05 nur um $\sim 0,012$ %, und bei der hohen optischen Dichte von 4,0 sogar nur um 0,001 % pro Passage zunimmt. Dies deutet darauf hin, dass nicht jede letal geschädigte Zelle auch komplett aufgeschlossen sein muss, sondern noch eine Integrität der Membran oder Zellhüllstruktur bewahrt haben kann und somit intrazelluläre Enzyme auf Grund ihrer Größe (~ 71 kDa für β -Galaktosidase) nicht freigesetzt werden müssen. Ähnliche Effekte beschreiben auch Balasundaram und Harrison (2006) für Hefen und vermuten eine hohe Integrität der Zellhülle als Ursache für eine schlechtere Freisetzung an intrazellulären Proteinen.

Eine Reduzierung des Freisetzungsgrades mit steigender Zellkonzentration (0,1 – 5 % Feuchtgewicht) konnten Balasundaram und Harrison (2006) ebenfalls feststellen. Das Optimum an maximaler absoluter Proteinfreisetzung lag bei Ihnen bei einem Feuchtgewicht von 0,5 Massenprozent an Zellen. Ein Vergleich mit ihren Daten zeigt auch, dass die Größenordnung des Freisetzungsgrades zu den hier vorgestellten Ergebnissen passend ist. Sie verzeichnen für *E. coli* 68 % Freisetzung an β -Galaktosidase bei 2500 Passagen und einer Kavitationszahl von 0,13 (relativ im Vergleich zu einem French-Press-Aufschluss). Eine lineare Extrapolation der hier beobachteten β -Galaktosidasefreisetzung würde für die niedrige Zelldichte (OD 0,05; Lochblende) auch einen relativen Aufschlussgrad von 38 % nach 2500 Passagen ergeben.

Die starke Reduzierung der Proteinfreisetzung bei der hohen Zelldichte steht auch im Einklang mit den Ergebnissen von Save et al. (1997), welche bei einer Proteinextraktion aus Hefen bei einem Feuchtgewicht von 0,5 % auch eine ganze Größenordnung mehr an Protein pro g Feuchtgewicht extrahieren konnten als bei einem Feuchtgewicht von 6 %. Diese relative Reduktion der Aktivität lässt sich möglicherweise durch die veränderten Medieneigenschaften erklären. Bei 2 g L^{-1} an Biotrockenmasse (entspricht der OD 4,0 und ~ 2 % Feuchtgewicht) ist die Viskosität etwas erhöht und die Oberflächenspannung nach mehreren Passagen durch freigesetzte Membranlipide der geschädigten Zellen sicher etwas herabgesetzt. Nach Doulah (1975) ist die Effizienz des Ultraschallaufschlusses von Hefezellen abhängig von der Größenordnung der Scherbeanspruchung, die wiederum von der Größe der von kavitierenden Blasen hervorgerufenen Mikrowirbel abhängig ist. Höhere

Viskositäten bewirken mit einer Abhängigkeit von $v^{3/4}$ größere Mikrowirbel, die dann unter Umständen keine ausreichende Scherwirkung mehr auf Zellen besitzen. Ähnliche Abschwächung der Kavitationsintensität konnten Majumdar et al. (1998) auch experimentell zeigen. Eine Erhöhung der Viskosität wirkte sich negativ auf die Iod-Bildung (Weissler-Reaktion; Kumar et al., 2000), die mit der Intensität der Kavitation einhergeht, aus. Des Weiteren können sich freie Lipide als Emulgatoren in die Grenzflächen von Kavitations- und Gasblasen integrieren und diese in ihrer Kollaps-Intensität schwächen (Postema und Schmitz, 2006). Aber auch die Summe dieser Einflüsse sollte nicht eine Reduzierung des Freisetzungsgrades um eine ganze Größenordnung bewirken. Eine andere Möglichkeit wäre die zunehmende Denaturierung der β -Galaktosidase mit der Kavitation. Da aber der Effekt von Kavitation auf Proteine nach Save et al. (1997) sehr gering ist, sollte dies jedoch auch nicht eine derartig große Auswirkung haben.

Mit einer Erniedrigung des Freisetzungsgrades sollte sich folglich auch die Inaktivierung mit steigender Zellzahl, ähnlich wie bei Tsukamoto et al. (2004) abschwächen. Sie fanden für die Ultraschallinaktivierung von Hefen eine starke Abnahme der Inaktivierungsrate mit der Zunahme der Zellzahl. In den hier vorgestellten Ergebnissen nimmt die Inaktivierungsrate aber wiederum für höhere Zelldichten etwas zu. Sie zeigt in etwa die Größenordnung an Reduktion der Lebendkeimzahl, die auch in der Literatur für die hydrodynamische Kavitation mittels schmal geöffnetem Kugelventils nach Jyoti und Pandit (2001) beschrieben wird. Sie erreichen eine Abtötung von 44 % der gesamt aeroben Keimzahl nach einer Behandlung von einer Stunde mit iterativer Kavitation bei einem Druckverlust von 5,17 bar. Unter Berücksichtigung des Versuchsvolumens von 75 L und des Volumenstroms für diesen Druckverlust (Balasundaram and Harrison, 2006b da diese Angaben in der genannten Publikation fehlen) von etwa $5,5 \text{ L s}^{-1}$ ergeben sich theoretisch 264 Passagen. Dies entspricht mit 0,17 % pro Passage in etwa den hier beobachteten Ergebnissen zur Inaktivierung von *E. coli*.

Bei den Versuchen zur Permeabilisierung der Membran zeigt sich sowohl für die Lochblende als auch des Mikrogitters mit Nachlaufdüse eine Zunahme des Farbstoffs Calcein im Überstand mit steigender Passagenzahl. Ein Nachteil dieser Färbemethode ist jedoch, dass gerade *E. coli* als gram-negativer Keim allgemein nicht sehr stark gefärbt wird. Bei Calcein werden trotz der zusätzlichen Behandlung mit EDTA nur 17 % der Zellen intensiv gefärbt (Moragues et al., 2004). Auf Grund

dieser Voraussetzung ist die maximal erreichbare Fluoreszenz im Überstand allgemein eher gering. Die Intention, eine höhere Zelldichte (OD von 1,0) für den Versuch mit der Lochblende zu verwenden, war mehr Calcein-beladene Zellen in den Versuchskreislauf einzubringen und die Messung dadurch signifikanter zu gestalten. Bei der Inkubation der Zellen mit Calcein AM wirkte sich die hohe Zellzahl jedoch negativ aus. Auch viele andere hier nicht weiter zu erörternde Gründe mögen für eine geringe Beladung der Zellen mit Calcein AM, oder geringeren Umsetzung zu Calcein geführt haben. Deshalb unterliegt die maximale Calcein-Freisetzung hier schon einer größeren relativen Schwankung als bei dem Versuch mit dem Mikrogitter mit Nachlaufdüse. Dies begründet auch die teilweise stark schwankenden Werte des Freisetzungsgrades über der Passagenzahl, da auch hier dieselbe Zunahme der relativen Messunsicherheit zu erwarten ist.

Vergleicht man im Mittel die erreichbare Fluoreszenz zur maximalen Fluoreszenz des Kugelmühlenaufschlusses, so ergibt sich für beide Kavitationsapparaturen eine Zunahme von 0,27 % pro Passage und somit nach linearer Extrapolation ein theoretisches Erreichen von nahezu 100 % bei 363 Passagen. Würde man dabei die Verweilzeit der Zellen in diesem oszillierenden Blasenfeld über die 363 Passagen aufsummieren, so ergäben sich ~1135 ms (bei $0,4 \text{ L s}^{-1}$ und einer mittleren Länge des oszillierenden Blasenfeldes in der Nachlaufdüse von 50 mm). Diese Größenordnung würde sich gut mit den Ergebnissen von Guzman et al. (2001) decken, die eine Einwirkzeit von 540 – 1000 ms Ultraschall für die Färbung von 75 % der lebenden Zellen benötigten.

Allgemein liegt für beide Kavitationsapparaturen der Freisetzungsgrad für Calcein ungefähr eine Größenordnung über dem Freisetzungsgrad der β -Galaktosidase. Bei der Lochblende liegt der Freisetzungsgrad in der Größenordnung der Zellinaktivierungsrate von ~ 0,25 % pro Passage, während die Inaktivierungsrate des Mikrogitters mit Nachlaufdüse bei dieser optischen Dichte von 0,5 um ~ 1/3 geringer ausfällt.

Der starke Unterschied gegenüber der β -Galaktosidasefreisetzung beruht vermutlich auf der um ~ 2 Größenordnungen geringeren Molekülgröße des Calcein, welches ein Molekulargewicht 623 Da (nach intrazellulärer Umsetzung von Calcein AM zu Calcein) besitzt. Der Transport durch die Zellhülle insbesondere durch die Membran bedarf hier vermutlich nur kleiner hydrophiler Poren oder nur einer kurzfristigen

„Schwächung“ der Membranintegrität, um die Diffusion zu erhöhen. Auch Schlicher et al. (2006) fanden einen um das 2-fach höheren Stofftransport für Calcein gegenüber einem 66 kDa schweren Bovine Serum Albumin.

Für die Lochblende scheint die Farbstofffreisetzung dabei mit der Inaktivierung der Zellen zu korrelieren. Folglich liegt die Vermutung nahe, dass die transiente Kavitation bei der Permeabilisierung der Membran auch gleich eine letale Schädigung der Zellen verursacht. Es bleibt jedoch auch hier, ähnlich wie für die β -Galaktosidasefreisetzung, die Frage offen, ob jede letal geschädigte Zelle auch die komplette Membranintegrität verliert. Bei dem Mikrogitter mit Nachlaufdüse ist dies definitiv zu verneinen, da hier prozentual betrachtet mehr Zellen pro Passage überleben als Calcein freigesetzt wird. Es wird folglich der Farbstoff freigesetzt ohne die Zellen dabei letal zu schädigen. Da der Charakter der Kavitation des Mikrogitters mit Nachlaufdüse vornehmlich oszillierender Art ist, deckt sich dieses Ergebnis mit denen von Guzman et al. (2001) und Cochran und Prausnitz (2001), die auch erst eine zunehmende Färbung der vitalen Zellen verzeichneten ehe bei höheren Intensitäten des Ultraschalls die Zahl der letal geschädigten Zellen stark zunahm. Dieses Ergebnis würde sich auch mit der Modellvorstellung von VanWamel et al. (2006) zur Wirkung von oszillierenden Blasen auf Zellen decken, wonach nur eine transiente Öffnung von Membranporen bewirkt wird und keine langfristige Schädigung der Integrität.

Auch das Ergebnis bei der Lochblende würde den transienten und somit intensiveren Charakter der Kavitation gegenüber der reinen Blasenoszillation unterstreichen. Auch Gogate und Pandit (2005) schlugen diesen prinzipiellen Intensitätsunterschied bei dem Vergleich von Venturi-Düse und Lochblende vor. Die hohe Intensität der transienten Kavitation der Lochblende ergibt sich mitunter aus der hohen Turbulenz, die durch die scharfe Abrisskante und Querschnittserweiterung im Nachlauf der Strömung erzeugt wird (Moholkar und Pandit, 1997; Gogate and Pandit, 2000). Auch wurden die unterschiedlichen Intensitäten der Blasenkolllapse und der Oszillationen schon für Einzelblasen von Moholkar und Pandit (2001) für die Lochblende und Venturi-Düse theoretisch modelliert. Setzt man eine gewisse geometrische Ähnlichkeit der Venturi-Düse mit dem hier eingesetzten Mikrogitter mit Nachlaufdüse voraus, so verifizieren sich in gewisser Weise die Modelle der oben genannten Autoren mit den hier beobachteten experimentellen Ergebnissen.

6.3. Inaktivierung von *E. coli* mit Kavitation (Lochblende) und ClO₂

Als Einflussfaktoren für die Betrachtung der Kombination hydrodynamische Kavitation und Chlordioxid auf die Desinfektionseffizienz wurden die maßgeblichen Faktoren wie Konzentration an Chlordioxid, Temperatur, Startkeimzahl und als Einfluss der Kavitation die Kavitationszahl C_v herangezogen und genauer untersucht. Es wurde dabei immer, wenn nicht anders erwähnt, nur eine Passage durch die Lochblende absolviert und die externe Inkubation als Methode gewählt (vergleiche Kapitel 4.2.3).

Auch bei der Kombination von Kavitation (hier mit Verwendung der Referenz Lochblende) und Chlordioxid ergibt sich prinzipiell ein ähnlicher Verlauf der Lebendkeimzahl über der Zeit wie bei der reinen ClO₂-Inaktivierung. Es zeigen sich auch ähnliche Charakteristiken wie eine anfängliche Verzögerung der Inaktivierungsgeschwindigkeit und eine spätere Abnahme der selbigen, die mit dem Verbrauch des Chlordioxids einhergeht. Auch hier wurden diese Bereiche der jeweiligen Kurve für die Bestimmung der Inaktivierungskonstanten und zur Berechnung der Kinetik nicht herangezogen (Vergleiche Kapitel 6.1).

6.3.1. Einfluss der Chlordioxidkonzentration

Betrachtet man die Abhängigkeit der Inaktivierung von der Startkonzentration an Chlordioxid so zeigt sich auch hier, wie in der Abbildung 6.18 dargestellt, auf den ersten Blick ein sehr ähnliches Verhalten wie bei der reinen Chlordioxid-Inaktivierung. Hier ist die „Watson-Chick-Kinetik“ bis zu einer Startkonzentration von 0,25 mg L⁻¹ nachvollziehbar und es ergeben sich erst bei geringeren Konzentrationen von 0,20 und 0,23 mg L⁻¹ abweichende Werte, bei denen aber noch über 99 % an absoluter Inaktivierung erreicht wurden (vergleiche Abbildung 6.19). Die Steigung der linearen Regression ergibt hier einen Verdünnungsfaktor von 0,9, der etwas höher liegt als bei der reinen ClO₂-Inkubation ($n = 0,7$).

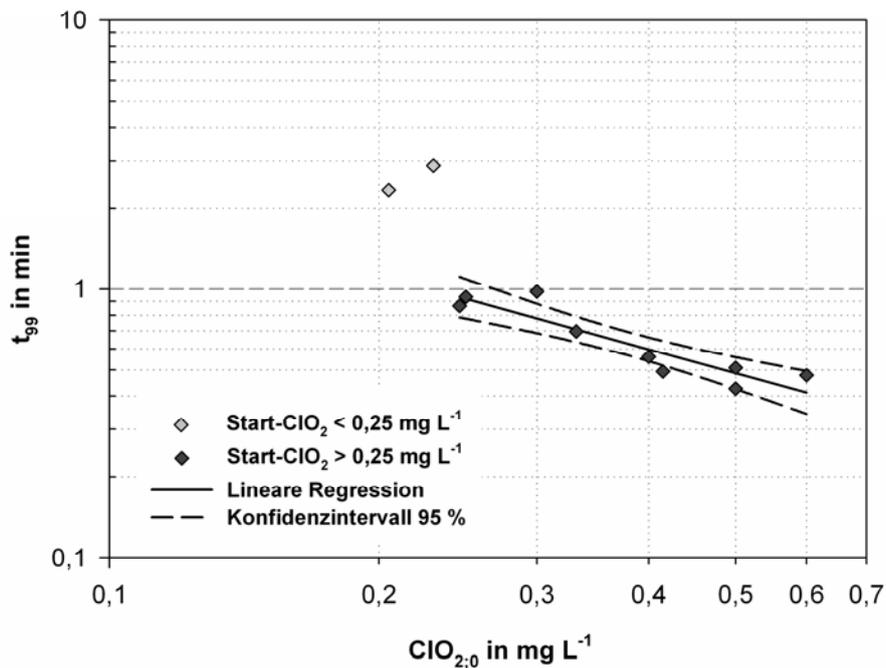


Abbildung 6.18: Benötigte Zeit t_{99} (zur Inaktivierung von 99 % der Startkeimzahl) bei verschiedenen Startkonzentration an Chlordioxid nach einer Passage der Lochblende ($C_v = 0,13$; Startkeimzahl $\sim 2 \cdot 10^7$ KbE ml^{-1} ; 20°C).

Vergleicht man die t_{99} der Lochblende (Kombination von Lochblende und Chlordioxid) und der reinen ClO_2 -Inkubation ab einer Konzentration von $0,25 \text{ mg L}^{-1}$ direkt in einem Diagramm (siehe Abbildung 6.20), so zeigt sich für den gesamten Konzentrationsbereich an Startkonzentrationen (C_0) ein signifikant niedrigerer t_{99} für die Lochblende. Die entsprechende Einwirkzeit für 99 % Inaktivierung reduziert sich im Schnitt zu 20 – 30 %. Anders formuliert erreicht eine um ~ 25 % geringere Startkonzentration an ClO_2 eine gleichwertige Inaktivierungsgeschwindigkeit.

Am stärksten tritt dies im Bereich zwischen $0,25$ und $0,30 \text{ mg L}^{-1}$ zu Tage. Während bei der reinen ClO_2 -Inkubation hier die Kinetik nicht mehr gültig ist und 99 % Inaktivierung nur noch mit einer sich reduzierenden Inaktivierungsgeschwindigkeit erreicht wird, kann bei der Kombination mit der Lochblende noch eine Fortführung der Kinetik bei dem Verdünnungsfaktor von $n = 0,9$ bis $0,25 \text{ mg L}^{-1}$ verfolgt werden. Auch die gemessenen Endkeimzahlen erreichen in Kombination mit der Lochblende eine um 2 – 3 Größenordnungen höhere Inaktivierung als die alleinige Inaktivierung mit ClO_2 (Bei Vergleich der Abbildungen 6.3 mit 6.19).

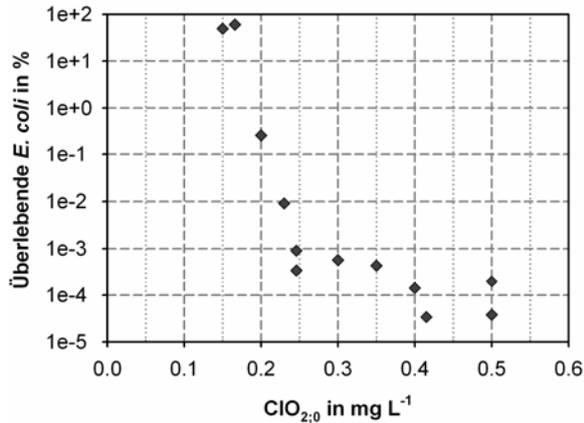


Abbildung 6.19: Gemessene Endkeimzahlen (> 3 Minuten Inaktivierungszeit) in % zur Startkeimzahl bei verschiedenen Startkonzentrationen an ClO_2 nach einer Passage der Lochblende.

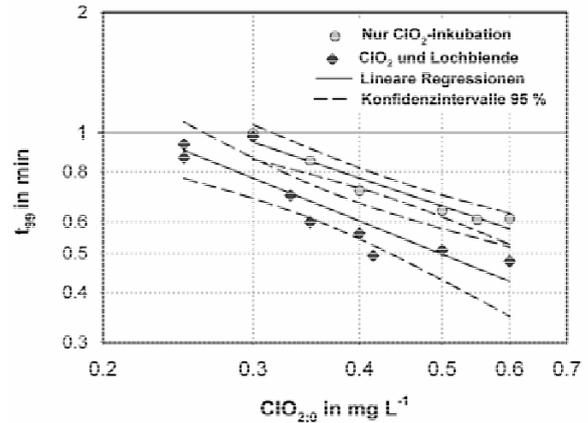


Abbildung 6.20: Vergleich der t_{99} von einer Passage der Lochblende in Kombination mit Chlordioxid und der reinen Chlordioxid-Inkubation über der Startkonzentration an ClO_2 .

Da die Kinetik für den Bereich zwischen $0,25$ und $0,30 \text{ mg L}^{-1}$ an ClO_2 -Startkonzentration für die reine ClO_2 -Inkubation nicht mehr gültig ist, soll mit Abbildung 6.21 der direkte Vergleich des Verlaufes der Lebendkeimzahlen über der Zeit dargestellt werden. Dabei wurden einmal die Keimzahlverläufe bei einer Startkeimzahl von $\sim 2 \cdot 10^7 \text{ KbE ml}^{-1}$ und den Startkonzentrationen von $0,30 \text{ mg L}^{-1}$ ($0,33 \text{ mg L}^{-1}$ bei der Lochblende) und $0,25 \text{ mg L}^{-1} \text{ ClO}_2$ verglichen (linkes oberes und unteres Diagramm) und zum anderen der Einfluss einer um 50% erhöhten Startkeimzahl von $\sim 3 \cdot 10^7 \text{ KbE ml}^{-1}$ bei $C_0 = 0,30 \text{ mg L}^{-1} \text{ ClO}_2$ verglichen (rechtes Diagramm). Eine Startkeimzahl von $\sim 2 \cdot 10^7 \text{ KbE ml}^{-1}$ entspricht hierbei einer Biotrockenmasse (BTM) von $\sim 20 \text{ mg L}^{-1}$ und eine Startkeimzahl von $\sim 3 \cdot 10^7 \text{ KbE ml}^{-1}$ entsprechend $\sim 30 \text{ mg L}^{-1} \text{ BTM}$. Da der Verbrauch an Chlordioxid im letzteren Fall deutlich schneller geschieht (Daten nicht gezeigt) zeigt sich gerade unter dieser Bedingung die Steigerung der Inaktivierungseffizienz der Kombination aus Kavitation und Chlordioxid sehr deutlich. Bei der Startkeimzahl von $2 \cdot 10^7 \text{ KbE ml}^{-1}$ und $\sim 0,30 \text{ mg L}^{-1} \text{ ClO}_2$ steigert sich die Inaktivierungsgeschwindigkeit mit der Kombination um den Faktor $2,1$ gegenüber der reinen ClO_2 -Inkubation. Bei der Startkeimzahl von $3 \cdot 10^7 \text{ KbE ml}^{-1}$ um den Faktor $2,0$ und bei der Konzentration von $0,25 \text{ mg L}^{-1}$ ($2 \cdot 10^7 \text{ KbE ml}^{-1}$) sogar um den Faktor $3,8$. Betrachtet man die gemessenen Endkeimzahlen so zeigt sich auch hier die Reduzierung im Bereich von $2 - 3$ Größenordnungen.

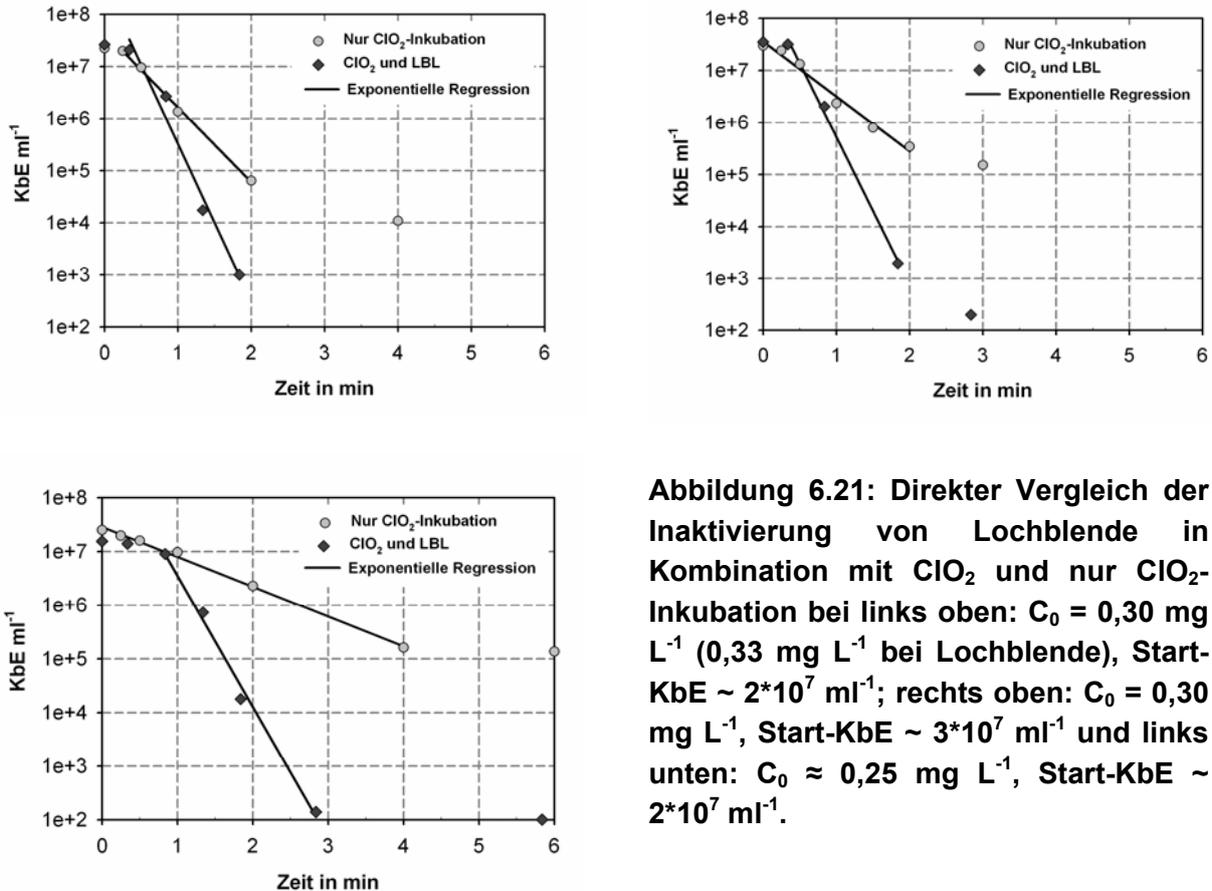


Abbildung 6.21: Direkter Vergleich der Inaktivierung von Lochblende in Kombination mit ClO_2 und nur ClO_2 -Inkubation bei links oben: $C_0 = 0,30 \text{ mg L}^{-1}$ ($0,33 \text{ mg L}^{-1}$ bei Lochblende), Start- $K_{bE} \sim 2 \cdot 10^7 \text{ ml}^{-1}$; rechts oben: $C_0 = 0,30 \text{ mg L}^{-1}$, Start- $K_{bE} \sim 3 \cdot 10^7 \text{ ml}^{-1}$ und links unten: $C_0 \approx 0,25 \text{ mg L}^{-1}$, Start- $K_{bE} \sim 2 \cdot 10^7 \text{ ml}^{-1}$.

6.3.2. Einfluss der Kavitationszahl

Für die Betrachtung der Abhängigkeit der Inaktivierungsgeschwindigkeit von der Kavitationszahl wurde die interne Inkubation verwendet, da hier mehrere Passagen durch die Lochblende (genaue Anzahl ist abhängig von der Umlaufzeit, mindestens jedoch 5 Passagen) vollzogen werden konnten, und somit die Auswirkung der Kavitation zu einem stärkeren Einfluss führen sollte. Die Startkeimzahl wurde dabei konstant bei $2 \cdot 10^7 \text{ KbE ml}^{-1}$ und die Startkonzentration an Chlordioxid bei $0,30 \text{ mg L}^{-1}$ belassen. Die Temperatur wurde für jeden Versuch auf $20 \text{ }^\circ\text{C}$ geregelt.

In Abbildung 6.22 sind die (Startkonzentrations-Zeit-Produkte) $C_0^{n \cdot t_{99}}$ (nach Gleichung 3) für verschiedene Kavitationszahlen sowie für einen entsprechenden Blindversuch dargestellt. Bei dem Blindversuch wurde der Druckverlust durch die Kavitationsgeometrie als möglicher Blindeffekt simuliert. Es wurde zwar die Lochblende bei einem Volumenstrom von $0,35 \text{ L s}^{-1}$ (entspreche einem C_v von $0,16$ ohne Gegendruck) verwendet, durch das Drosselventil aber ein Gegendruck von $3,0 \text{ bar}$ absolut aufgebaut, der die Kavitation nahezu unterdrückte. Der sich rechnerisch nach der Formel für die Kavitationszahl einstellende C_v von $0,6$ ist dabei

richtigerweise in Abbildung 6.22 aufgetragen. Bei einer C_v von 0,13 wurde eine Dreifachbestimmung durchgeführt und die Standardabweichung mit aufgetragen. Da die Kavitation bei der Lochblende erst bei einer C_v von 0,7 einsetzt, können die Versuche bei $C_v = 0,6$ und $C_v = 0,9$ als entsprechende Referenzversuche beziehungsweise Blindversuche eingestuft werden.

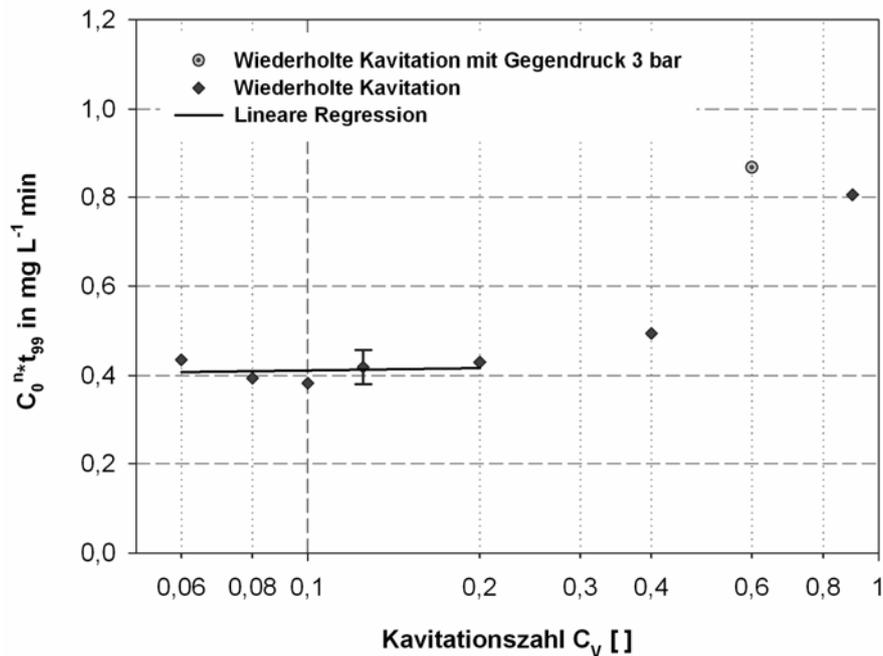


Abbildung 6.22: Einfluss der Kavitationszahl auf die Inaktivierung von *E. coli* bei einer oder mehreren wiederholten Passagen durch die Lochblende (Inkubation in der Versuchsanlage). Vergleich mit der Blindreferenz: Unterdrückte Kavitation mittels Gegendruck bei ähnlichem Leistungseintrag der Pumpe (entsprechend bei $C_v = 0,13$).

Generell liegen alle Werte höher als bei den Versuchen mit reiner Chlordioxidbehandlung. Dies liegt an der Methode der internen Inkubation, die auf Grund der schlechteren Durchmischung von Chlordioxid (vergleiche Kapitel 4.1.3) und des veränderten Dosierprofils (vergleiche Kapitel 4.2.3) weniger hohe Inaktivierungsgeschwindigkeiten erzielt als die nahezu idealen Rührkessel der reinen ClO_2 -Inkubations-Versuche. Während die Blindversuche und hohen Kavitationszahlen hierbei einen $C_0^{n*}t_{99}$ von 0,8 und 0,87 erreichen, erniedrigt sich dieser mit Erniedrigung der Kavitationszahl um bis zu ~ 50 %. Es zeigt sich dabei ein breiter Bereich an Kavitationszahlen von 0,06 – 0,2 bei denen sich ein nahezu konstanter Wert des $C_0^{n*}t_{99}$ von 0,4 einstellt (lineare Regression). Tendenziell läge bei $C_v = 0,1$ ein Optimum der Inaktivierungsgeschwindigkeit, welches aber für die Annahme der

gleichen Varianz für alle Kavitationszahlen wie für $C_v = 0,13$, keine Signifikanz besitzt.

6.3.3. Einfluss der Temperatur

In Abbildung 6.23 sind die $C_0^{n*}t_{99}$ über der Temperatur in °C aufgetragen und mit einer potentiellen Regression ($y = a*x^{-b}$) wie schon bei den reinen ClO_2 -Inkubationen genähert. Es zeigt sich eine gute Regression und der quadratische Standardfehler liegt mit 0,95 relativ hoch. In der Auftragung in Form des Arrhenius-Plots (Abbildung 6.24) und dem Vergleich mit der reinen ClO_2 -Inkubation zeigt sich jedoch, dass der Wert bei 10 °C ($0,00353 K^{-1}$) ein stark abweichender Punkt ist. Für 20 – 40 °C liegen die Werte qualitativ in derselben Größenordnung wie bei der reinen ClO_2 -Inkubation, es ergibt sich aber eine andere lineare Regression. Berechnet man trotzdem die sich ergebende Aktivierungsenergie und Frequenzfaktor so ergeben sich hier ein E_a von $25 kJ mol^{-1}$ und ein $Ln k_0$ von $12,5 Ln (L mg^{-1} min^{-1})$, die beide deutlich tiefer liegen als die der reinen ClO_2 -Inkubation.

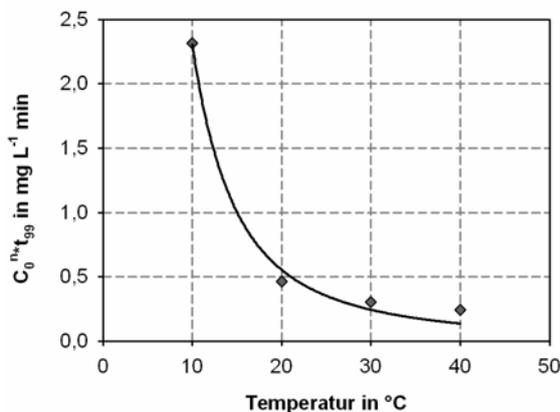


Abbildung 6.23: Temperaturabhängigkeit des $C_0^{n*}t_{99}$ bei einer Passage durch die Lochblende ($C_0 = 0,30 mg L^{-1} ClO_2$, $\sim 2*10^7 KbE ml^{-1}$ Startkeimzahl, Potentielle Regression).

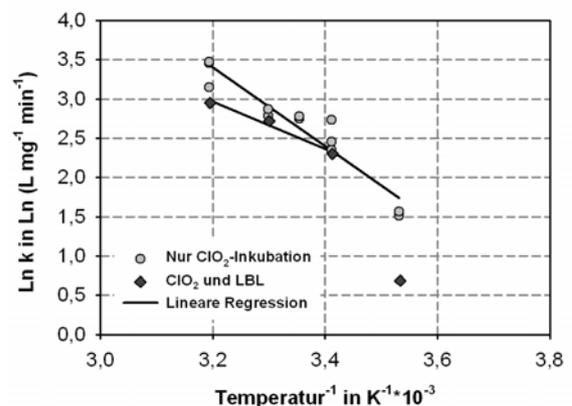


Abbildung 6.24: Arrhenius-Plot der Inaktivierungsgeschwindigkeiten k über dem Kehrwert der Temperatur in Kelvin und Vergleich mit der reinen ClO_2 -Inaktivierung (LBL = Lochblende).

6.3.4. Vergleich bei verschiedenen Startkeimzahlen

In Abbildung 6.25 sind die t_{99} der Kombination mit einer Passage Lochblende in Abhängigkeit der Biotrockenmasse und der Startkonzentration an ClO_2 als

Netzwerkplot (nach LOESS-Verfahren mit einem Exponentialfaktor von 2 und einer Datenreichweite von 0,7 geglättet; Sigma-Plot Vers. 8, SPSS Inc.) dargestellt. Es wurden dabei nur die Daten verwendet, die auch eine absolute Inaktivierung von 99 % überschritten haben. Die Abhängigkeit von der Biomasse wurde gewählt um den Aspekt der Chlordioxid-Zehrung hervorzuheben und weniger die Abhängigkeit von einer Startkeimzahl (Keimzahlen unter $1 \cdot 10^6$ Keime ml^{-1} würden beispielsweise mit einer zu vernachlässigenden Biotrockenmasse nicht ins Gewicht fallen). Zum Vergleich wurden auch alle Datenpunkte aus der reinen Chlordioxidinkubation als einzelne Messwerte (dunkelgraue Punkte) in dem Diagramm überlagert. Auch hier zeigt sich fast ausnahmslos, dass die t_{99} der reinen ClO_2 Inkubation für alle Kombinationen aus Biomasse und Startkonzentration an ClO_2 über denen der Kombination mit der Lochplatte liegen. Besonders bei den zuvor schon im Detail gezeigten Grenzen von 0,30 und 0,25 mg L^{-1} und den Biotrockenmassen von 20 und 30 mg L^{-1} zeigt sich ein großer Unterschied zwischen der reinen ClO_2 -Inkubation und der Kombination mit Lochblende.

Betrachtet man die Fläche des Netzwerks, so kann man prinzipiell zwei Bereiche erkennen: Den Bereich von eher konstant niedrigen t_{99} (dunkelgrauer Bereich bis ~ 1 min an t_{99}) für geringe Biomassen und hohe Konzentrationen an ClO_2 , welcher sich in einer Art sigmoidalen Kurve (Linien gleichen Effekts) von den höheren t_{99} abgrenzt. Dies entspricht auch der Grenze für die Anwendbarkeit der „Watson-Chick“-Kinetik unter der Annahme einer „konstanten“ Startkonzentration an Chlordioxid. Alle Werte oberhalb von $\sim 1,5$ min sind mit diesem kinetischen Modell eigentlich nicht korrekt zu beschreiben. Die gemessenen t_{99} sind aber dennoch real gemessene Werte und ein Vergleich durch ein allgemeines Mittelungsverfahren wie nach Abbildung 6.25 somit auch valide.

Aus dieser Ebene heraus (dunkelgrauer Bereich) nehmen die t_{99} sowohl mit steigender Biomasse als auch fallender ClO_2 -Konzentration stark zu. Für hohe Konzentrationen an ClO_2 wird der Einfluss der Biomasse auf den Anstieg des t_{99} dabei immer geringer und die Kurven (Parallelen zur BTM Achse) verlaufen mit steigender ClO_2 -Startkonzentration immer flacher. Auf der anderen Seite gibt es eine minimale Schwellenkonzentration an Chlordioxid, die unabhängig von der Biomasse erreicht werden muss, um eine schnelle Inaktivierung an Keimen zu erzielen. Dies ist auch plausibel, da für jedes Desinfektionsmittel - unabhängig von anderen Einflüssen - eine gewisse letale Konzentration überschritten werden muss.

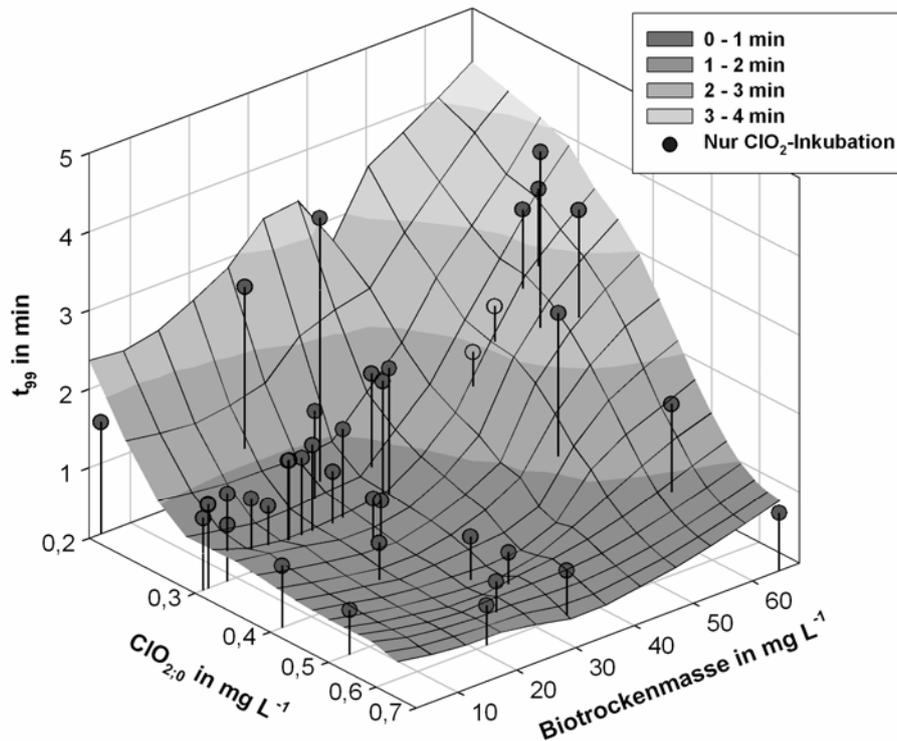


Abbildung 6.25: Vergleich der t_{99} von reiner ClO_2 -Inkubation (Dunkelgraue Datenpunkte) und Kombination von einer Passage Lochblende mit ClO_2 (Netzwerk-Plot) bei verschiedenen Startkonzentrationen an ClO_2 und Biotrockenmassekonzentrationen an *E. coli*.

6.3.5. Diskussion

Auch bei der Kombination von Chlordioxid mit der Kavitation einer Lochblende (bei $C_v = 0,13$) zeigt sich prinzipiell eine ähnliche Abhängigkeit der Inaktivierung von der Konzentration an Chlordioxid, der Temperatur und der Startkeimzahl, wie es bereits bei der reinen Chlordioxidbehandlung beobachtet wurde.

Die Auftragung von t_{99} über C_0 liefert auch einen linearen Zusammenhang. Der Verdünnungsfaktor liegt mit $n = 0,9$ über der reinen ClO_2 -Inkubation und fast am Literaturwert von 1,0. Der mittlere $C_0^n \cdot t_{99}$ berechnet sich hierbei zu $0,236 \pm 0,035 \text{ mg L}^{-1} \text{ min}$. Für Startkonzentration $\geq 0,30 \text{ mg L}^{-1}$ an Chlordioxid erreicht die Kombination mit der Lochblende eine Reduzierung des t_{99} um $\sim 30 \%$. Der Bereich für den sich die Gültigkeit der „Watson-Chick“-Kinetik noch bestätigen lässt, erweitert sich dabei sogar zu einer niedrigeren Startkonzentration von $0,25 \text{ mg L}^{-1} \text{ ClO}_2$. Die reine ClO_2 -Inkubation zeigt bei der Startkonzentration von $0,25 \text{ mg L}^{-1} \text{ ClO}_2$ schon starke Abweichungen von der Kinetik und die t_{99} liegen 2 – 4-fach höher. Auch bei einer ClO_2 -Startkonzentration von $0,30 \text{ mg L}^{-1}$ werden für die meisten reinen ClO_2 -

Inkubationen überhöhte t_{99} beobachtet, die nicht mehr mit der Kinetik vereinbar sind. Dies beruht meist auf einer etwas höheren Startkeimzahl von knapp über $2 \cdot 10^7$ KbE ml^{-1} , die dann die Inaktivierungsgeschwindigkeit schon signifikant reduzieren kann. Gerade in diesem Bereich erweist sich die Kombination aus Lochblende und Chlordioxid als besonders effektiv. Bei dem direkten Vergleich der Lochblende von $C_0 = 0,25 - 0,30 \text{ mg L}^{-1} \text{ ClO}_2$ und auch einer erhöhten Startkeimzahl von $3 \cdot 10^7$ KbE ml^{-1} erreicht sie eine Steigerung der Inaktivierungsgeschwindigkeit von einem Faktor 2 – 4.

Auch der Vergleich der gemessenen Endkeimzahlen zeigt eine deutliche Verbesserung gegenüber der reinen ClO_2 -Inkubation. Bei der Kombination werden die Endkeimzahlen von weniger als 99 % erst ab einer Konzentration von unter $0,20 \text{ mg L}^{-1}$ erreicht, während dies bei der ClO_2 -Inkubation schon ab $0,25 \text{ mg L}^{-1}$ der Fall ist.

Betrachtet man den Einfluss der Kavitationszahl, so ergibt sich eine Steigerung der Inaktivierung bis zu einer C_v von 0,2. Ab diesem Wert lässt sich keine signifikante Änderung bis zu der niedrigsten untersuchten C_v von 0,06 erkennen. Dass dabei allgemein alle $C_0^{n \cdot t_{99}}$ mit $0,4 \text{ mg L}^{-1} \text{ min}$ höher liegen als bei den zuvor gewonnenen Ergebnissen ($C_0^{n \cdot t_{99}}$ von 0,26), lässt sich mit der Art der Methode, der internen Inkubation, erklären. Wie schon in Kapitel 4.1.3 charakterisiert wurde, verhält sich der Versuchskreislauf nicht wie ein idealer Rohr-Reaktor, sondern besitzt auf Grund der Bauart der Pumpe ein relativ breites Verweilzeitspektrum (Kesselzahl des Äquivalenzmodells der Rührkesselkaskade ist 19). Es ist leicht vorstellbar, dass schon geringe Inhomogenitäten der ClO_2 -Konzentration zu unterschiedlichen Inaktivierungskinetiken führen können und sich dann ein generelles Ungleichgewicht der Lebendkeimzahl-Konzentrationen in der Versuchsanlage einstellt. Um eben diese Inhomogenitäten der ClO_2 -Konzentration möglichst zu vermeiden, wurde das ClO_2 -Dosierprofil nach der Beschreibung in Kapitel 4.2.3 abgeändert. Da aber das Verweilzeitverhalten für alle Volumenströme gleich ausfällt, können die innerhalb dieser Methode gewonnenen Daten untereinander quantitativ und qualitativ verglichen werden.

Die Variation der Temperatur zeigt auch für die Kombination im Bereich von 20 – 40 °C eine ähnliche Abhängigkeit nach Arrhenius wie bei der reinen ClO_2 -Inkubation. Die Werte, von sowohl $C_0^{n \cdot t_{99}}$ als auch der entsprechenden Inaktivierungs-

geschwindigkeitskonstanten k liegen hierbei etwas niedriger unter den Werten der reinen ClO_2 -Inkubation. Es liegen aber auch der Frequenzfaktor und die Aktivierungsenergie etwas niedriger, welche in der Größenordnung eigentlich durch die Kombination mit Kavitation nicht verändert werden sollten. Eine mögliche Begründung mag in der mangelnden Sicherheit bei der Bestimmung aus nur drei Datenpunkten liegen. Aber auch bei Junli et al. (1997) wurde mit 19 kJ mol^{-1} ein noch niedrigerer Wert für die Aktivierungsenergie beobachtet als die 25 kJ mol^{-1} hier.

Die starke Abweichung bei $10 \text{ }^\circ\text{C}$ stellt jedoch ein nicht plausibles Ergebnis dar. Für die reine ClO_2 -Inkubation konnte für mehrere unabhängige Experimente die Abhängigkeit nach der Arrhenius-Beziehung auch für $10 \text{ }^\circ\text{C}$ festgestellt werden. Eine Möglichkeit wäre, dass dieser Wert aus verschiedensten Gründen einen Ausreißer darstellt. Eine andere Interpretation wäre durch die Art des Versuchs begründbar. Bei den reinen ClO_2 -Versuchen wurde eine auf Eis bei $0 \text{ }^\circ\text{C}$ bevorratete *E. coli*-Suspension direkt kurz vor Versuchsbeginn in die $10 \text{ }^\circ\text{C}$ vorgekühlte Pufferlösung gegeben. Bei den Versuchen im Kavitationskreislauf musste jedoch erst noch eine Zeit von etwa 10 – 15 Minuten zur völligen Homogenisierung der Keime bis zum Versuchsbeginn abgewartet werden. Es wäre vorstellbar, dass sich in dieser Zeit die Keime auch schon physiologisch auf die kühle Umgebung einstellen und die Lipidzusammensetzung der Membran verändern (Gilland and Suisted, 1978). Dies hätte auch Folgen für die Permeabilität und würde somit zu anderen Inaktivierungsraten führen. Eine andere Einflussgröße wäre die Änderung der Kavitationseigenschaften des Mediums. Da sich dieser Einfluss aber dann für den gesamten Bereich von $10 - 40 \text{ }^\circ\text{C}$ ändern sollte, ist eine abrupte Änderung bei $10 \text{ }^\circ\text{C}$ nicht erklärbar. Dieser Einfluss wäre aber unter Umständen für die Abweichung bei $20 - 40 \text{ }^\circ\text{C}$ vorstellbar, da ein negativer Einfluss der Temperatur bei vielen Ultraschall-Kavitationsanwendung beschrieben wird. Hohe Temperaturen erhöhen den Dampfdruck in den Blasen und wirken sich somit negativ auf die Intensität des Blasen kollaps aus (Tillner, 1990).

Ein direkter Vergleich der hier gewonnenen Ergebnisse mit der Literatur lässt sich nicht durchführen, da die Kombination hydrodynamischer Kavitation mit Chlordioxid noch nicht untersucht wurde, beziehungsweise andere Versuchsaapparaturen und auch andere Methoden verwendet wurden. Die Versuche nach Jyoti und Pandit (2003b; 2003a; 2004b; 2004a) gestalteten sich immer mit mehreren Passagen in einer Art rückvermischem Kessel mit Kreislauf. Auch stellten sie maximale

Inaktivierungen von weniger als 90 % fest. Die Aussagen bezüglich der Kinetik wurden dabei nach zwei Messpunkten (0 und 15 min) getroffen, welche nur zufällig noch im Bereich der Watson-Chick-Kinetik liegen könnten. Auch wurde eine annähernd praxisrelevante Inaktivierungsrate von $0,13 \text{ min}^{-1}$ nur bei der Kombination von 150 mg L^{-1} Wasserstoffperoxid mit der Kavitation der Lochplatte bei 5,14 bar Eingangsdruk beobachtet. Die Berechnung eines theoretischen $C_0^n \cdot t_{99}$ von $2,3 \text{ g L}^{-1} \text{ min}$ spricht für keine hohe Effizienz. Auch die Auswirkung der Temperatur und der Einfluss der Biomasse wurden für die hier vorgestellte Kombination noch nicht gezielt untersucht.

Nur Chand et al. (2007) arbeitete mit einem speziellen Reaktortyp, dem sogenannten Liquid Whistle Reaktor, und konnte bei Keimdichten von 10^9 KbE ml^{-1} an *E. coli* nur mit längeren Ozonisierungen (15 – 180 min) eine Abreicherung von bis zu 99,99 % erzielen. Die Konzentration ohne Keimbelastung erreichte dabei 3,5 ppm. Die beobachtete Synergie hing dabei sowohl von dem verwendeten Druck (bis zu 140 bar) des Reaktors, als auch von der Art und dem Zeitpunkt der Ozonbegasung ab. Ansonsten trafen sie nur pauschale Abschätzungen über eine gewisse Effizienzsteigerung durch die Kombination von Kavitation und Ozon.

Abgesehen davon lässt sich der beobachtete Bereich der optimalen Kavitationszahl von $C_v = 0,06 - 0,2$ mit den Daten von Balasundaram und Harrison (2006a; 2006b) bestätigen, welche für die Inaktivierung von *E. coli* und für den Zellaufschluss von Hefen durch die alleinige Anwendung der hydrodynamischen Kavitation ein Optimum von $C_v = 0,13 - 0,17$ beschreiben.

6.4. Inaktivierung von *E. coli* mit Kavitation (GND) und ClO_2

6.4.1. Einfluss der Kavitationszahl

Bei dem Mikrogitter mit Nachlaufdüse ist der Einfluss der Kavitationszahl für eine Passage in Abbildung 6.26 dargestellt. Es sind die $C_0^{n^*}t_{99}$ für die Volumenströme von 0,35, 0,40 und 0,45 L s^{-1} , die entsprechende Kavitationszahlen von 0,12, 0,14 und 0,17 in der Gitterebene ergeben, aufgetragen. Es zeigt sich bei den untersuchten Kavitationszahlen keine Tendenz. Höhere Kavitationszahlen wurden nicht untersucht, da die stabile oszillierende Kavitation erst bei $C_v = 0,20$ einsetzt (vergleiche Kapitel 5.3). Niedrigere Kavitationszahlen hingegen werden erst mit sehr hohen Energieeinträgen erreicht und liegen somit auch außerhalb eines optimalen Betriebspunkts.

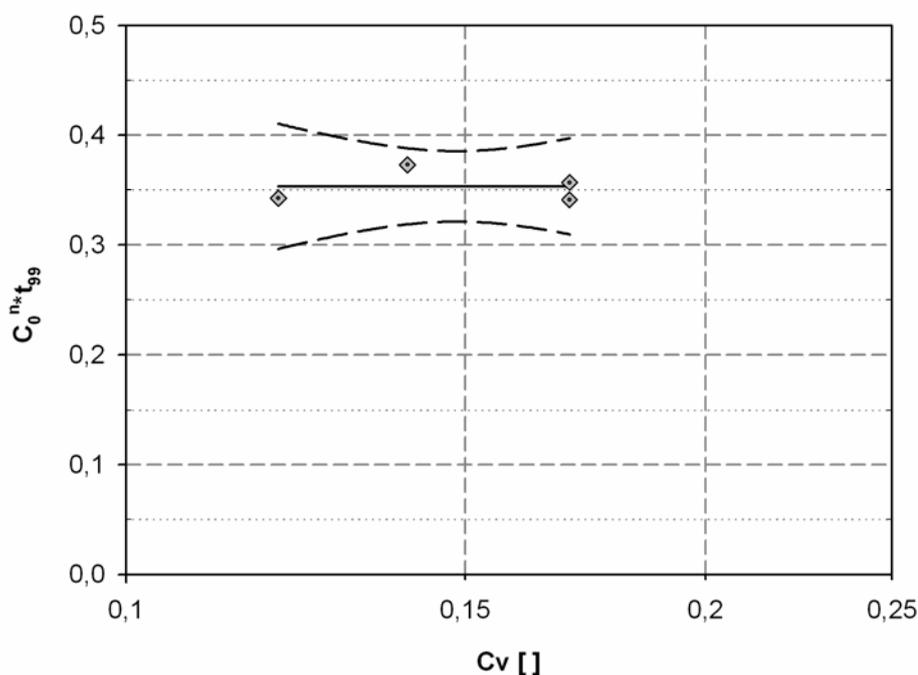


Abbildung 6.26: Einfluss der Kavitationszahl (Gitterebene) auf den $C_0^{n^*}t_{99}$ des Mikrogitters mit Nachlaufdüse ($C_0 = 0,25 \text{ mg L}^{-1} \text{ ClO}_2$, $\sim 2 \cdot 10^7 \text{ Start-KbE ml}^{-1}$, $20 \text{ }^\circ\text{C}$).

6.4.2. Einfluss der Temperatur

In Abbildung 6.27 sind die $C_0^{n^*}t_{99}$ bei einer konstanten Startkonzentration von 0,30 mg L^{-1} und einer Startkeimzahl von $\sim 2 \cdot 10^7 \text{ KbE ml}^{-1}$ aufgetragen. Auch hier liefert

die potentielle Regression eine gute Näherung (R^2 von 0,97). Die Auftragung der Inaktivierungsgeschwindigkeitskonstanten im Arrhenius-Plot zeigen, wie auch schon für die Lochblende beobachtet, einen deutlichen linearen Zusammenhang für 20 – 40 °C, während der Wert bei 10 °C stark nach unten abweicht (Vergleiche Abbildung 6.28). Die Werte liegen generell aber höher als bei der Lochblende und auch näher an denen der reinen ClO_2 -Inkubation. Die Aktivierungsenergie E_a berechnet sich dabei zu 34 kJ mol^{-1} und der Frequenzfaktor k_0 zu $1,8 \cdot 10^7$ ($\text{Ln } k_0 = 16,7 \text{ Ln [L mg}^{-1} \text{ min}^{-1}]$). Sie liegen somit zwischen denen der reinen ClO_2 -Inkubation und der Kombination mit der Lochblende. In Tabelle 6.3 sind noch einmal alle Werte im Vergleich aufgeführt.

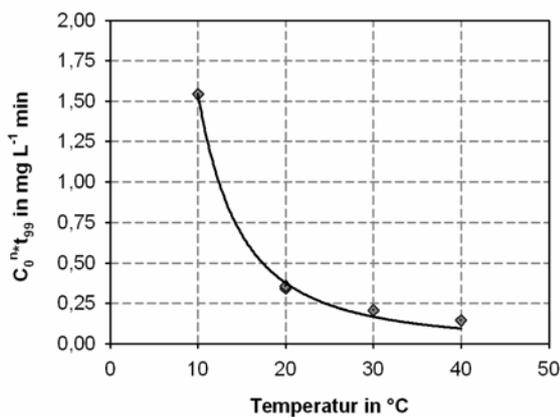


Abbildung 6.27: Temperaturabhängigkeit des $C_0^{n*}t_{99}$ bei einer Passage durch das Mikrogitter mit Nachlaufdüse ($C_0 = 0,3 \text{ mg L}^{-1} \text{ ClO}_2$, $\sim 2 \cdot 10^7 \text{ KBE ml}^{-1}$ Startkeimzahl, Potentielle Regression)

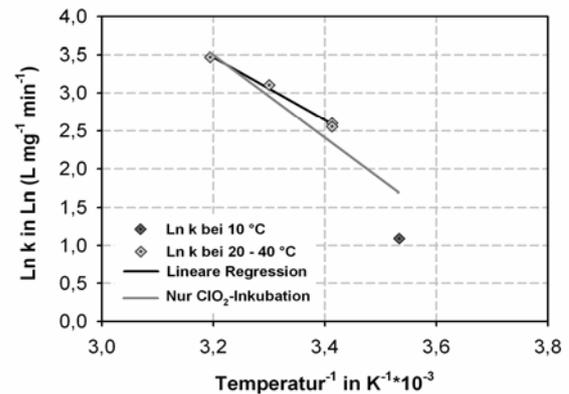


Abbildung 6.28: Arrhenius-Plot der Inaktivierungsgeschwindigkeiten k über dem Kehrwert der Temperatur in Kelvin und Vergleich mit der reinen ClO_2 -Inaktivierung (GND = Mikrogitter mit Nachlaufdüse).

Tabelle 6.2: Vergleich der Aktivierungsenergien und des Frequenzfaktoren für die drei untersuchten Verfahren.

Verfahren	Aktivierungsenergie E_a in kJ mol^{-1}	Frequenzfaktor k_0 in $\text{L mg}^{-1} \text{ min}^{-1}$
Nur ClO_2	45	$1,3 \cdot 10^9$
Lochblende	25	$2,7 \cdot 10^5$
Mikrogitter mit Nachlaufdüse	34	$1,8 \cdot 10^7$

Der Einfluss der Temperatur und der Kavitationszahl wurde auch noch mit der Methode der internen Inkubation untersucht, da hier eine sehr genaue Temperaturkonstanz für die gesamte Versuchsdauer gewährleistet werden konnte. Die Ergebnisse sind in Abbildung 6.29 in der Auftragung des $C_0^{n*t_{99}}$ über sowohl der Temperatur als auch der Kavitationszahl dargestellt. Die Werte liegen dabei generell etwas höher als bei der externen Inkubation, mit derselben Begründung wie es in Kapitel 6.3.2 schon beschrieben und in Kapitel 6.3.5 diskutiert wurde).

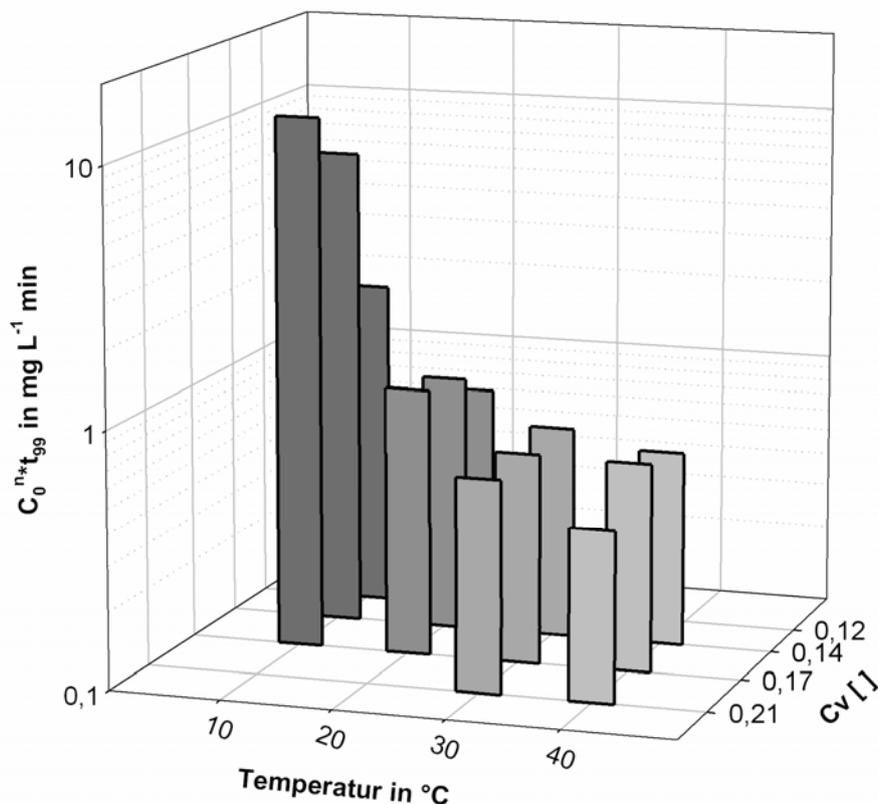


Abbildung 6.29: Einfluss der Temperatur und des Volumenstroms auf den $C_0^{n*t_{99}}$ des Mikrogitters mit Nachlaufdüse bei $C_0 = 0,30 \text{ mg L}^{-1} \text{ ClO}_2$ und $2 \cdot 10^7 \text{ Start-KbE ml}^{-1}$ (interne Inkubation).

Für jeden Volumenstrom und auch global ist eine Abnahme der $C_0^{n*t_{99}}$ mit einer Steigerung der Temperatur ersichtlich. Innerhalb einer Temperatur zeigt sich für 20 – 40 °C die zuvor beschriebene Unabhängigkeit von der Kavitationszahl. Bei 10 °C zeigt sich jedoch eine signifikante Abnahme des $C_0^{n*t_{99}}$ mit der Verringerung der Kavitationszahl.

Vergleicht man für jeden Volumenstrom die Änderung der $C_0^{n \cdot t_{99}}$ mit der Temperatur, so zeigt sich eine starke Abnahme von 10 nach 20 °C, die dann in einer fast linearen Beziehung weiter abfällt (mit Ausnahme bei $C_v = 0,17$ zwischen 30 und 40 °C). Es spiegelt sich somit bei der internen Inkubation bei 10 °C eine starke Abweichung von der Kinetik nach Arrhenius wider, wie sie auch schon für die externe Inkubation und bei der Kombination mit der Lochblende beobachtet wurde.

Interessanterweise ergibt sich eine signifikante Abnahme der $C_0^{n \cdot t_{99}}$ bei 10 °C mit der Erniedrigung der Kavitationszahl. Der Wert von $C_v = 0,12$ korreliert dann sogar gut mit den anderen Werten von 20 – 40 °C in der Auftragung des Arrhenius-Plots (Daten nicht gezeigt). Die sonst auch bei der externen Inkubation beobachtete Abweichung bei 10 °C hebt sich bei dieser Kavitationszahl scheinbar auf.

6.4.3. Einfluss der Chlordioxidkonzentration

Für diese Versuche wurde für das Mikrogitter mit Nachlaufdüse ein konstanter Volumenstrom von $0,35 \text{ L s}^{-1}$ gewählt. Dies entspricht einer Kavitationszahl von $C_v = 0,17$ (im Mikrogitter). Die t_{99} sind doppelt logarithmisch über der Startkonzentration an ClO_2 in Abbildung 6.30 aufgetragen und mit den Daten der reinen ClO_2 -Inkubation verglichen.

Die Abhängigkeit von der Chlordioxid-Startkonzentration gestaltet sich ganz ähnlich zu den Ergebnissen der Lochblende. Es ergibt sich eine lineare Abhängigkeit ab einem Wert von $C_0 = 0,25 \text{ mg L}^{-1}$. Unterhalb dieser Startkonzentration, bei den Versuchen mit $C_0 = 0,20 \text{ mg L}^{-1}$, wird jedoch fast keine Inaktivierung mehr erreicht (vergleiche hierzu Abbildung 6.31). Die Steigung der Geraden ergibt einen Verdünnungsfaktor von $n = 1,0$. Der Verdünnungsfaktor liegt 40 % höher als bei der reinen ClO_2 -Inkubation. Wie aber schon in Kapitel 6.1.1 beschrieben wurde, würde ein n von 1,0 noch an der äußeren Grenzen der 95 % Konfidenz der reinen ClO_2 -Inkubation liegen. Von einem signifikanten Unterschied kann hier nicht ausgegangen werden. Dies wird auch in Abbildung 6.30 ersichtlich. Hier überlappen sich die beiden Konfidenzintervalle über weite Bereiche bis an die Enden der Regression. Hieraus lässt sich auf keine signifikant unterschiedliche Steigung schließen.

Dementsprechend gibt es auch für Startkonzentrationen über $0,30 \text{ mg L}^{-1} \text{ ClO}_2$ keinen signifikanten Unterschied in der Inaktivierungsgeschwindigkeit zwischen der Kombination von Mikrogitter mit Nachlaufdüse und der reinen Chlordioxid-Inkubation.

Es stellt sich eine Reduzierung der t_{99} nur bei einer Startkonzentration von 0,25 mg L⁻¹ und 0,30 mg L⁻¹ Chlordioxid ein.

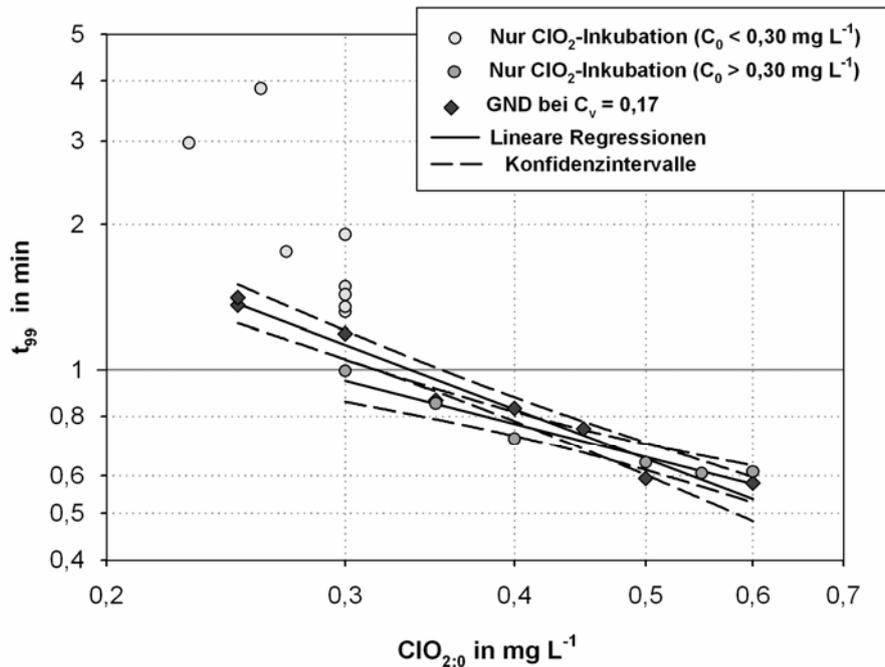


Abbildung 6.30: Auftragung der t_{99} des Mikrogitters mit Nachlaufdüse (GND) über der Chlordioxid-Startkonzentration und Vergleich mit der reinen ClO_2 -Inkubation ($\sim 2 \cdot 10^7$ Start-KbE ml⁻¹, 20 °C).

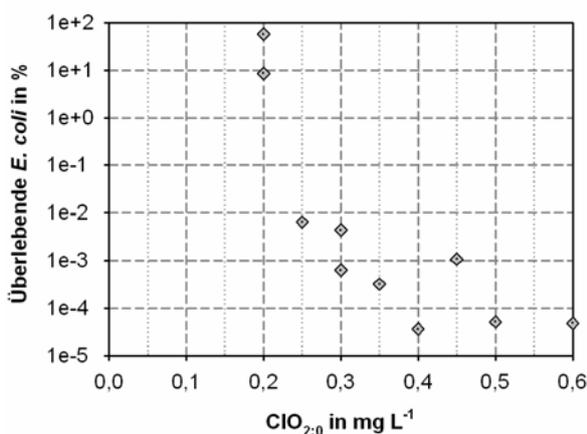


Abbildung 6.31: Gemessene Endkeimzahlen des GND (> 3 Minuten Inaktivierungszeit) in % zur Startkeimzahl bei verschiedenen Startkonzentrationen an ClO_2 .

In Abbildung 6.32 sind für die Startkonzentrationen von 0,30 mg L⁻¹ und den Startkeimzahlen von $\sim 3 \cdot 10^7$ (linkes Bild) und für 0,25 mg L⁻¹ ClO_2 und den Startkeimzahlen von $\sim 2 \cdot 10^7$ KbE ml⁻¹ (rechtes Bild) die Verläufe der Lebendkeimzahl

über der Zeit im direkten Vergleich dargestellt. Es zeigt sich in Kombination mit dem Mikrogitter mit Nachlaufdüse, ähnlich wie schon bei der Lochblende beobachtet, eine Erhöhung der Inaktivierungsgeschwindigkeit um den Faktor 1,4 bei der hohen Startkeimzahl und $C_0 = 0,30 \text{ mg L}^{-1} \text{ ClO}_2$ und um den Faktor 2,5 bei der niedrigen Startkeimzahl und der Startkonzentration von $0,25 \text{ mg L}^{-1}$. Die Reduktion der gemessenen Endkeimzahl gegenüber der reinen Chlordioxidbehandlung liegt in etwa bei 2 Größenordnungen.

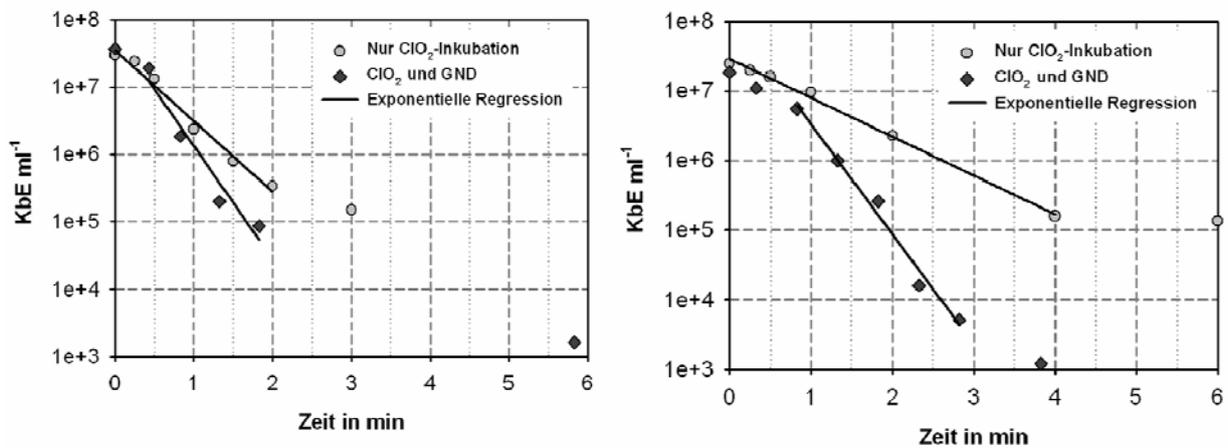


Abbildung 6.32: Direkter Vergleich des Lebendkeimzahlverlaufs der reinen ClO_2 -Inkubation mit dem Mikrogitter mit Nachlaufdüse bei $C_0 = 0,30 \text{ mg L}^{-1} \text{ ClO}_2$ und $\sim 3 \cdot 10^7 \text{ ml}^{-1}$ Start-KbE (links) und $C_0 \approx 0,25 \text{ mg L}^{-1}$ und $\sim 2 \cdot 10^7 \text{ ml}^{-1}$ Start-KbE (rechts).

6.4.4. Einfluss des Gegendrucks

Da die Blasenoszillation stark vom umgebenden Druckfeld abhängig ist, und hierdurch ein starker Einfluss auf die Wirkung der Zellen verursacht wird, wurde dieser Aspekt zur Vergleichbarkeit auch bei einer Startkonzentration von $0,30 \text{ mg L}^{-1}$ Chlordioxid untersucht. Der Gegendruck wurde dabei durch das Drosselventil im Nachlauf des Mikrogitters mit Nachlaufdüse aufgebaut und der Druck mittels des Sensors kontrolliert. Der Volumenstrom wurde dabei so angepasst, dass bei jedem Gegendruck nach der Berechnung laut Kavitationszahl immer der konstante Wert von $C_v = 1,1$ im Nachlaufdüse (entsprechend $C_v = 0,17$ in der Gitterebene) eingehalten wurde. Die Volumenströme wurden entsprechend den Gegendrücken von 1,35, 1,65 und 2,0 bar (Absolut-Druck) von 0,35 auf 0,38, 0,42 und $0,48 \text{ L s}^{-1}$ gesteigert. Die Änderung der $C_0^n \cdot t_{99}$ mit dem Gegendruck ist in Abbildung 6.33

dargestellt und linear korreliert. Es zeigt sich eine konstante Abnahme des $C_0^{n^*}t_{99}$ mit der Zunahme des Gegendrucks. Das Konfidenzintervall von 95 % lässt zwar auf eine schlechte Korrelation schließen, die aber hauptsächlich durch die geringe Anzahl an Datenpunkten begründet ist. Trägt man die erreichten t_{99} als Prozent gegenüber den mittleren t_{99} der reinen ClO_2 -Inkubation (t_{99} von $1,4 \pm 0,3$ min bei $C_0 = 0,30 \text{ mg L}^{-1}$) über die benötigte hydraulische Energie auf, so ergibt sich eine Abhängigkeit nach Abbildung 6.34. Während bei dem Energieeintrag des Betriebspunkts ohne Gegendruck ($0,12 \text{ kWh m}^{-3}$ bei $0,35 \text{ L s}^{-1}$) gegenüber der reinen ClO_2 -Inkubation eine Reduzierung der Inaktivierungszeit auf 84 % erreicht wird, so reduziert sich die benötigte Zeit auf nur noch 60 % bei einer Verdoppelung des Energieeintrags.

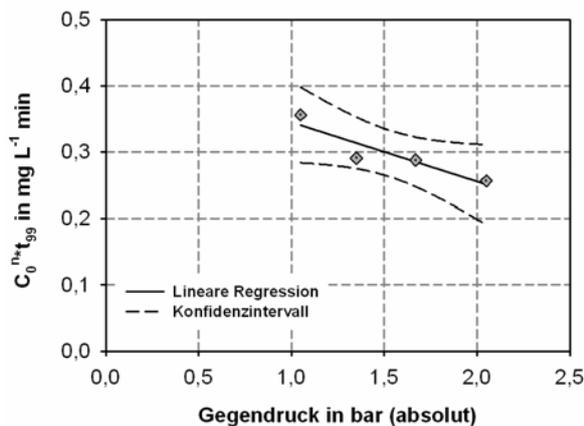


Abbildung 6.33: Einfluss des Gegendrucks (Druck nach dem Mikrogitter mit Nachlaufdüse) auf den $C_0^{n^*}t_{99}$ ($C_0 = 0,30 \text{ mg L}^{-1} \text{ ClO}_2$).

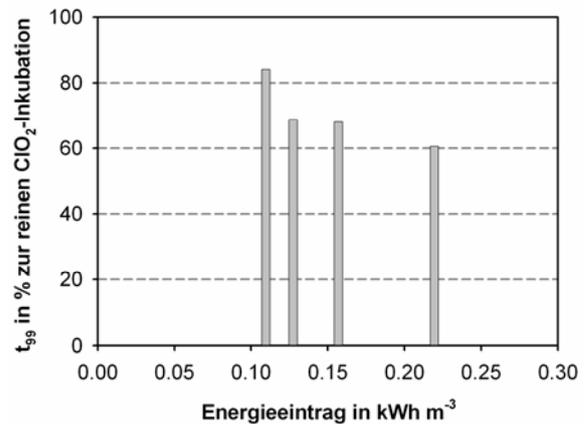


Abbildung 6.34: Vergleich der t_{99} des GND in % zur reinen ClO_2 -Inkubation (Mittelwert bei $C_0 = 0,30 \text{ mg L}^{-1}$) über dem hydraulischen Energieeintrag.

6.4.5. Diskussion

Im untersuchten Bereich von $0,35 - 0,45 \text{ L s}^{-1}$ hat die Kavitationszahl keinen signifikanten Einfluss auf die Inaktivierungseffizienz. Zwar lässt sich mit steigendem Volumenstrom optisch eine Verlängerung der Zone des oszillierenden Blasenbereichs feststellen, der dann bei $0,45 \text{ L s}^{-1}$ schon bis zu dem Querschnitt mit 8 mm reicht. Es ist aber auch zu berücksichtigen, dass dieser Bereich der oszillierenden Blasen schneller passiert wird und die Behandlungszeit sich sogar verkürzen sollte, da die Länge der Zone nicht proportional mit dem Volumenstrom anwächst. Zwar ist eine höhere Intensität der transienten Kavitation am Ende der

Düse zu erwarten, die sich durch die Verschiebung der Kollapszone zu größeren Querschnitten bemerkbar macht. Da hier der statische Druck rapider ansteigt wird der Blasen kollaps intensiver ausfallen. Inwieweit sich die Art der oszillierenden Kavitation mit dem Volumenstrom ändert, kann aber nicht genauer abgeschätzt werden. Auch werden durch das Gitter mit höherer Frequenz Blasen ausgelöst, so dass die Blasendichte konstant bleiben sollte. Ob sich aber die Amplituden und Frequenzen der einzelnen Blasen verändern, lässt sich nur vermuten. Somit ist das Ergebnis in gewisser Weise schlüssig. Vergleicht man beispielsweise die entsprechende Kavitationszahl in der Gitterebene, so erniedrigt sich diese von 0,17 nach 0,12. In diesem Bereich verursachte auch die Lochblende keine große Veränderung des $C_0^{n \cdot t_{99}}$ mehr.

Im Gegensatz dazu wurde aber für die interne Inkubation eine tendenzielle Steigerung der Inaktivierung mit der Reduzierung der Kavitationszahl bei 10 °C beobachtet. Mögliche Gründe für die starke Abweichung von der Arrhenius-Beziehung bei 10°C für die höhere Kavitationszahlen und bei externen Inkubation wurden zuvor schon für die Lochblende in Kapitel 6.3.5 diskutiert. Eine Erhöhung der mechanischen Belastung durch Erhöhung des Volumenstroms von 0,35 nach 0,45 L s⁻¹ (Reduzierung des C_v von 0,17 nach 0,12) vermag den Effekt der veränderten Membraneigenschaften zu kompensieren. Bei genügend hoher mechanischer Beanspruchung würde auch die entsprechende Inaktivierungsgeschwindigkeit erreicht werden, wie es die Zellen, die sich nicht an die Temperatur adaptierten, aufweisen würden.

Ansonsten zeigt sich für 20 – 40 °C im Arrhenius-Plot eine zur Lochblende oder der reinen ClO₂-Inkubation ähnliche Temperaturabhängigkeit. Die Werte liegen in der Größenordnung der reinen ClO₂-Inkubation, wobei aber auch hier wieder (ähnlich zur Lochblende) sowohl die Steigung als auch die Abszisse und damit der Frequenzfaktor und die Aktivierungsenergie geringer ausfallen als bei der reinen ClO₂-Inkubation. Die Änderung fällt aber nicht so niedrig aus wie bei der Lochblende und die Werte für sowohl k_0 als auch E_a liegen fast genau in der Mitte zwischen der Lochblende und der reinen ClO₂-Inkubation (vergleiche Tabelle 6.3). Warum sich eine so hohe Variabilität der Werte zeigt, bleibt noch eine offene Frage. Eine Möglichkeit liegt vermutlich in der Einzelbestimmung der Werte für die Kombinationen mit Kavitation. Zwei oder drei statistisch abweichende Werte haben dann sofort einen gewichtigen Einfluss auf das Ergebnis. Dass sich aber sowohl bei

der Lochblende als auch bei dem Mikrogitter mit Nachlaufdüse die Aktivierungsenergien und Frequenzfaktoren verringern, könnte dann doch auf einen Einfluss der Kavitation zurückführbar sein. Gerade bei hohen Temperaturen von 30 oder 40 °C ist der Dampfdruck von Chlordioxid nicht zu vernachlässigen. Die Bildung von Gas- und Dampfphasen durch Kavitation beschleunigt dann eventuell den Ausgasungsprozess des Chlordioxids. Auch vermag die Kavitation an sich durch die stattfindende Aquasonolyse eine radikalische Zersetzung des Chlordioxids zu beschleunigen. Untersuchungen der Konzentration in reinen Pufferlösungen zeigten jedoch eine geringe Abnahme der Konzentration bei der kontinuierlichen Behandlung mit Kavitation. Auch bei erhöhten Temperaturen konnte nur eine Abnahme der Konzentration von maximal 3,5 % pro Minute festgestellt werden. Im Vergleich zur Zehrung unter der Keimbelastung würde dies nicht ins Gewicht fallen.

Auch das Mikrogitter mit Nachlaufdüse zeigt eine „Verlängerung“ der linearen Abhängigkeit der logarithmierten t_{99} über die logarithmierten Start- ClO_2 -Konzentrationen bis zu einem Wert von 0,25 mg L⁻¹. Für Startkonzentrationen ab 0,30 bis 0,60 mg L⁻¹ ClO_2 lässt sich keine Erhöhung der Inaktivierungsgeschwindigkeit gegenüber der reinen ClO_2 -Inkubation verzeichnen. Der Verdünnungsfaktor von $n = 1,0$ könnte tendenziell für höhere Konzentrationen über 0,60 mg L⁻¹ einen signifikanten Unterschied hervorrufen (einen weiterhin konstanten Verdünnungsfaktor vorausgesetzt). Im Vergleich zur Lochblende ist dieses überraschende Ergebnis eigentlich nicht schlüssig. Sollte das Mikrogitter mit Nachlaufdüse keinen positiven Effekt auf die Desinfektion mit Chlordioxid aufweisen, dann sollte sich auch bei $C_0 = 0,25$ und $0,30$ mg L⁻¹ ein Verlauf nach der reinen ClO_2 -Inkubation ergeben. Aber auch die gemessenen Endkeimzahlen zeigen noch eine Reduktion von über 99,99 % bei $C_0 = 0,25$ mg L⁻¹ ClO_2 .

Auch von Moholkar und Pandit (2001) wurde schon eine Erhöhung der Oszillationsintensität mit steigendem Umgebungsdruck am Beispiel einer Einzelblasen-Simulation für eine Venturi-Düse festgestellt. Auch wäre die Oszillationsintensität mit der von Ultraschall vergleichbar. Hier zeigt sich mit steigendem Umgebungsdruck, dass sowohl die Intensität der oszillierenden als auch der transienten Kavitation erhöht wird (Suslick, 1990). Nach Gleichung 10 reduziert sich zwar der maximale Radius einer Kavitationsblase um $\frac{1}{4}$ mit der Verdopplung des Umgebungsdrucks. Der Kollapsdruck erhöht sich aber proportional mit dem Druck nach Gleichung 11 und würde hiermit die Änderung der Kavitationsintensität

dominieren. Diese Steigerung der Kollapsintensität oder auch Oszillationsintensität der Blasen erzielt folglich eine höhere mechanische Belastung (durch beispielsweise höhere Blasenwand-Geschwindigkeiten, erzeugte Wirbel oder Druckwellen) auf die umgebenden Zellen und deren Membranintegrität (Guzman et al., 2001). Die Erhöhung der Effektivität bei der Desinfektion von bis zu 40 % gegenüber der reinen ClO_2 -Inkubation würde aber auch eine Verdopplung des hydraulischen Energieeintrags bedingen.

6.5. Abschließender Vergleich und Diskussion

Die Kinetik pseudo erster Ordnung nach „Watson-Chick“ lässt sich auch für stark mit Keimen belastete Wässer unter Begrenzung der Randbedingungen wie der Startkeimzahl (der Biotrockenmasse) und der Chlordioxid-Startkonzentration anwenden. Eine weitere Bedingung scheint dabei jedoch, dass alleinig Keime als einzige Verbraucher für das Desinfektionsmittel verwendet werden. Hier kann aber, wie gezeigt wurde, auch mit dem vereinfachten Bezug auf die Startkonzentration eine Beschreibung der Inaktivierungskinetik ohne Berücksichtigung des Verbrauchs an ClO_2 erfolgen. Es zeigt sich aber allgemein bei solch hohen Keimzahlen eine empfindliche Abhängigkeit von jeder weiteren Veränderung der Startkeimzahl. Ein Effekt dabei mag sein, dass sich das Chlordioxid an einer sich quadratisch mit der Zellzahl vergrößernden Fläche der Zellhülle verbraucht, bevor es eine effizientere letale Wirkung in der Zelle entfalten kann. Um den Einfluss der Startkeimzahl zu berücksichtigen, könnte man die Kinetik um einen Faktor erweitern, der dann die Schwellenkonzentration des Desinfektionsmittels mit anpasst.

In Kombination mit Kavitation zeigt sich dabei eine Optimierung der Inaktivierung für genau diesen Grenzbereich von niedrigen Startkonzentrationen an ClO_2 und hohen Keimzahlen. Die erzielten Inaktivierungszeiten für 99 % Lebendkeimzahlreduktion sind in Abbildung 6.35 ($C_0 = 0,25 \text{ mg L}^{-1} \text{ ClO}_2$) und 6.36 ($C_0 = 0,30 \text{ mg L}^{-1} \text{ ClO}_2$) dargestellt. Die Werte der reinen ClO_2 -Inkubation sind dabei gemittelte Werte aus allen Experimenten bei den jeweiligen Startkonzentrationen (bei $0,25 \text{ mg L}^{-1}$ wurden dabei die Werte von $0,23$ und $0,26$, und $0,27 \text{ mg L}^{-1}$ Start- ClO_2 gemittelt). Die hohen Standardabweichungen ergeben sich aus dem dynamischen Verhalten der Inaktivierungsgeschwindigkeit bei sich nur geringfügig verändernden Startkeimzahlen. Für das Mikrogitter mit Nachlaufdüse wurden zum Vergleich auch noch die Werte mit steigendem Gegendruck mit aufgetragen.

Besonders bei der Startkonzentration von $0,25 \text{ mg L}^{-1}$ zeigt sich die Überlegenheit der Kombination gegenüber der reinen ClO_2 -Inkubation. Die Inaktivierungszeit lässt sich im Falle des Mikrogitters mit Nachlaufdüse um 50 % und im Falle der Lochblende sogar um 77 % reduzieren. Bei einer Startkonzentration von $0,30 \text{ mg L}^{-1} \text{ ClO}_2$ fällt die Reduzierung mit 16 % (GND) beziehungsweise 30 % (LBL) etwas geringer aus. Mit Steigerung des Gegendrucks bei dem Mikrogitter mit Nachlaufdüse ist jedoch im Falle von 2 bar auch eine Reduzierung des t_{99} von 40 % möglich. Es

reichen aber in etwa schon 1,7 bar (Berechnung aus der linearen Regression Abb. 6.33) um der Lochblende gleichwertig zu sein.

Ein direkter Vergleich der beiden Startkonzentrationen zeigt, dass bei $C_0 = 0,25 \text{ mg L}^{-1}$ für beide Kavitationsapparaturen sogar noch eine höhere Inaktivierungsgeschwindigkeit erreicht werden konnte als sie von der reinen ClO_2 -Inkubation bei $0,30 \text{ mg L}^{-1}$ erreicht wurde. Daraus wird eine direkte Einsparung von 17 % an ClO_2 ersichtlich ohne dabei die Kontaktzeit verlängern zu müssen. Abgesehen davon wird für die reine ClO_2 -Inkubation bei $0,25 \text{ mg L}^{-1}$ eine Inaktivierung von mehr als 99 % an Keimen nicht mehr sicher erreicht, während die beiden Kavitationsapparaturen dies ausnahmslos gewährleisten konnten.

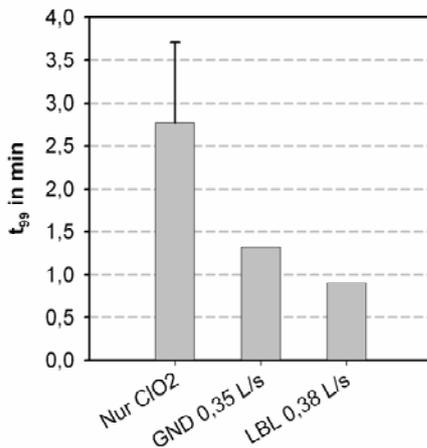


Abbildung 6.35: Vergleich des Mittelwertes des t_{99} der reinen ClO_2 -Inkubation mit den Werten der Lochblende (LBL) und des Mikrogitters mit Nachlaufdüse (GND) bei $C_0 = 0,25 \text{ mg L}^{-1} \text{ ClO}_2$ (Startkeimzahl $2 - 3 \cdot 10^7 \text{ KbE ml}^{-1}$).

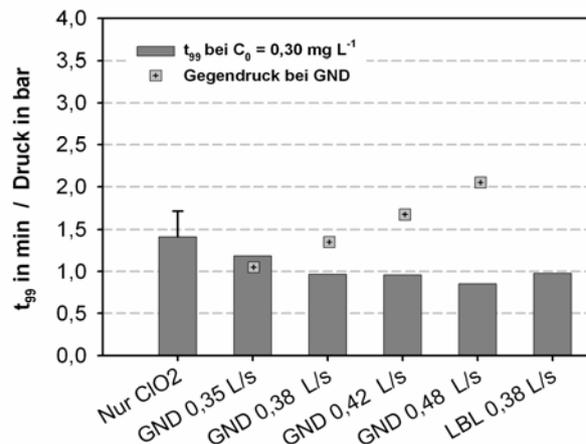


Abbildung 6.36: Vergleich der t_{99} von reiner ClO_2 -Inkubation (Mittelwert), Lochblende und GND bei verschiedenen Gegendrücken bei $C_0 = 0,30 \text{ mg L}^{-1} \text{ ClO}_2$ (Startkeimzahl $2 - 3 \cdot 10^7 \text{ KbE ml}^{-1}$).

Für höhere Startkonzentrationen an Chlordioxid ($> 0,30 \text{ mg L}^{-1}$) lässt sich die Kinetik mit dem $C \cdot t$ -Konzept beschreiben. Es ergeben sich die Verläufe nach Abbildung 6.37. Hierbei wurden wegen der Übersichtlichkeit nur die linearen Regressionen aufgetragen. Während die Lochblende für alle Konzentrationen eine Reduzierung des t_{99} um $\sim 30 \%$ aufweist, ist für das Mikrogitter mit Lochblende keine Reduzierung mehr ersichtlich.

Eine mögliche Erklärung wäre, dass sich die starke Synergiewirkung in der Kombination mit Kavitation für den Bereich der „ClO₂-Limitierung“ ($C_0 = 0,25 - 0,30 \text{ mg L}^{-1}$) nicht unbedingt proportional für höhere Konzentrationen fortsetzen muss. Da das Mikrogitter mit Nachlaufdüse auch bei den niedrigen Startkonzentrationen der Lochblende im Schnitt um einen Faktor 1,6 unterliegt, wäre dies auch eine plausible Erklärung für die Reduzierung der t_{99} bei der Lochblende für auch höhere ClO₂-Startkonzentrationen. Während die Lochblende noch einen „Teil“ der starken Synergie aus dem Bereich niedrigen ClO₂-Startkonzentrationen für die höheren Startkonzentrationen bewahrt, könnte die Inaktivierungsgeschwindigkeit des Mikrogitters mit Nachlaufdüse schon durch den „Überschuss“ an ClO₂ durch die reine ClO₂-Wirkung dominiert werden. Eine Wirkung der Kavitation verschwindet hier möglicherweise schon im Messrauschen.

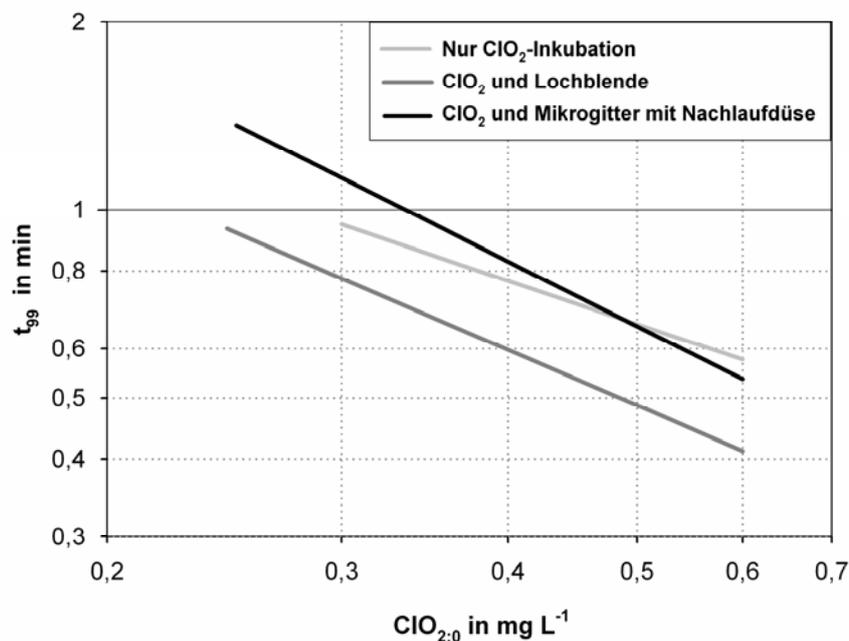


Abbildung 6.37: Vergleich der Linearen Regressionen von Log t_{99} über Log ClO₂ für die reine ClO₂-Inkubation und Kombination Chlordioxid mit Lochblende und Mikrogitter mit Nachlaufdüse ($\sim 2 \cdot 10^7$ Start-KbE ml⁻¹, 20 °C, ab $C_0 = 0,25$ oder $0,30 \text{ mg L}^{-1}$).

Eine weitere Begründung liegt vermutlich in der unterschiedlichen Art der Kavitation, die die beiden Apparaturen aufweisen. Wie in Kapitel 6.2 schon festgestellt wurde, unterliegt das Mikrogitter mit Nachlaufdüse auch bei dem Zellaufschluss bei

niedrigen Zellkonzentrationen der Lochblende. Die für die Desinfektionsversuche verwendeten Keimzahlkonzentrationen lagen noch um mehr als eine Größenordnung unter denen für den Zellaufschluss. Falls sich diese Tendenz fortsetzt, so wäre bei einer Zelldichte von $2 \cdot 10^7$ KbE ml⁻¹ eine noch viel geringere letale Schädigung der Keime mit dem Mikrogitter mit Nachlaufdüse zu erwarten. Entsprechend sollte sich auch der Prozentsatz an Zellen, die eine ausreichende mechanische Belastung für eine synergetische Wirkung mit Chlordioxid erfahren, reduzieren. Ähnliches konnte Guzman et al. (2003) auch bei der Ultraschallbehandlung von Zellen mit Mikroblasen feststellen. Bei gleich bleibender Konzentration an Mikroblasen verringerte sich jedoch mit der Reduktion der Zellkonzentration die Zahl der permeabilisierten Zellen überproportional.

Die Wirkung einer transienten Kavitation mit Scherkräften, die von den Druckwellen von kollabierenden Blasen herrühren, scheint demnach auch bei geringen Zelldichten einen nachhaltigeren Effekt zu entfalten. Unterstützt wird diese These zudem dadurch, dass bei dem Mikrogitter mit Nachlaufdüse mit der Steigerung des Gegendrucks, und damit der Intensität der Kavitation und Blasenoszillation, dann auch eine Steigerung der Inaktivierung zu erreichen ist.

Vergleicht man die Rate der Farbstofffreisetzung (Kapitel 6.2.2) mit den Ergebnissen der kombinierten Inaktivierung mittels Chlordioxid, so zeigt sich ein weiteres diskussionswürdiges Ergebnis. Bei einer einzigen Passage werden im Durchschnitt nur 0,27 % der maximalen Konzentration des Farbstoffes Calcein freigesetzt. Auch umgekehrt würde nur 0,3 % eines extrazellulär vorliegenden Stoffes in die Zelle gelangen. Umso erstaunlicher ist es, dass eine Passage in Kombination mit Chlordioxid die Inaktivierungsrate jedoch um bis zu 70 % steigern kann. Vergleicht man aber hierbei die Extraktionsrate von der β -Galaktosidase, die mit 0,015 % pro Passage noch einmal eine Größenordnung unter der Farbstofffreisetzung liegt, mit dem Verhältnis der Molekulargewichte, so zeigt sich ein Unterschied von zwei Größenordnungen (β -Galaktosidase 71 kDa zu Calcein 623). Mit der Annahme, dass sich diese Korrelation in die Gegenrichtung zu kleineren Molekülgrößen auch fortsetzt, wäre für Chlordioxid mit 67,45 Da eine Transportrate von 1 – 2 % pro Passage vorstellbar. In Anbetracht der vermutlich viel höheren Effizienz der intrazellulären Wirkung von Chlordioxid, stellt sich die hier beobachtete teilweise starke Synergie zwischen hydrodynamischer Kavitation und dem Chlordioxid als durchaus zutreffend und plausibel dar.

Ein hierbei weiterer diskussionswürdiger Aspekt ist der auf Grund der Bauart der Pumpe konstruktionstechnisch bedingte Zeitunterschied zwischen ClO_2 -Dosierung und der Beaufschlagung mit Kavitation. Je nach Volumenstrom erfolgte der erste Kontakt der Keime mit Chlordioxid bis zu 20 Sekunden vor der Kavitationsapparatur. Angesichts der schnellen Zehrung durch die hohe Keimzahl fällt die Konzentration des Chlordioxids binnen der ersten Sekunden am stärksten ab. Da für die Effizienz der Inaktivierung die aktuelle Konzentration im Moment der transienten Permeabilisierung der Membran mit Sicherheit eine maßgebliche Rolle spielt, ist die hier verwendete Konfiguration der Pumpe für solche Untersuchungen suboptimal. Ein großer Teil der Startkonzentration des Chlordioxids geht somit in der „normalen“ Wirkung verloren und steht zum Zeitpunkt der Kavitation nicht mehr zur Verfügung. Würde der Diffusionsdruck der Startkonzentration im Moment der Beaufschlagung mit Kavitation und damit der Permeabilisierung der Zellmembran vorhanden sein, wäre sicher eine höhere Synergie erzielbar. Auch sollte der Aspekt beachtet werden, dass gerade bei der Betrachtung von hohen Startkonzentrationen an ClO_2 die Inaktivierung durch Chlordioxid alleine schon so schnell abläuft, dass unter Umständen bis zu 90 % der Keime bereits inaktiviert sind, bis sie die Kavitationsapparatur erreichen. Auch dies mag ein Grund für den Verlust des Synergieeffekts des Mikrogitters mit Nachlaufdüse bei den höheren Startkonzentrationen an Chlordioxid sein. Die Wahrscheinlichkeit eine noch nicht inaktivierte Zelle zu beeinflussen reduziert sich um eine Größenordnung.

Bezüglich des Einflusses der Kavitationszahl ergibt sich für die Lochblende ein optimaler Bereich um $C_v = 0,10$. Für das Mikrogitter mit Nachlaufdüse konnte keine Abhängigkeit von der Kavitationszahl festgestellt werden. Für beide Varianten würde sich somit aus energetischer Sicht (minimal nötiger Leistungseintrag) ein Optimum im Bereich der hier verglichenen Volumenströme von $0,38 \text{ L s}^{-1}$ (Lochblende) und $0,35 \text{ L s}^{-1}$ (Mikrogitter mit Nachlaufdüse) ergeben. Bei diesen Betriebspunkten verbraucht dabei das Mikrogitter mit Nachlaufdüse ($0,12 \text{ kWh m}^{-3}$) in etwa 30 % weniger Energie als die Lochblende ($0,17 \text{ kWh m}^{-3}$).

Die Temperaturabhängigkeit der Inaktivierungsgeschwindigkeit erreicht - trotz der beobachteten Differenzen im Arrhenius-Plot - eine ähnliche Größenordnung bei den drei verglichenen Verfahren. Sie bewirkt im Mittel eine Reduktion des $C_0^{n \cdot t_{99}}$ von 5,5 % pro °C. Die dafür benötigte Energie liegt bei $1,26 \text{ kWh m}^{-3}$ pro 1 °C und ist damit vergleichsweise eine Größenordnung höher als der hydraulische Energiebedarf der

Kavitationserzeugung sowohl von der Lochblende als auch des Mikrogitters mit Nachlaufdüse. Die Anwendung von Kavitation verursacht dabei aber eine Reduzierung der t_{99} von 16 % beziehungsweise 30 % (Vergleich mit dem Mittelwert der reinen ClO_2 -Inkubation) bei einer vergleichbaren Startkonzentration von $0,30 \text{ mg L}^{-1} \text{ ClO}_2$. Eine Behandlung mit Kavitation ist somit energetisch gesehen der Temperaturerhöhung vorzuziehen.

Für das Mikrogitter mit Nachlaufdüse gibt es noch die Möglichkeit den Gegendruck zu erhöhen. Wie in Kapitel 6.4.4 bereits gezeigt wurde, erniedrigt sich der $C_0^{n \cdot t_{99}}$ um $\sim 20 \%$ pro bar Gegendruck. Somit könnte bei gleich bleibender Inaktivierungszeit die Konzentration an Chlordioxid entsprechend reduziert werden. Um aber die Kavitation aufrecht zu erhalten muss dafür der Volumenstrom und damit der Energieeintrag gesteigert werden. Je nach Zielsetzung kann damit ein Optimum zwischen ClO_2 -Bedarf und Energiebedarf verwirklicht werden.

7. Zusammenfassung

Sauberes und frisches Wasser ist eine knappe Ressource, die verantwortungsvoll und effizient genutzt werden sollte. Global werden jedoch bereits über 40 % der vorhandenen nutzbaren Wassermengen verbraucht. Es werden daher in Zukunft große Anforderungen an die Aufbereitung und die Vermeidung von Abwässern durch Recycling von beispielsweise Grauwasser zu erwarten sein. Einer der wichtigsten Schritte der Wiederaufbereitung und Abwasserbehandlung ist dabei die Desinfektion. Für große Mengen eignen sich nur wenige Verfahren für eine nachhaltig hygienische und sichere Desinfektion. Die heutzutage großtechnisch eingesetzten Methoden haben teilweise aber immer noch gravierende Nachteile. Eine große Herausforderung für die am häufigsten eingesetzten chemischen Desinfektionsmittel sind hohe organische Schmutzfrachten und Keimbelastungen, welche die Effizienz stark herabsetzen. Oft kann mit den im Rahmen der erlaubten oder auch ökonomisch noch sinnvoll dosierten Mengen an Desinfektionsmitteln alleine keine Entkeimung auf den geforderten Hygienemaßstab mehr gewährleistet werden.

Abhilfe können hier Kombinationsverfahren bieten, die zum Teil die Nachteile der einzelnen Verfahren ausgleichen oder Synergien nutzen. Eine vielversprechende Kombination scheint der gemeinsame Einsatz von einem chemischen Desinfektionsmittel und Kavitation zu sein. Da durch Ultraschall generierte Kavitation zum einen ein großtechnisch schwer skalierbarer Prozess und zum anderen mit hohen Energiekosten verbunden ist, wird seit kurzem die Kombination mit hydrodynamisch erzeugter Kavitation untersucht.

In dieser Arbeit wurde die Kombination von hydrodynamischer Kavitation mit einem zuvor noch nicht in Kombination untersuchten Desinfektionsmittel, dem Chlordioxid (ClO_2), untersucht. Es wurde dabei zum einen ein bekanntes kavitationserzeugendes Element (Mehrlochblende) reaktionstechnisch auf die wesentlichen Einflussparameter hin untersucht. Zum anderen wurde ein neuartiger Kavitationsreaktor (Mikrogitter mit Nachlaufdüse) entwickelt, der mit weniger Energieeintrag eine Anpassung der Kavitation auf die Aufgabenstellung der Desinfektion erreichen sollte.

Während für die Lochblende ein optimaler Betriebspunkt beobachtet wurde, der im Bereich der in der Literatur bereits beschriebenen optimalen Kavitationszahlen von 0,13 – 0,17 liegt, konnte für das Mikrogitter mit Nachlaufdüse keine signifikante Abhängigkeit von der Kavitationszahl festgestellt werden. Der optimale Betriebspunkt

wurde für beide Kavitationsapparaturen somit bei minimalem Energieeintrag und größtmöglicher Synergiewirkung mit Chlordioxid gewählt. Hier zeigte der neu entwickelte Kavitationsreaktor bei vergleichbaren Volumenströmen (0,35 und 0,38 L s⁻¹) eine Energieeinsparung von 30 % gegenüber der Lochblende.

Änderungen der Temperatur wirkten sich bei beiden Kavitationsapparaturen, ähnlich wie bei der reinen ClO₂-Inkubation, auch in einer Steigerung der Inaktivierungsrate gemäß der Arrhenius-Kinetik aus. Um jedoch durch eine Temperaturerhöhung dieselbe Inaktivierungsrate wie bei der Kombination mit Kavitation zu erreichen, musste jedoch bis zu einer Größenordnung mehr an Energie investiert werden. Die Kombination mit Kavitation ist daher, energetisch betrachtet, vorzuziehen.

Die Bedingung von hohen organischen Belastungen wurde dabei durch *Escherichia coli* Zellen selbst simuliert, indem Keimdichten von $2 \cdot 10^6$ – $6 \cdot 10^7$ Keime pro ml verwendet wurden, die damit eine organische Belastung von bis zu 70 mg L⁻¹ in Form von Biotrockenmasse darstellten.

Bei der reinen Chlordioxid-Inkubation zeigte sich dabei über weite Bereiche eine Inaktivierungskinetik nach Reaktion pseudo erster Ordnung („Watson-Chick“-Kinetik), die trotz schnellen Verbrauchs des Chlordioxids mit der Startkonzentration (C_0) korreliert werden konnte. Erst bei hohen Keimdichten ($> 2 \cdot 10^7$ Kolonie bildende Einheiten ml⁻¹) und geringen Startkonzentrationen an Chlordioxid ($< 0,30$ mg L⁻¹) konnte die Kinetik nicht mehr nachvollzogen werden. Bei einer Startkeimzahl von $2 \cdot 10^7$ KbE ml⁻¹ konnte eine Reduktion von über 99 % der Lebendkeimzahl zwischen der Startkonzentration 0,25 mg L⁻¹ und 0,30 mg L⁻¹ nur noch mit einer verlängerten Einwirkdauer des Chlordioxids beobachtet werden. Unterhalb dieser Startkonzentration erreichte das Chlordioxid alleine fast keine Inaktivierung mehr und die gemessenen Endkeimzahlen wurden nur um 40 % der Ausgangskeimzahl reduziert.

In Kombination mit Kavitation bei nur einer Passage der Kavitationsapparaturen zeigte sich dabei, dass gerade bei diesen niedrigen Chlordioxid-Startkonzentrationen die höchste Steigerung der Inaktivierungsgeschwindigkeit gegenüber der reinen Chlordioxid-Inkubation erreicht wurde (vergleiche Abbildung 7.1). Die Zeit zum Erreichen des gleichen Inaktivierungsniveaus von 99 % bei 0,25 mg L⁻¹ konnte dabei bei der Lochblende auf ein Drittel (70 % bei $C_0 = 0,30$ mg L⁻¹) und bei dem Mikrogitter

mit Nachlaufdüse auf die Hälfte (83 % bei $C_0 = 0,30 \text{ mg L}^{-1}$) reduziert werden. Bei beiden zeigte sich dabei noch die Gültigkeit nach der „Watson-Chick“-Kinetik.

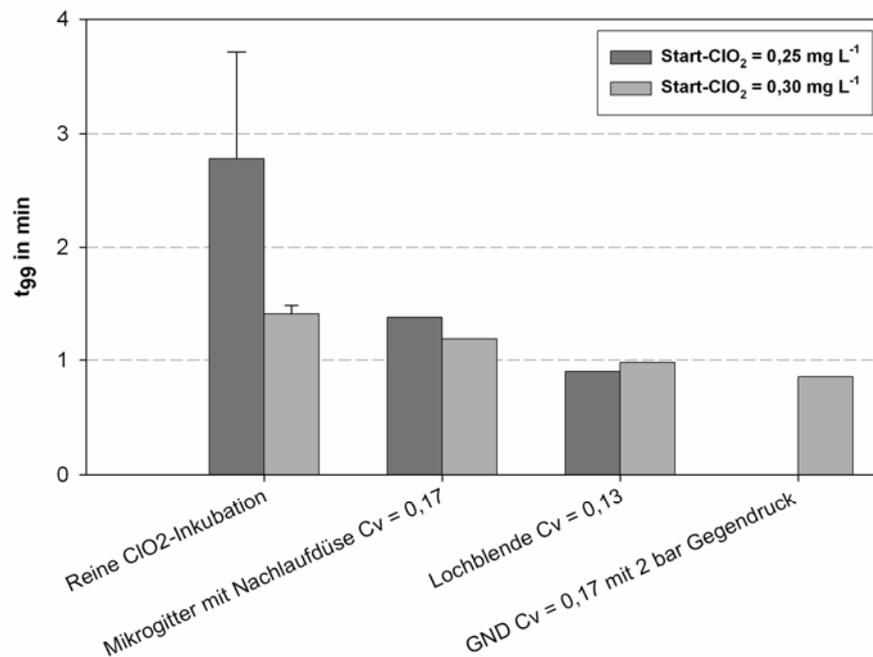


Abbildung 7.1: Vergleich der Inaktivierungszeiten für die Reduzierung der Startkeimzahl um 99 % von reiner ClO₂-Inkubation und einer Passage der Lochblende und des Mikrogitters mit Nachlaufdüse (Startkeimzahl $2 \cdot 10^7 - 3 \cdot 10^7 \text{ KbE ml}^{-1}$, 20 °C, GND = Mikrogitter mit Nachlaufdüse, Mittelwerte bei der reinen ClO₂-Inkubation).

Für höhere Startkonzentrationen über $0,30 \text{ mg L}^{-1}$ an ClO₂ wurde für die Kombination mit der Lochblende noch eine Steigerung der Inaktivierungseffizienz von weiterhin 30 % gefunden. Bei dem Mikrogitter mit Nachlaufdüse zeigte sich hierbei keine weitere Steigerung. Ein Grund wird in der unterschiedlichen Art der Kavitation vermutet, die auch schon bei den Versuchen zum Zellaufschluss ohne Chlordioxid einen Unterschied zwischen Mikrogitter mit Nachlaufdüse und Lochblende aufzeigten.

Eine Steigerung des Gegendrucks auf 2 bar im Nachlauf des Mikrogitters mit Nachlaufdüse (unter Beibehaltung einer konstanten Kavitationskennzahl) konnte die Inaktivierungsgeschwindigkeit sogar über die der Lochblende steigern. Der nötige Energieeintrag wäre hierbei jedoch auf $0,25 \text{ kWh m}^{-3}$ zu verdoppeln.

Bei der Lochblende konnte für verschiedene Kombinationen an Biomasse und Chlordioxid dabei eine Steigerung der Inaktivierung erreicht werden. Dies wird in

Abbildung 7.2 verdeutlicht, in der die Daten der Lochblende in einem Netz-Plot über der Keimzahl entsprechenden Biomasse und der Startkonzentration an Chlordioxid aufgetragen sind. Die reinen ClO_2 -Inkubationen sind als Datenpunkte mit im Diagramm aufgetragen. Für fast jede Kombination an Biotrockenmasse und Chlordioxid-Startkonzentration konnte eine Reduzierung der Inaktivierungszeit für eine 99 % Abreicherung festgestellt werden.

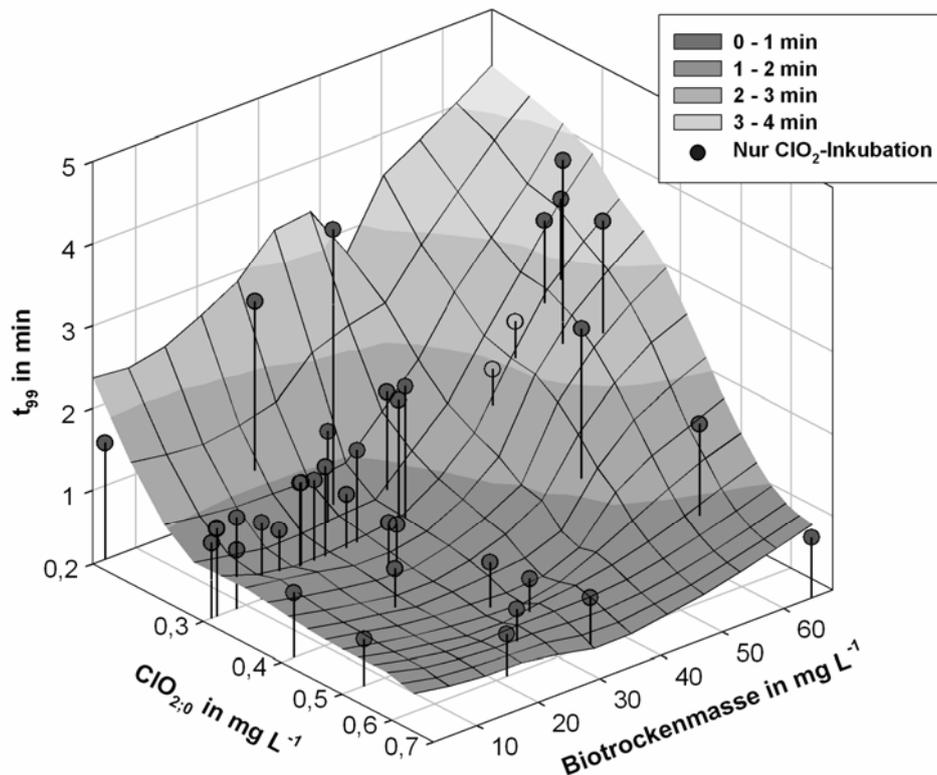


Abbildung 7.2: Vergleich der Inaktivierungszeiten für 99 % Reduktion der Startkeimzahl bei verschiedenen Startkonzentrationen an ClO_2 und Biotrockenmassen (entsprechend $2 \cdot 10^6 - 6 \cdot 10^7$ Start-KbE ml^{-1}) für die Kombination mit einer Passage der Lochblende (Netzplot) und der reinen ClO_2 -Inkubation.

Die transiente Permeabilisierung der Zellmembran als Modellvorstellung für die Synergiewirkung von hydrodynamischer Kavitation und Chlordioxid konnte mit der Freisetzung von intrazellulär vorliegenden Fluoreszenzmarker bestätigt werden.

Auf Basis der hier vorgestellten Arbeit, lässt sich für die Kombination von hydrodynamischer Kavitation und Chlordioxid ein großes Potential als zukunftsweisende alternative Desinfektionsmethode darstellen.

8. Ausblick

8.1. Anwendungspotential der Kavitation bei der Wasserdesinfektion

Prinzipiell wäre aus ökologischer Sicht die Anwendung von hydrodynamischer Kavitation zur Unterstützung der Desinfektion mittels Chlordioxid zu empfehlen. Zum einen hat Chlordioxid entscheidende Vorteile gegenüber anderen Desinfektionsmitteln. Es besitzt ein geringeres Gefährdungspotential als beispielsweise Chlor. Es werden dabei vor allem keine kanzerogenen oder toxischen Produkte gebildet. Zum anderen wird durch die Kombination mit Kavitation die Einsatzmenge nochmals reduziert. Damit wird die Umwelt doppelt entlastet. Zum einen wird weniger Chemie freigesetzt und zum anderen wird die gleiche Menge auch in der Produktion eingespart, die meist auch eine große Belastung an Umweltressourcen mit sich zieht.

Der energetische Mehraufwand zeigt sich zunächst als ökologisch negativer Aspekt. Angesichts einer nachhaltigen Energiepolitik wird in Zukunft aber Strom als Energieträger allgemein ökologisch wertvoller und auch langfristig der unmittelbare Energieträger werden. Es bleibt abzuschätzen, ob nicht die Einsparung an Chlordioxid in der Summe über alle damit verbundenen Aufwände von der Rohstoffgewinnung, über die Produktion bis hin zum Transport und der Lagerung, nicht mehr Energie schont, als es der direkte Mehrverbrauch der Kavitation bedingt.

Ökonomisch ergeben sich dennoch zum einen höhere Betriebskosten und zum anderen zusätzliche Investitionskosten. Die Erhöhung der Betriebskosten könnten durch das Einsparungspotential an Chlordioxid teilweise auch wieder kompensiert werden.

Für viele Bereiche dürfte sich aber dieser ökonomische Nachteil durch die unterschiedlichsten Synergien kompensieren. Gerade in Bereichen mit hoher organischer oder anorganischer Schmutzfracht und komplexen Zusammensetzungen des Mediums zeigen chemische Desinfektionsmittel allein eine ungenügende Wirkung oder es müssten unwirtschaftlich hohe Konzentrationen eingesetzt werden. In Anbetracht der gesundheitlichen Probleme mit denen fast alle Desinfektionsmittel in Verbindung stehen, ist dies teilweise rein gesetzlich nicht im erlaubten Bereich. Hier werden in einigen Bereichen bereits andere Verfahrenskombinationen eingesetzt, die jedoch mit hohen Kosten verbunden und nicht für jedes

Desinfektionsproblem geeignet sind. Mit Hilfe der Kombination mit Kavitation ließen sich aber zum einen neue ökonomische Lösungen finden und zum anderen noch ungelöste Problemstellungen eventuell lösen.

Es wären auch andere Spezialanwendungen denkbar, wie bei stark durch Partikel belasteten Wässern oder auch bei sehr hohen Keimzahlbelastungen. Auch zur Unterstützung von chemisch schwer abzutötenden Mikroorganismen wie beispielsweise Protozoen, Sporen oder auch bei Agglomeraten dürfte die Kombination mit Kavitation eine Erfolg versprechende Synergie aufzeigen. Gerade diese Konstellationen zeichnen sich durch hohe Widerstandsfähigkeit gegenüber den klassischen Desinfektionsverfahren aus und führten mitunter dadurch erst zu ernsthaften Problemen. Da dies aber meist mit der Größe der Agglomeraten oder der Zellstruktur in Verbindung steht, besitzen sie eine eher geringe mechanische Stabilität, welche durch die Kombination mit Kavitation sehr effektiv als Angriffspunkt verwendet werden kann. Es ließen sich noch viele weitere Möglichkeiten der Anwendungen aufzeigen, die auch weit über die Grenzen der Desinfektion hinausgehen würden. Das Potential von Kavitation und deren Nutzung wurde im Bereich des Ultraschalls schon weit ausgeschöpft und immer weiter entwickelt. Die hydrodynamische Kavitation steht hier aber erst am Anfang der ersten industriellen Nutzung.

8.2. Mögliche Optimierungen des Mikrogitters mit Nachlaufdüse

Das hier vorgestellte Mikrogitter mit Nachlaufdüse stellt zunächst einen Prototyp dar, der zum einen aus den zweijährigen eigenen Erfahrungen und zum anderen durch Kombination der in der Literatur als vorteilhaft beschriebenen Eigenschaften der Kavitation zur Inaktivierung von Zellen entwickelt wurde. Er ist somit in seiner Ausführung ein noch nicht endgültig ausgereiftes System, welches vor allem noch nicht für alle Anwendungen und jeden Bereich der Praxis gleichermaßen anwendbar ist. Auf Grund dessen muss immer eine individuelle Lösung gefunden werden, was sich beispielsweise an der jahrzehntelangen Entwicklung und Forschung auf dem Gebiet des Ultraschalls zeigt. Es sollen deswegen an dieser Stelle einige Designvorschläge gemacht werden, die zum Ziel haben als Grundlage für weitere Optimierung des Mikrogitters mit Nachlaufdüse zu dienen. Alle nachfolgenden Konzepte sind im Rahmen der Patentanmeldung (DE 10 2009 034 977.4) als vorteilhafte Ausführungen beansprucht.

Eine maßgebliche Einflussgröße liegt in der Beschaffenheit des Gitters als primär kavitationsauslösendes Element. Dabei kann nicht nur die Anzahl und Größe der Gitteröffnungen (variierbar durch die Drahtstärke und den Abstand des Gewebes) einen Einfluss auf die Kavitation haben, sondern auch deren Ausformung. Es wäre prinzipiell auch eine gänzlich nur gleichgerichtete parallele Drahtstruktur in der Ausformung von eckigen Drahtformen vorstellbar oder aber noch individuellere Ausformungen möglich, wie beispielsweise in Form einer Mikrolochplatte mit verschiedenen Durchtrittsöffnungen und axialen Ausdehnungen. Eine Änderung in der Gitterebene sollte neben dem Kavitationseinsatzpunkt auch die prinzipielle Blasengröße, die räumliche sowie zeitliche Verteilung und die Anzahl der generierten Blasen beeinflussen, da sowohl die geometrischen Gegebenheiten an der „Abrissfläche“ der Strömung als auch die Turbulenz der nachfolgenden Strömung beeinflusst wird. Da die beiden Faktoren Blasengröße und auch Blasenanzahl eine mögliche Auswirkung auf die Interaktion mit Zellen und Membranen haben, gilt es hier diese Parameter auf den entsprechenden Mikroorganismus anzupassen.

Die zweite maßgebliche Möglichkeit zur geometrischen Beeinflussung der Kavitation ist die Gestaltung des Nachlaufs. Dabei kann sowohl die Länge des oszillierenden Bereichs als auch die Gestaltung der Querschnittserweiterung (Einfluss auf den finalen transienten Kollaps der Blasen) variiert werden. Mit der Verlängerung des Nachlaufs erhöht sich die Verweilzeit der Zellen im Feld der oszillierenden Blasen und somit die Wahrscheinlichkeit einer Interaktion. Auch die Erhöhung der Summe an mechanischer Beanspruchung der Zellen und Membranen sollte hier eine Steigerung der Effizienz bewirken. Die Ausformung der Querschnittserweiterung hat Einfluss auf den Verlauf der Blasengröße für den finalen transienten Blasen-kollaps und damit auf den erreichbaren Kollapsdruck. Eine schlagartige Erweiterung erhöht die Geschwindigkeit der Druckrückgewinnung der Strömung und somit die Intensität des Blasen-kollapses. Um die Zone der transienten Kavitation zu verlängern oder auf verschiedene Bereiche im Rohrquerschnitt zur erweitern, empfiehlt sich bevorzugt eine konische Erweiterung mit schmalere Öffnungswinkel, verbunden mit einem eventuell axial asymmetrischen Verlauf der Kontur des Konus.

Verfahrenstechnisch lässt sich auch mit dem Gegendruck die Intensität der Blasenoszillation und der transienten Kavitation steigern. Er könnte somit auch als Parameter zur direkten Steuerung der Kavitationsintensität, und damit auch zur Steuerung eines Reaktionsprozesses dienen.

In beiden Fällen der geometrischen Variation, sowohl von Gitter als auch von Nachlaufdüse, müssen die Bedingungen wie Eingangsdruck und nötiger Volumenstrom für den sicheren Betrieb neu validiert werden. Vor allem bedingt eine Veränderung des Gitters auch eine Anpassung der Nachlaufdüse und umgekehrt. Erste Anhaltspunkte, die zu beachten sind, werden diesbezüglich im folgenden Kapitel aufgeführt.

8.3. Hinweise zur maßstäblichen Vergrößerung

Prinzipiell bietet sich die Multiplikation von einzelnen Kavitationsreaktoren als Möglichkeit der maßstäblichen Vergrößerung für den industriellen Einsatz an. Es müsste dabei entsprechend zu dem erwarteten Volumenstrom die passende Anzahl an Kavitationsreaktoren parallel geschaltet werden. Der Volumenstrom sollte frühzeitig vor den Kavitationsreaktoren auf die einzelnen Teilströmungen aufgeteilt werden, um für jeden Reaktor eine voll turbulente Rohrströmung in der Anströmung und somit einen sicheren Betrieb zu gewährleisten. Der Durchsatz eines Kavitationsreaktors in diesem Pilotmaßstab liegt dabei in einem Bereich von 0,35–0,4 L s⁻¹ (Optimum von minimalen Energieverbrauch vorausgesetzt). Vorteile dabei wären die Anpassungsmöglichkeit an verschiedene Volumenströme, da einzelne Reaktoren durch Ventile je nach Bedarf zu- oder abgeschaltet werden könnten.

Eine andere Möglichkeit der maßstäblichen Anpassung wäre die Dimensionierung eines Mikrogitters mit Nachlaufdüse an den erforderlichen Volumenstrom. Hierbei sollte aber berücksichtigt werden, dass Änderungen in der geometrischen Größe und der Dimensionierung eine Auswirkung auf das Kavitationsverhalten haben. Grundlegend wurden prinzipielle Maßstabsgesetze für die Kavitation aufgezeigt, die bei geometrischer Ähnlichkeit übertragbar sein sollten. Das genaue Verhalten und die sichere Funktion sind aber trotzdem experimentell zu verifizieren.

Die maßstäbliche Vergrößerung würde dabei eine Erweiterung des Durchmessers im Zulauf und die Erweiterung der beiden Durchmesser im Ringspalt bedeuten. Dabei sollte vorteilhafter Weise auch der Abstand von Innen- und Außenwand proportional mit dem Gesamtdurchmesser der Beschleunigungsdüse zunehmen. Der Proportionalitätsfaktor wäre dabei 1/5 (gemessen an dem mittleren Durchmesser des Ringspalts). Mit jedem mm radialer Erweiterung der Düse sollte somit die Spaltbreite auch um 0,2 mm zunehmen. Der Nachlauf in dem Rohrbereich mit konstantem

Querschnitt müsste jedoch auch konstruktionstechnisch angepasst werden, da in diesem Bereich der Querschnitt genau an den Volumenstrom angepasst ist. Dies ist nötig um die maximale Kavitationszahl für den Nachlauf von 1,2 sicher zu unterschreiten und die Kavitation stabil zu halten. Dies ist gewährleistet, wenn die Querschnittsfläche proportional zur freien Gitterfläche $\cdot 2,9$ zunimmt. Da aber die freie Gitterfläche mit Ringspalt im Durchmesser langsamer anwächst als der volle freie Querschnitt des Nachlaufs, ist dies technisch zu lösen. Bis zu einer Gitterfläche von 13 mm^2 kann der Querschnitt sich einfach proportional mit erweitern. Danach müsste auch die Nachlaufströmung in einem zweiten Ringspalt (Rohr mit axial zentralem Innenrohr) weiter geführt werden, der wiederum in seiner freien Querschnittsfläche dem 2,9-fachen des ersten Ringspalts (Gitterebenen) entspricht. Diese Ringströmung könnte nach der gewünschten Länge des Bereichs oszillierender Blasen wieder in ein Rohr mit vollem Querschnitt zusammengeführt werden. Die sich ergebende Stufe in der Querschnittserweiterung nach dem Gitter sollte sich dabei zu beiden Seiten des Ringspalts gleichermaßen ausdehnen.

Diese neue skalierbare Geometrie unterscheidet sich damit essentiell zu dem hier vorgestellten Pilot-Kavitationsreaktor. Allein aus diesem Grund wird sich das Kavitationsverhalten, neben der Möglichkeit nicht übertragbarer geometrischer Ähnlichkeit, ändern. Die exakte Einhaltung konstanter Volumenströme ergibt sich als weiterer Nachteil dieser Art der maßstäblichen Vergrößerung. Ein Vorteil wäre jedoch, dass es ein Bauteil und somit ein Abschnitt ohne störanfällige Mechanik wäre. In beiden Varianten der maßstäblichen Vergrößerung wird aber trotzdem das reale Kavitationsverhalten experimentell bestimmt werden müssen.

9. Literaturverzeichnis

- Aieta**, E. A., Berg, J. D., Hopkins, G. D., Roberts P. V. (1980a): Dose-response comparison for chlorine and chlorine dioxide in disinfecting wastewater. In: Jolley, Robert L. (Hg.): Water chlorination. volume 3 ; proceedings of the Third Conference on Water Chlorination: Environmental Impact and Health Effects. Colorado Springs, Colorado, October 28 - November 2, 1979. Ann Arbor, Mich.: Ann Arbor Science Publ. 697–709.
- Aieta**, E. M., Berg, J. D. (1986): A review of chlorine dioxide in drinking-water treatment. *Journal AWWA* 78 (6): 62–72.
- Aieta**, E. M., Roberts, P. V., Hernandez, M. (1984): Determination of chlorine dioxide, chlorine, chlorite and chlorate in water. *Journal AWWA* 76 (1): 64–70.
- Aieta**, E. M., Berg, J. D., Roberts, P. V. (1980b): Comparison of Chlorine Dioxide and Chlorine in Wastewater Disinfection. *Journal (Water Pollution Control Federation)* 52 (4): 810–822.
- Alvarez**, M. E., O'Brien, R. T. (1982): Mechanism of inactivation of poliovirus by chlorine dioxide and iodine. *Applied and Environmental Microbiology* 44 (5): 1064–1071.
- Arbeitsbericht DWA** (2002): Aufbereitung von Industrieabwässern und Prozesswasser mit Membranverfahren und Membranbelebungsverfahren. KA - Korrespondenz Abwasser, Abfall 49 (11): 1563–1571.
- Ayyildiz**, O., Ileri, B., Sanik, S. (2009): Impacts of water organic load on chlorine dioxide disinfection efficacy. *Journal of Hazardous Materials* 168 (2-3): 1092–1097.
- Balasundaram**, B., Harrison, S. T. L. (2006a): Study of physical and biological factors involved in the disruption of *E. coli* by hydrodynamic cavitation. *Biotechnology Progress* 22 (3): 907–913.
- Balasundaram**, B., Harrison, S. T. (2006b): Disruption of brewers' yeast by hydrodynamic cavitation: Process variables and their influence on selective release. *Biotechnology and Bioengineering* 94 (2): 303–311.
- Balasundaram**, B., Pandit, A. B. (2001a): Selective release of invertase by hydrodynamic cavitation. *Biochemical Engineering Journal* 8 (3): 251–256.
- Balasundaram**, B., Pandit, A. B. (2001b): Significance of location of enzymes on their release during microbial cell disruption. *Biotechnology and Bioengineering* 75 (5): 607–614.
- Barbeau**, B., Desjardins, R., Mysore, C., Prevost, M. (2005): Impacts of water quality on chlorine and chlorine dioxide efficacy in natural waters. *Water Research* 39 (10): 2024–2033.
- Baumann**, I. P. F. (2007): Elimination von Elimination von enteropathogenen Viren und Bakterien aus Abwasser mittels Membranbelebungsverfahren. Dissertation, under supervision of K. Botzenhart. Tübingen, Universität, Allgemeine Hygiene und Umwelthygiene.
- Behmel**, U. (2008): Aktuelle und zukünftige Desinfektionsverfahren für eine hygienische Produktion von Lebensmitteln und Getränken. Veranstaltung vom 18./19.09.2008 Weihenstephan. Veranstalter: 2. CPW Wasserseminar.

- Benarde**, M. A., Israel, B. M., Olivieri, V. P., Granstro, M. L. (1965): Efficiency of chlorine dioxide as a bactericide. *Applied Microbiology* 13 (5): 776–781.
- Benarde**, M. A., Snow, W. B., Olivieri, V. P. (1967a): Chlorine dioxide disinfection temperature effects. *Journal of Applied Bacteriology* 30 (1): 159–167.
- Benarde**, M. A., Snow, W. B., Olivieri, V. P., DAVIDSON, B. (1967b): Kinetics and mechanism of bacterial disinfection by chlorine dioxide. *Applied Microbiology* 15 (2): 257–265.
- Berg**, J. D., Hoff, J. C., Roberts, P. V., Matin, A. (1988): Resistance of bacterial subpopulations to disinfection by chlorine dioxide. *Journal AWWA* 80 (9): 115–119.
- Berg**, J. D., Matin, A., Roberts, P. V. (1982): Effect of antecedent growth-conditions on sensitivity of *Escherichia coli* to chlorine dioxide. *Applied and Environmental Microbiology* 44 (4): 814–819.
- Berg**, J. D., Roberts, P. V., Matin, A. (1986): Effect of chlorine dioxide on selected membrane functions of *Escherichia coli*. *Journal of Applied Bacteriology* 60 (3): 213–220.
- Berman**, D., Rice, E., Hoff, J. C. (1988): Inactivation of Particle-Associated Coliforms by Chlorine and Monochloramine. *Applied and Environmental Microbiology* 54 (2): 507–512.
- Berney**, M., Weilenmann, H. U., Ihssen, J., Bassin, C., Egli, T. (2006): Specific growth rate determines the sensitivity of *Escherichia coli* to thermal, UVA, and solar disinfection. *Applied and Environmental Microbiology* 72 (4): 2586–2593.
- Bess**, J. W., Malley, J. P., Casson, L. W., Sloan, J. (2004): Disinfection dawns in the twentieth century. *Journal AWWA* 96 (8): 61–69.
- BGIA** (2009a): GESTIS Gefahrstoffdatenbank. Chlordioxid Gas. Herausgegeben von Institut für Arbeitsschutz der Deutschen Gesetzlichen Unfallversicherung. Online available: <http://biade.itrust.de/biade/lpext.dll?f=templates&fn=main-hit-h.htm&2.0>, zuletzt aktualisiert am 11.8.09.
- BGIA** (2009b): GESTIS Gefahrstoffdatenbank. Chlordioxid Lösung. Herausgegeben von Institut für Arbeitsschutz der Deutschen Gesetzlichen Unfallversicherung. Online available: <http://biade.itrust.de/biade/lpext.dll?f=templates&fn=main-hit-h.htm&2.0>, zuletzt aktualisiert am 11.8.09.
- Blume**, T., Neis, U. (2005): Improving chlorine disinfection of wastewater by ultrasound application. *Water Science & Technology* 52 (10-11): 139–144.
- Blume**, T. (2006): Potenziale von Ultraschall bei der Desinfektion wässriger Medien. Dissertation, under supervision of Uwe Neis. Hamburg, Technische Universität Hambur-Harburg, Abwasserwirtschaft und Gewässerschutz.
- Böhm**, R. (1998): Erfassung und hydrodynamische Beeinflussung fortgeschrittener Kavitationszustände und ihrer erosiven Aggressivität. Dissertation, under supervision of B. Stoffel. Darmstadt, Technische Universität Darmstadt, Maschinenbau.
- Botzenhart**, K., Tarcson, G. M., Ostruschka, M. (1993): Inactivation of bacteria and coliphages by ozone and chlorine dioxide in a continuous-flow reactor. *Water Science & Technology* 27 (3-4): 363–370.
- Boucher**, R. M. G., Pisano, M. A., Tortora, G. (1967): Synergistic Effects in Sonochemical Sterilization. *Applied Microbiology* 15 (6): 1257–1261.

- Brayman**, A. A., Lizotte, L. M., Miller, M. W. (1999): Erosion of artificial endothelia in vitro by pulsed ultrasound: Acoustic pressure, frequency, membrane orientation and microbubble contrast agent dependence. *Ultrasound in Medicine and Biology* 25 (8): 1305–1320.
- Brennen**, C. E. (1995): Cavitation and bubble dynamics. New York, NY: Oxford Univ. Press (Oxford engineering science series, 44).
- Briggs**, L. J. (1950): Limiting negative Pressure of Water. *Journal of applied Physics* 21 (7): 721–722.
- Broude**, N. E., Budowsky, E. I. (1973): The reaction of Glyoxal with nucleic acid components V. denaturation of DNA under the reaction of Glyoxal. *Biochimica et Biophysica Acta*. 294: 378–384.
- Burleson**, G. R., Murray, T. M., Pollard, M. (1975): Inactivation of virus and bacteria by ozone, with and without sonication. *Applied Microbiology* 29 (3): 340–344.
- Buschini**, A., Carboni, P., Furlini, M., Poli, P., Rossi, C. (2004): Sodium hypochlorite-, chlorine dioxide- and peracetic acid-induced genotoxicity detected by the Comet assay and *Saccharomyces cerevisiae* D7 tests. *MUTAGENESIS* 19 (2): 157–162.
- Caffaro**, Water Treatment Division (April 1997): Chlorine Dioxide. Caffaro Monograph. Herausgegeben von SGC - Servizi Generali di Comunicazione Integrata s.r.l. Caffaro Industrie Chimiche, Brescia, Italy,
- Chand**, R., Bremner, D. H., Namkung, K. C., Collier, P. J., Gogate, P. R. (2007): Water disinfection using the novel approach of ozone and a liquid whistle reactor. *Biochemical Engineering Journal* 35 (3): 357–364.
- Chick**, H. (1908): An Investigation of the Laws of Disinfection. *The Journal of Hygiene* 8 (1): 92–158.
- Cochran**, S. A., Prausnitz (2001): Sonoluminescence as an indicator of cell membrane disruption by acoustic cavitation. *Ultrasound in Medicine and Biology* 27 (6): 841–850.
- Condie**, L. W. (1986): Toxicological problems associated with chlorine dioxide. *Journal AWWA* 78 (6): 73–78.
- Coster**, H. G. (2003): The physics of cell membranes. *Journal of Biological Physics* 29 (4): 363–399.
- Couri**, D., Abdelrahman, M. S., Bull, R. J. (1982): Toxicological effects of chlorine dioxide, chlorite and chlorate. *Environmental Health Perspectives* 46 (DEC): 13–17.
- Cronier**, S., Scarpino, P. V., Zink, M. L. (1978): Chlorine dioxide destruction of virus and bacteria in water. In: Jolley, Robert L.; Gorchev, Hend (Hg.): *Water chlorination. volume 2 ; proceedings of the Second Conference on the Environmental Impact of Water Chlorination. Gatlinburg, Tennessee, October 31 - November 4, 1977. Ann Arbor, Mich.: Ann Arbor Science Publ. (651–658).*
- Dahi**, E. (1976): Physiochemical aspects of disinfection of water by means of ultrasound and ozone. *Water Research* 10 (8): 677–684.
- Dahl**, J. (2008): http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Gram_negative_cell_wall.svg

- Degussa** (1979): Photometrische Bestimmung von Chlordioxid, freiem Chlor, gebundenem Chlor und Chlorit im Trink- und Badewasser nach der Palinn-Methode (DPD). Degussa, Hanau,
- Delius**, M. (2002): Twenty years of shock wave research at the Institute for Surgical Research. EUROPEAN SURGICAL RESEARCH 34 (1-2): 30–36.
- Dernat**, M., Pouillot, M. (1992): Theoretical and practical approach to the Disinfection of Municipal waste-water using chlorine dioxide. Water Science & Technology 25 (12): 145–154.
- DIN (38 408-G5)**: Bestimmung von Chlordioxid. Deutsche Institut für Normung, 01.01.1990.
- DIN (19650)**: Hygienische Belange von Bewässerungswasser. Deutsche Institut für Normung, Februar 1999.
- DIN EN ISO (7393-3)**: Bestimmung von freiem Chlor und Gesamtchlor Teil 3: Iodometrisches Verfahren zur Bestimmung von Gesamtchlor. Deutsche Institut für Normung, 10.04.2000.
- DIN EN (12671)**: Produkte zur Aufbereitung von Wasser für den menschlichen Gebrauch – Vor Ort erzeugtes Chlordioxid. Deutsche Institut für Normung, 14.01.2009.
- DVGW (W 224)** Technische Regeln Arbeitsblatt: Chlordioxid in der Wasseraufbereitung. Deutscher Verein des Gas- und Wasserfaches e.V., 1986.
- DVGW (W 624)** Technische Regeln Arbeitsblatt: Dosieranlagen für Desinfektionsmittel und Oxidationsmittel: Dosieranlagen für Chlordioxid. Deutscher Verein des Gas- und Wasserfaches e.V., 1996.
- DVGW (W 224)** Technische Regeln Arbeitsblatt: Chlordioxid in der Wasseraufbereitung. Deutscher Verein des Gas- und Wasserfaches e.V., 15.08.2008.
- Doulah**, M. S., Hammond, T. H., Brookman, J. S. (1975): Hydrodynamic mechanism for disintegration of *saccheromyces cerevisiae* in an industrial homogenizer. Biotechnology and Bioengineering 17 (6): 845–858.
- Duckhouse**, H., Mason, T. J., Phull, S. S., Lorimer, J. P. (2004): The effect of sonication on microbial disinfection using hypochlorite. Ultrasonics Sonochemistry 11 (3-4): 173–176.
- Dworecki**, K., Slezak, A., Ornal-Wasik, B., Wasik, S. (2005): Evolution of concentration field in a membrane system. Journal of Biochemical and Biophysical Methods METHODS 62 (2): 153–162.
- Edebo**, L., Magnusson, K. E. (1973): Disintegration of cells and prtoein recovery. Biotechnology and Bioengineering (4): 863.
- Eder**, B. (2004): Untersuchungen zur Verbesserung des Stoffstrommanagements auf Kläranlagen - Auslegungsansätze von Ultraschallanlagen zur Klärschlammbehandlung. Univ. der Bundeswehr München, Dissertation, 2004. In: Universität der Bundeswehr München (Hg.): Institut für Wasserwesen - Mitteilungen. München: Oldenburg Industrieverlag (Bd. 92).
- Együd**, L. G., Szent-Györgyi, A. (1966): Cell division, SH, Ketoaldehydes and cancer. Biochemistry 55: 388–393.

- Eickmann, G.** (1991): Maßstabeffekte bei der beginnenden Kavitation. Dissertation, under supervision of G. J. Seus. München, Technische Universität München, Bauingenieur- und Vermessungswesen, Lehrstuhl für Wasserbau und Wassermengenwirtschaft. Online available: <http://www.baufachinformation.de/literatur.jsp?bu=1992009501114>.
- Richtlinie 2006/7/EG** Europäische Parlament (2006): Richtlinie 2006/7/EG des Europäischen Parlaments und des Rates vom 15. Februar 2006 über die Qualität der Badegewässer und deren Bewirtschaftung und zur Aufhebung der Richtlinie 76/160/EWG.
- Farkade, V. D., Harrison, S. T. L., Pandit, A. B.** (2006): Improved cavitation cell disruption following pH pretreatment for the extraction of beta-galactosidase from *Kluyveromyces lactis*. *Biochemical Engineering Journal* 31 (1): 25–30.
- Feliu, J. X., Cubarsi, R., Villaverde, A.** (1998): Optimized release of recombinant proteins by ultrasonication of E-coli cells. *Biotechnology and Bioengineering* 58 (5): 536–540.
- Fernando, W. J. N.** (2009): Theoretical considerations and modeling of chemical inactivation of microorganisms: Inactivation of Giardia Cysts by free chlorine. *Journal of theoretical Biology* 259 (2): 297–303.
- Fernando, W. J., Othman, R.** (2006): Relevance of diffusion through bacterial spore coats/membranes and the associated concentration boundary layers in the initial lag phase of inactivation: A case study for *Bacillus subtilis* with ozone and monochloramine. *MATHEMATICAL BIOSCIENCES* 199 (2): 175–187.
- Floury, J., Bellettre, J., Legrand, J., Desrumaux, A.** (2004): Analysis of a new type of high pressure homogeniser. A study of the flow pattern. *Chemical Engineering Science* 59 (4): 843–853.
- Flynn, H. G.** (1975): Cavitation Dynamics 2. free pulsation and models for cavitation bubbles. *Journal of the Acoustical Society of America* 58 (6): 1160–1170.
- Foladori, P., Laura, B., Gianni, A., Giuliano, Z.** (2007): Effects of sonication on bacteria viability in wastewater treatment plants evaluated by flow cytometry - Fecal indicators, wastewater and activated sludge. *Water Research* 41 (1): 235–243.
- Furuta, M., Yamaguchi, M., Tsukamoto, T., Yim, B., Stavarache, C. E., Hasiba, K., Maeda, Y.** (2004): Inactivation of *Escherichia coli* by ultrasonic irradiation. *Ultrasonics Sonochemistry* 11 (2): 57–60.
- Gashchin, O. R., Viten'ko, T. N.** (2008): Features of Disinfection Kinetics of Water Containing *Escherichia Coli* in Conditions of Hydrodynamic Cavitation. *JOURNAL OF WATER CHEMISTRY AND TECHNOLOGY* 30 (5): 322–327.
- Ghanbari, H. A., Wheeler, W. B., Kirk, JR** (1982): Reactions of aqueous chlorine and chlorine dioxide with lipids - chlorine incorporation. *JOURNAL OF FOOD SCIENCE* 47 (2): 482–485.
- Gilland, C. O., Suisted, J. R.** (1978): The Effects of Temperature and Growth Rate on the Proportion of Unsaturated Fatty Acids in Bacterial Lipids. *Journal of General Microbiology* 104: 31–36.
- Glas, K.** (2008a): Übersichtsvortrag. Veranstaltung vom 18./19.09.2008 Weihenstephan. Veranstalter: 2. CPW Wasserseminar.

- Glas, K.** (2008b): Kreislauf Wasser. Veranstaltung vom 18./19.09.2008 Weihenstephan. Veranstalter: 2. CPW Wasserseminar.
- Gogate, P. R.** (2002): Cavitation: an auxiliary technique in wastewater treatment schemes. *Advances in Environmental Research* 6 (3): 335–358.
- Gogate, P. R., Pandit, A. B.** (2000): Engineering design method for cavitational reactors: I. Sonochemical reactors. *AIChE Journal* 46 (2): 372–379.
- Gogate, P. R., Pandit, A. B.** (2001): Hydrodynamic cavitation reactors: A state of the art review. *Reviews in Chemical Engineering* 17 (1): 1–85.
- Gogate, P. R., Pandit, A. B.** (2004): A review of imperative technologies for wastewater treatment II: hybrid methods. *Advances in Environmental Research* 8 (3-4): 553–597.
- Gogate, P. R., Pandit, A. B.** (2005): A review and assessment of hydrodynamic cavitation as a technology for the future. *Ultrasonics Sonochemistry* 12 (1-2): 21–27.
- Gogate, P. R.** (2007): Application of cavitational reactors for water disinfection: Current status and path forward. *Journal of Environmental Management* 85 (4): 801–815.
- Gogate, P. R., Kabadi, A. M.** (2009): A review of applications of cavitation in biochemical engineering/biotechnology. *Biochemical Engineering Journal* 44 (1): 60–72.
- Gogate, P. R., Pandit, A. B.** (2008): Application of Cavitational reactors for cell disruption for recovery of intracellular enzymes. *JOURNAL OF CHEMICAL TECHNOLOGY AND BIOTECHNOLOGY* 83 (8): 1083–1093.
- Guzman, H. R., McNamara, A. J., Nguyen, D. X., Prausnitz** (2003): Bioeffects caused by changes in acoustic cavitation bubble density and cell concentration: A unified explanation based on cell-to-bubble ratio and blast radius. *Ultrasound in Medicine and Biology* 29 (8): 1211–1222.
- Guzman, H. R., Nguyen, D. X., Khan, S., Prausnitz** (2001a): Ultrasound-mediated disruption of cell membranes. I. Quantification of molecular uptake and cell viability. *Journal of the Acoustical Society of America* 110 (1): 588–596.
- Guzman, H. R., Nguyen, D. X., Khan, S., Prausnitz** (2001b): Ultrasound-mediated disruption of cell membranes. II. Heterogeneous effects on cells. *Journal of the Acoustical Society of America* 110 (1): 597–606.
- Gyürék, L. L., Finch, G. R.** (1998): Modelling Water Treatment Chemical Disinfection Kinetics. *Journal of Environmental Engineering* 783–793.
- Haas, C. N., Karra, S. B.** (1984): Kinetics of microbial inactivation by chlorine I. *Water Research* 18 (11): 1443–1449.
- Hach-Lange AG** (2005): Prüfvorschrift, Bestimmung von Chlordioxid in Trinkwasser mit TMB. PV-09-03-506. Version 2, 02.11.2005 Wasserversorgung Zürich, Zürich. Online available: http://www.de.hach-lange.ch/shop/action_q/download%3Bdocument/DOK_ID/13383/type/pdf/lkz/CH/spkz/de/TOKEN/TZynk42ynR2ojn3RsCED6xVZLhc/M/te7UPA/PV-09-03-506.pdf.
- Hammer, D., Frommhold, L.** (2001): Topical review - Sonoluminescence: how bubbles glow. *Journal of modern Optics* 48 (2): 239–277.

- Hansson**, I., Kedrinski, V., Morch, K. A. (1982): On the Dynamics of Cavity Cluster. *Journal of Physics D – Applied Physics* 15 (9): 1725–1734.
- Hauchmann**, F. S., Noss, C. I., Olivieri, V. P. (1986): Chlorine dioxide reactivity with nucleic-acids. *Water Research* 20 (3): 357–361.
- Helbling**, D. E., VanBriesen, J. M. (2007): Free chlorine demand and cell survival of microbial suspensions. *Water Research* 41 (19): 4424–4434.
- Heller**, W. (2006): Hydrodynamische Effekte unter besonderer Berücksichtigung der Wasserqualität und ihre Messverfahren. Techn. Univ., Habil.-Schrift, Dresden, 2005. Tönning: Der Andere Verl. (Strömungsmechanik, Bd. 2).
- Hoff**, J. C. (1978): The Relationship of Turbidity to Disinfection of Potable Water. US Environmental Protection Agency, Washington D.C., United States. (Evaluation of the Microbiology Standards for Drinking Water, EPA-570/9-78-00C).
- Hoff**, J. C. (1986): Inactivation of Microbial Agents by Chemical Disinfectants. US Environmental Protection Agency, Cincinnati, United States. (EPA/600/S2-86/067).
- Hoff**, J. C., Akin, E. W. (1986): Microbial resistance to disinfectants - mechanisms and significance. *Environmental Health Perspectives* 69: 7–13.
- Hoff**, J. C., Geldreich, E. E. (1981): Comparison of biocidal efficiency of alternative disinfectants. *Journal AWWA* 73 (1): 40–44.
- Hom**, L. W. (1972): Kinetics of chlorine disinfection in ecosystem. *JOURNAL OF THE SANITARY ENGINEERING DIVISION-ASCE* 98 (NSA1): 183–191.
- Horst**, C., Hoffmann, U. (1999): Design, operation and characterization of ultrasound reactors. In: Tiehm, Andreas (Hg.): *Ultrasound in environmental engineering*. [presentations held at the First Workshop "Ultrasound in Environmental Engineering"], March 22nd and 23rd, 1999 [at the Technical University of Hamburg-Harburg]. Hamburg: Ges. zur Förderung und Entwicklung der Umwelttechnologien an der Techn. Univ. Hamburg-Harburg (Reports on sanitary engineering, 25: 77–90).
- Hua**, I., Thompson, J. E. (2000): Inactivation of *Escherichia coli* by sonication at discrete ultrasonic frequencies. *Water Research* 34 (15): 3888–3893.
- Huang**, T.-S., Xu, C., Walker, K., West, P., Zhang, S., Weese, J. (2006): Decontamination efficacy of combined chlorine dioxide with ultrasonication on apples and lettuce. *JOURNAL OF FOOD SCIENCE* 71 (4): M134-M139.
- Huber**, P. E., Jenne, J., Debus, J., Wannemacher, M. F., Pfisterer, P. (1999): A comparison of shock wave and sinusoidal-focused ultrasound-induced localized transfection of HeLa cells. *Ultrasound in Medicine and Biology* 25 (9): 1451–1457.
- Hurst**, C. J. (2001): Disinfection of Water: Drinking Water, Recreational Water, and Wastewater. Chapter 52. In: Block, Seymour S. (Hg.): *Disinfection, sterilization, and preservation*. 5th ed. Philadelphia, Pa., London: Lippincott Williams & Wilkins (1023–1047).
- Isay**, W. H. (1984): *Kavitation*. 2., erw. Aufl. Hamburg: Schiffahrts-Verl. Hansa.
- Junli**, H., Li, W., Nanqi, R., Fang, M., Juli, M. (1997a): Disinfection effect of chlorine dioxide on bacteria in water. *Water Research* 31 (3): 607–613.
- Junli**, H., Li, W., Nenqi, R., Li, L. X., Fun, R. S., Guanle, Y. (1997b): Disinfection effect of chlorine dioxide on viruses, algae and animal planktons in water. *Water Research* 31 (3): 455–460.

- Jyoti**, K. K., Pandit, A. B. (2001): Water disinfection by acoustic and hydrodynamic cavitation. *Biochemical Engineering Journal* 7 (3): 201–212.
- Jyoti**, K. K., Pandit, A. B. (2003a): Hybrid cavitation methods for water disinfection: simultaneous use of chemicals with cavitation. *Ultrasonics Sonochemistry* 10 (4-5): 255–264.
- Jyoti**, K. K., Pandit, A. B. (2003b): Hybrid cavitation methods for water disinfection. *Biochemical Engineering Journal* 14 (1): 9–17.
- Jyoti**, K. K., Pandit, A. B. (2004a): Ozone and cavitation for water disinfection. *Biochemical Engineering Journal* 18 (1): 9–19.
- Jyoti**, K. K., Pandit, A. B. (2004b): Effect of cavitation on chemical disinfection efficiency. *Water Research* 38 (9): 2249–2258.
- Kanthale**, P. M., Gogate, P. R., Pandit, A. B., Am Wilhelm (2003): Mapping of an ultrasonic horn: link primary and secondary effects of ultrasound. *Ultrasonics Sonochemistry* 10 (6): 331–335.
- Kanthale**, P. M., Gogate, P. R., Pandit, A. B., Am Wilhelm (2005): Dynamics of cavitation bubbles and design of a hydrodynamic cavitation reactor: cluster approach. *Ultrasonics Sonochemistry* 12 (6): 441–452.
- Katz**, J. (1980): Ozone and chlorine dioxide technology for disinfection of drinking water. Park Ridge, N.J: Noyes Data Corp (Chemical technology review, 164).
- Keil**, F. J. (1999): Modelling of Sound Fields. In: Tiehm, Andreas (Hg.): *Ultrasound in environmental engineering*. [presentations held at the First Workshop "Ultrasound in Environmental Engineering"], March 22nd and 23rd, 1999 [at the Technical University of Hamburg-Harburg]. Hamburg: Ges. zur Förderung und Entwicklung der Umwelttechnologien an der Techn. Univ. Hamburg-Harburg (Reports on sanitary engineering, 25: 63–76).
- Keller**, A., Hartung, F. (1974): Untersuchungen zum Problem der modellmäßigen Behandlung von Strömungskavitation. In: DFG Forschungsbericht (Hg.): *Kavitation. Ein Abschlußbericht über die Ergebnisse des Schwerpunktprogramms von 1966 bis 1972*. Boppard: Boldt (Forschungsbericht / Deutsche Forschungsgemeinschaft 60–79).
- Kiura**, H., Sano, K., Morimatsu, S., Nakano, T., Morita, C., Yamaguchi, M. et al. (2002): Bactericidal activity of electrolyzed acid water from solution containing sodium chloride at low concentration, in comparison with that at high concentration. *Journal of Microbiological Methods* 49 (3): 285–293.
- Kleinig**, A. R., Middelberg, A. P. (1997): Numerical and experimental study of a homogenizer impinging jet. *AIChE Journal* 43 (4): 1100–1107.
- Knapp**, J. E., Battisti, D. L. (2001): Chlorine Dioxide. Chapter 11. In: Block, Seymour S. (Hg.): *Disinfection, sterilization, and preservation*. 5th ed. Philadelphia, Pa., London: Lippincott Williams & Wilkins 215–227.
- Krampe**, J., Vetter, J. (2003): Grundlagen, Technologien und Kosten der Desinfektion von Kläranlagenabläufen. In: Pinnekamp, Johannes (Hg.): *Abwasserdesinfektion und energetische Optimierung als zukünftige Aufgabe der Siedlungswasserwirtschaft*. 78. Siedlungswasserwirtschaftliches Kolloquium am 09. Oktober 2003. München: Oldenbourg Industrieverl. (Stuttgarter Berichte zur Siedlungswasserwirtschaft, 174).

- Kumar**, K. S., Moholkar, V. S. (2007): Conceptual design of a novel hydrodynamic cavitation reactor. *Chemical Engineering Science* 62 (10): 2698–2711.
- Kumar**, P. S., Kumar, M. S., Pandit, A. B. (2000): Experimental quantification of chemical effects of hydrodynamic cavitation. *Chemical Engineering Science* 55 (9): 1633–1639.
- Kumar**, P. S., Pandit, A. B. (1999): Modeling hydrodynamic cavitation. *CHEMICAL ENGINEERING & TECHNOLOGY* 22 (12): 1017–1027.
- Lambert**, R. J., Johnston, M. D. (2001): The effect of interfering substances on the disinfection process: a mathematical model. *Journal of Applied Microbiology* 91 (3): 548–555.
- Lauterborn**, W. (2007): Grundlagen der Kavitation und ihrer quantitativen Beschreibung. Workshop Kavitation. Veranstaltung vom 18./19.10.2007 Bad Honnef. Veranstalter: Deutsche Physikalische Gesellschaft.
- LeChevallier**, M. W., Evans, T. M., Seidler, R. J. (1981): Effect of Turbidity on Chlorination Efficiency and Bacterial Persistence in Drinking Water. *Applied and Environmental Microbiology* 42 (1): 159–167.
- Lev**, O., Regli, S. (1992): Evaluation of Ozone Disinfection Systems - Characteristic Time - T. *Journal of Environmental Engineering – ASCE* 118 (2): 268–285.
- Li**, F., Wichmann, K., Otterpohl, R. (2009): Review of the technological approaches for grey water treatment and reuses. *Science of the Total Environment* 407 (11): 3439–3449.
- Longley**, K. E., Moore, B. E., Sorber, C. A. (1980): Comparison of Chlorine and Chlorine Dioxide as Disinfectants. *Journal Water Pollution Control Federation* 52: 2098–2105.
- Lörincz**, A. (2004): Effectiveness of ultrasonic cell disruption as a function of the suspension concentration. *Acta Alimentaria* 33 (3): 313–323.
- Luca**, G. De, Sacchetti, R., Zanetti, F., Leoni, E. (2008): Comparative study on the efficiency of paracetic acid and chlorine dioxide at low doses in the disinfection of urban wastewaters. *ANNALS OF AGRICULTURAL AND ENVIRONMENTAL MEDICINE* 15 (2): 217–224.
- Madigan**, M. T., Martinko, J. M., Brock, T. D., Lazar, T., Thomm, M. (2008): Brock Mikrobiologie. 11., überarb. Aufl., [Nachdr.] München: Pearson Studium (bc - biologie/chemie).
- Majumdar**, S., Kumar, P. S., Pandit, A. B. (1998): Effect of liquid-phase properties on ultrasound intensity and cavitation activity. *Ultrasonics Sonochemistry* 5 (3): 113–118.
- Marmottant**, P., Hilgenfeldt, S. (2003): Controlled vesicle deformation and lysis by single oscillating bubbles. *Nature* 243: 153–156.
- Marmottant**, P., Versluis, M., Jong, N. de, Hilgenfeldt, S., Lohse, D. (2006): High-speed imaging of an ultrasound-driven bubble in contact with a wall: “Narcissus” effect and resolved acoustic streaming. *Experiments in Fluids* 41 (2): 147–153.
- Mason**, T., Joyce, E., Phull, S. S., Lorimer, J. P. (2003): Potential uses of ultrasound in the biological decontamination of water. *Ultrasonics Sonochemistry* 10: 319–323.

- Mehier-Humbert**, S., Bettinger, T., Yan, F., Guy, R. H. (2005): Plasma membrane poration induced by ultrasound exposure: Implication for drug delivery. *Journal of Controlled Release* 104 (1): 213–222.
- Mettin**, R. (2007): Creation, properties, and modelling of bubble structures. Workshop Kavitation. Veranstaltung vom 18./19.10.2007 Bad Honnef. Veranstalter: Deutsche Physikalische Gesellschaft.
- Middelberd**, A. P., Oneill, B. K. (1993): A correlation for the effective strength of escherichia-coli during homogenization. *Biotechnology Progress* 9 (1): 109–112.
- Miller**, J., Rogowski, M., Kelly, W. (2002): Using a CFD model to understand the fluid dynamics promoting E-coli breakage in a high-pressure homogenizer. *Biotechnology Progress* 18 (5): 1060–1067.
- Milly**, P. J., Toledo, R. T., Chen, J., Kazem, B. (2007): Hydrodynamic cavitation to improve bulk fluid to surface mass transfer in a nonimmersed ultraviolet system for minimal processing of opaque and transparent fluid foods. *Journal of Food Sciences* 72 (9): M407-M413.
- Mishra**, C., Peles, Y. (2005a): Size scale effects on cavitating flows through microorifices entrenched in rectangular microchannels. *Journal of Microelectromechanical Systems* 14 (5): 987–999.
- Mishra**, C., Peles, Y. (2005b): Cavitation in flow through a micro-orifice inside a silicon microchannel. *Physics of Fluids* 17 (1): # 013601.
- Moholkar**, V. S., Pandit, A. B. (1997): Bubble behavior in hydrodynamic cavitation: Effect of turbulence. *AICHE JOURNAL* 43 (6): 1641–1648.
- Moholkar**, V. S., Pandit, A. B. (2001): Modelling of hydrodynamic cavitation reactors: a unified approach. *Chemical Engineering Science* 56 (21-22): 6295–6302.
- Moragues**, M., Comas-Riu, J., Vives-Rego, J. (2004): Rapid G(+) count and subpopulation assessment of the intestinal bacteria in *Apodemus sylvaticus* and *Mus musculus* by flow cytometry. *FOLIA MICROBIOLOGICA* 49 (5): 587–590.
- Morison**, K. R., Hutchinson, C. A. (2009): Limitations of the Weissler reaction as a model reaction for measuring the efficiency of hydrodynamic cavitation. *Ultrasonics Sonochemistry* 16 (1): 176–183.
- Morris**, A. L., Watkins, W. D., Dufour, A. P. (1980): Significance of waster water disinfection to health effects observed in swimmers. In: Jolley, Robert L. (Hg.): *Water chlorination. volume 3 ; proceedings of the Third Conference on Water Chlorination: Environmental Impact and Health Effects. Colorado Springs, Colorado, October 28 - November 2, 1979. Ann Arbor, Mich.: Ann Arbor Science Publ. (11–27).*
- Müller**, J., Lehne G. (1999): The influence of energy consumption on the sewage sludge disintegration. In: Tiehm, Andreas (Hg.): *Ultrasound in environmental engineering. [presentations held at the First Workshop "Ultrasound in Environmental Engineering"]*, March 22nd and 23rd, 1999 [at the Technical University of Hamburg-Harburg]. Hamburg: Ges. zur Förderung und Entwicklung der Umwelttechnologien an der Techn. Univ. Hamburg-Harburg (Reports on sanitary engineering, 25: 205–215).
- Najm**, I. (2006): An alternative interpretation of disinfection kinetics. *Journal AWWA* 98 (10): 93-101.

- Narkis**, N., Katz, A., Orshansky, F., Kott, Y., Friedland, Y. (1995): Disinfection of effluents by combinations of chlorine dioxide and chlorine. *Water Science & Technology* 31 (5-6): 105–114.
- Narkis**, N., Kott, Y. (1992): Comparison between chlorine dioxide and chlorine for use as a disinfectant of waste-water effluents. *Water Science & Technology* 26 (7-8): 1483–1492.
- Neidhardt**, F. C. (1996): *Escherichia coli* and *Salmonella*. Cellular and molecular biology ; Frederick C. Neidhardt, ed. in chief. 2nd ed. Washington: ASM Pr.
- Neis**, U., Blume, T. (2003): Ultrasonic disinfection of wastewater effluents for high-quality reuse. *Water Supply* 3 (4): 261–267.
- Neis**, U., Tiehm, A. (1999): Ultrasound in waste water and sludge treatment. In: Tiehm, Andreas (Hg.): *Ultrasound in environmental engineering*. [presentations held at the First Workshop "Ultrasound in Environmental Engineering"], March 22nd and 23rd, 1999 [at the Technical University of Hamburg-Harburg]. Hamburg: Ges. zur Förderung und Entwicklung der Umwelttechnologien an der Techn. Univ. Hamburg-Harburg (Reports on sanitary engineering, 25: 39–61).
- Nigmatulin**, R. (2005): Nano-scale thermonuclear fusion in imploding vapor bubbles. *Nuclear Engineering and Design* 235 (10-12): 1079–1091.
- Noss**, C. I., Hauchmann, F. S., Olivieri, V. P. (1986): Chlorine dioxide reactivity with proteins. *Water Research* 20 (3): 351–356.
- Noss**, C. I., Olivieri, V. P. (1985): Disinfecting Capabilities of Oxichlorine Compounds. *Applied and Environmental Microbiology* 50 (5): 1162–1164.
- Ohi**, C.-D., Arora, M., Ikin, R., Jong, N. de, Versluis, M., Delius, M., Lohse, D. (2006): Sonoporation from jetting cavitation bubbles. *Biophysical Journal* 91 (11): 4285–4295.
- Oliver**, R., Shipston, B. J. (1964): Some practical considerations in determining parameters for multi-target and multi-hit survival curves. *Physics in Medicine and Biology* 9 (2): 167–175.
- Petrucci**, G., Rosellini, M. (2005): Chlorine dioxide in seawater for fouling control and post-disinfection in potable waterworks. *Desalination* 182 (1-3): 283–291.
- Philipp**, A., Lauterborn, W. (1998): Cavitation erosion by single laser-produced bubbles. *Journal of Fluid Mechanics* 361: 75–116.
- Phull**, S., Newman, A., Lorimer, J., Pollet, B., Mason, T. (1997): The development and evaluation of ultrasound in the biocidal treatment of water. *Ultrasonics Sonochemistry* 4: 157–164.
- Piyasena**, P., Mohareb, E., McKellar, R. (2003): Inactivation of microbes using ultrasound: a review. *International Journal of Food Microbiology* 87: 207–216.
- Plesset**, M. S., Shaffer, P. A. (1948): Drag in Cavitating flow. *Reviews of Modern Physics* 20 (1): 228–231.
- Portenlänger**, R. (1999): Mechanical and radical effects of ultrasound. In: Tiehm, Andreas (Hg.): *Ultrasound in environmental engineering*. [presentations held at the First Workshop "Ultrasound in Environmental Engineering"], March 22nd and 23rd, 1999 [at the Technical University of Hamburg-Harburg]. Hamburg: Ges. zur Förderung und Entwicklung der Umwelttechnologien an der Techn. Univ. Hamburg-Harburg (Reports on sanitary engineering, 25: 11–22).

- Postema, M., Schmitz, G. (2006):** Bubble dynamics involved in ultrasonic imaging. *Expert Review of Molecular Diagnostics* 6 (3): 493–502.
- Postema, M., Gilja, O. H. (2007):** Ultrasound-directed drug delivery. *Current Pharmaceutical Biotechnology* 8 (6): 355–361.
- ProConsulting GmbH (2008):** Trinkwasser Hygiene. ProConsulting RS Unternehmensberatung GmbH, zuletzt aktualisiert am 01.10.2009.
- Radziminski, C., Ballantyne, L., Hodson, J., Creason, R., Andrews, R. C., Chauret, C. (2002):** Disinfection of *Bacillus subtilis* spores with chlorine dioxide: a bench-scale and pilot-scale study. *Water Research* 36 (6): 1629–1639.
- Rau, K. R., Quinto-Su, P. A., an Hellman, Venugopalan, V. (2006):** Pulsed laser microbeam-induced cell lysis: Time-resolved imaging and analysis of hydrodynamic effects. *Biophysical Journal* 91 (1): 317–329.
- Rav-Acha, C. (1984):** The reactions of chlorine dioxide with aquatic organic materials and their health effects. *Water Research* 18 (11): 1329–1341.
- Rayleigh (1917):** On the pressure developed in a liquid during the collapse of a spherical cavity. *Philosophical Magazine* 34 (199-04): 94–98.
- Rennecker, J. L., Kim, J. H., Corona-Vasquez, B., Marinas, B. J. (2001):** Role of disinfectant concentration and pH in the inactivation kinetics of *Cryptosporidium parvum* oocysts with ozone and monochloramine. *Environmental Science & Technology* 35 (13): 2752–2757.
- Rennecker, J. L., Marinas, B. J., Owens, J. H., Rice, E. W. (1999):** Inactivation of *Cryptosporidium parvum* oocysts with ozone. *Water Research* 33 (11): 2481–2488.
- Ridgway, H. F., Olson, B. H. (1982):** Chlorine resistance patterns of bacteria from 2 drinking-water distribution-systems. *Applied and Environmental Microbiology* 44 (4): 972–987.
- Roeske, W., Ritter, K. (2007):** Trinkwasserdesinfektion. Grundlagen, Verfahren, Anlagen, Geräte, Mikrobiologie, Chlorung, Ozonung, UV-Bestrahlung, Membranfiltration, Qualitätssicherung. 2. Auflage /// 2. Aufl. München: Oldenbourg Industrieverlag; Oldenbourg.
- Roller, S. D., Olivieri, V. P., Kawata, K. (1980):** Mode of bacterial inactivation by chlorine dioxide. *Water Research* 14 (6): 635–641.
- Rood, E. P. (1991):** Mechanism of cavitation inception - review. *Journal of Fluids Engineering – Transactions of the ASME* 113 (2): 163–175.
- Röske, I., Uhlmann, D. (2005):** Biologie der Wasser- und Abwasserbehandlung. 24 Tabellen. Stuttgart: Ulmer (UTB Biologie, Ökologie, Geowissenschaften, 8300).
- Ruffell, K. M., Rennecker, J. L., Marinas, B. J. (2000):** Inactivation of *Cryptosporidium parvum* oocysts with chlorine dioxide. *Water Research* 34 (3): 868–876.
- Samson AG (2003):** Technische Information. Kavitation in Stellventilen. Herausgegeben von Samson AG Frankfurt. (Schulung / V74).
- Save, S. S., Pandit, A. B., Joshi, J. B. (1997):** Use of hydrodynamic cavitation for large scale microbial cell disruption. *Food and Bioproducts Processing* 75 (C1): 41–49.

- Sawant**, S. S., Anil, A. C., Krishnamurthy, V., Gaonkar, C., Kolwalkar, J., Khandeparker, L. et al. (2008): Effect of hydrodynamic cavitation on zooplankton: A tool for disinfection. *Biochemical Engineering Journal* 42 (3): 320–328.
- Schlegel**, H. G., Zaborosch, C. (1992): *Allgemeine Mikrobiologie*. 41 Tabellen. 7., überarb. Aufl. Stuttgart, Germany /// Stuttgart: Thieme (Flexibles TaschenbuchBio).
- Schlicher**, R. K., Radhakrishna, H., Tolentino, T. P., Apkarian, R. P., Zarnitsyn, V., Prausnitz (2006): Mechanism of intracellular delivery by acoustic cavitation. *Ultrasound in Medicine and Biology* 32 (6): 915–924.
- Schmidt**, V. M. (2003): *Elektrochemische Verfahrenstechnik. Grundlagen, Reaktionstechnik, Prozeßoptimierung*. Weinheim: Wiley.
- Seltmann**, G., Holst, O. (2002): *The bacterial cell wall*. [2. ed.] Berlin: Springer.
- Severin**, B. F., Suidan, M. T., Engelbrecht, R. S. (1983): Kinetik modelling of UV Disinfection of Water. *Water Research* 17 (11): 1669–1678.
- Shang**, C., Blatchley, E. R. (2001): Chlorination of pure bacterial cultures in aqueous solution. *Water Research* 35 (1): 244–254.
- Shirgaonkar**, I. Z., Lothe, R. R., Pandit, A. B. (1998): Comments on the mechanism of microbial cell disruption in high-pressure and high-speed devices. *Biotechnology Progress* 14 (4): 657–660.
- Sierra**, G., Boucher, R. M. (1971): Ultrasonic synergistic effects in liquid-phase change chemical sterilization. *Applied Microbiology* 22 (2): 160–167.
- Simonet**, J., Gantzer, C. (2006): Degradation of the Poliovirus 1 genome by chlorine dioxide. *Journal of Applied Microbiology* 100 (4): 862–870.
- Sivakumar**, M., Pandit, A. B. (2002): Wastewater treatment: a novel energy efficient hydrodynamic cavitation technique. *Ultrasonics Sonochemistry* 9 (3): 123–131.
- Struckmeier**, W. (2009): *Grundwasser. Grundwasservorkommen in Deutschland*. Bundesanstalt für Geowissenschaften und Rohstoffe. Online available: http://www.bgr.bund.de/cln_092/nn_326806/DE/Themen/Wasser/wasser__node.html?__nnn=true, zuletzt aktualisiert am 01.10.2009.
- Sundaram**, J., Mellein, B. R., Mitragotri, S. (2003): An experimental and theoretical analysis of ultrasound-induced permeabilization of cell membranes. *Biophysical Journal* 84 (5): 3087–3101.
- Suslick**, K. S. (1990): Sonochemistry. *SCIENCE* 247 (4949): 1439–1445.
- Susta** (2006): *Kostbares Nass. Investitionschancen im Wassersektor*. 3. Aufl. Herausgegeben von SAM-Group Sustainable Asset Management, Zürich. Online available: www.sam-group.com.
- Swietlik**, J., Raczky-Stanislawiak, U., Bilozor, S., Ilecki, W., Nawrocki, J. (2003): Reduction of ClO₂ demand by ClO₂ oxidation and subsequent GAC filtration. *Water Research* 37 (19): 4693–4702.
- Tauber**, A., Alessandro, N. d', Mark, G., Schuchmann, H.-P., Sonntag, C. (1999): Sonolysis of water pollutants: thermal breakdown vs. liquid-phase OH radical reactions. A viable technology for pollution abatement. In: Tiehm, Andreas (Hg.): *Ultrasound in environmental engineering*. [presentations held at the First Workshop "Ultrasound in Environmental Engineering"], March 22nd and 23rd, 1999 [at the Technical University of Hamburg-Harburg]. Hamburg: Ges. zur Förderung und

Entwicklung der Umwelttechnologien an der Techn. Univ. Hamburg-Harburg (Reports on sanitary engineering, 25: 123–137).

Taylor, R. H., Falkinham, J. O., Norton, C. D., LeChevallier, M. W. (2000): Chlorine, chloramine, chlorine dioxide, and ozone susceptibility of *Mycobacterium avium*. *Applied and Environmental Microbiology* 66 (4): 1702–1705.

Tillner, W. (1990): Vermeidung von Kavitationsschäden. Grundlagen, Prüfmethode, Anwendungen, Erfahrungen. Ehningen bei Böblingen: expert-Verl. (Kontakt und Studium Konstruktion, 193).

Tsai, C. T., Lin, S. T. (1999): Disinfection of hospital waste sludge using hypochlorite and chlorine dioxide. *Journal of Applied Microbiology* 86 (5): 827–833.

Tsukamoto, I., Yim, B., Stavarache, C. E., Furuta, M., Hashiba, K., Maeda, Y. (2004): Inactivation of *Saccharomyces cerevisiae* by ultrasonic irradiation. *Ultrasonics Sonochemistry* 11 (2): 61–65.

UBA Umwelt Bundes Amt (Hg.) (Juni 2009): Liste der zugelassenen Aufbereitungsmittel und Desinfektionsverfahren nach § 11 der Trinkwasserverordnung (2001).

VDI-Technologie-Zentrum / DECHEMA e.V. (Hg.) (1999): Von der Kavitation zur Sonotechnologie. Workshop Technologie Früherkennung. Düsseldorf.

Vichare, N. P., Gogate, P. R., Pandit, A. B. (2000): Optimization of hydrodynamic cavitation using a model reaction. *Chemical Engineering & Technology* (8): 683–690.

Vogel, A., Schweiger, P., Frieser, A., Asiyu, M. N., Birngruber, R. (1990): Intraocular ND-YAG Laser-Surgery - Light Tissue Interaction, Damage Range and Reduction of Colateral Effects. *IEEE Journal of Quantum Electronics* 26 (12): 2240–2260.

Wamel, A. Van, Kooiman, K., Harteveld, M., Emmer, M. (2006): Vibrating microbubbles poking individual cells: Drug transfer into cells via sonoporation. *Journal of Controlled Release* 112:149–155.

Ward, M., Wu, JR, Chiu, J. F. (2000): Experimental study of the effects of Optison (R) concentration on sonoporation in vitro. *Ultrasound in Medicine and Biology* 26 (7): 1169–1175.

WAT GmbH (2009): Wasserhandbuch. Mikrobiologische Kontrolle. Gesellschaft für Wasseraufbereitung, Abwasser- und Chemietechnik mbH. Online available: <http://www.wat-nord.de/1.html>, zuletzt geprüft am 01.10.2009.

WaterVitt GmbH, Entkeimungsmethoden - Chlorgas. Fluch und Segen des Chlorgas. UVitt GmbH. Online available: <http://www.watervitt.de/wasserentkeimung/chlorgas.html>, zuletzt geprüft am 01.10.2009.

Watson, H. E. (1908): A Note on the Variation of the Rate of Disinfection with Change in the Concentration of the Disinfectant. *The Journal of Hygiene* 8 (4): 536–542.

Weavers, L. K., Wickramanayake, G. B. (2001): Kinetik of the Inactivation of Microorganisms. Chapter 5. In: Block, Seymour S. (Hg.): Disinfection, sterilization, and preservation. 5th ed. Philadelphia, Pa., London: Lippincott Williams & Wilkins (65–78).

Wei, M. K.; Wu, Q. -P; Huang, Q.; Wu, J. -L; Zhang, J. -M (2008): Plasma membrane damage to *Candida albicans* caused by chlorine dioxide (ClO₂). LETTERS IN APPLIED MICROBIOLOGY 47 2) 67–73.

White, C. G. (1972): Handbook of chlorination. For potable water, wastewater, cooling water, industrial processes and swimming pools. 1. Aufl. New York, USA: Van Nostrand Reinhold.

Winward, G. P., Avery, L. M., Stephenson, T., Jefferson, B. (2008): Chlorine disinfection of grey water for reuse: Effect of organics and particles. Water Research 42 (1-2): 483–491.

Zenker, M. (2004): Ultraschall-Kombinierte Prozessführung bei der Pasteurisierung und Sterilisierung flüssiger Lebensmittel. Dissertation, under supervision of Dietrich Knorr. Berlin, Technische Universität, Prozeßwissenschaften.

10. Anhänge

10.1. Abkürzungen

SI-Einheiten und gebräuchliche Einheiten sowie ihre Vor-Faktoren wie „kilo = k“ werden in Ihrer Abkürzung als bekannt vorausgesetzt. Auch gängige chemische Grundformeln und Elemente werden als bekannt vorausgesetzt.

Formelzeichen / Abkürzung	Bedeutung	Einheit / Bemerkung
A	Aktivität	$U L^{-1}$ oder $U g^{-1}$ BTM
BTM	Biotrockenmasse	$g L^{-1}$
C	Konzentration allgemein	$mg L^{-1}$
C*t	Konzentrations-Zeit-Produkt	$mg L^{-1} min$
C ₀	Startkonzentration von Chlordioxid	$mg L^{-1}$
C ₀ ⁿ *t ₉₉	Start-Konzentrations-Zeit-Produkt	Produkt aus t ₉₉ und C ₀ in $mg L^{-1} min$
ClO ₂	Chlordioxid	Manchmal auch für die Konzentration in $mg L^{-1}$ stehend
c _p	Druckbeiwert	bar
CSB	Chemische Sauerstoffbedarf	$mg L^{-1}$
C _v	Kavitationszahl	[] keine Einheit
C _{vi}	Kavitationszahl bei Beginn der Kavitation	[] keine Einheit
d	Schichtdicke, Abstand, Durchmesser	cm / mm
DNA	DesoxyRibonukleinsäure	
DPD	N'N'-Diethyl-p-Phenylendiamin	
E	Extinktion	
E _a	Aktivierungsenergie	$J mol^{-1}$

F	Volumenstrom	$L s^{-1}$
f	Frequenz	Hz
GND	Mikrogitter mit Nachlaufdüse	
k, K	Inaktivierungsrate	min^{-1}
k_0	Frequenzfaktor	Hier: $L mg^{-1} min^{-1}$
KbE	Koloniebildende Einheiten	
k_q	Verbrauchsrate	Bei Desinfektionsmittel in min^{-1}
LB	Luthia Broth	Anzuchtmedium für <i>E. coli</i>
LBL	Lochblende	
LD ₅₀	Letale Dosis (für 50 %)	
m	Verzögerungsfaktor	Bei der Inaktivierung
M_g	Molekulargewicht	Da oder $g mol^{-1}$
N	Keimzahlkonzentration	ml^{-1}
N_0	Start-Keimzahlkonzentration	ml^{-1}
n	Verdünnungsfaktor	Einfluss der Konzentration auf Desinfektionswirkung
OH^{\bullet}	Hydroxyl-Ion / Radikal	
ONPG	2-Nitrophenyl- β -Galactopyranosid	
p	Druck allgemein / lokal	relativ oder absolut in bar
P	Leistung	kWh
p_{∞}	Globaler Umgebungsdruck	bar absolut
p_B	Druck in Blase	bar
p_c	Kritischer Druck	bar (führt zum anwachsen von Blasenkeimen)
$P_{G(0)}$	Gasdruck	Gasdruck in einer Blasen in bar
pH	Log Partialdruck Wasserstoff	

p_N	Druck im Rohr-Nachlauf	bar absolut
Pt 100	Temperaturfühler	
p_v	Dampfdruck	bar absolut
r	Radius allgemein	In Text erläutert
R	Universelle Gaskonstante	$J mol^{-1} K^{-1}$
R_0	Normal- oder Ruheradius	Einer Gasblase in bar
R^2	Quadratische Standardfehler	
R_c	Kritischer Radius	eines Kavitationskeims in m / μm
R_{max}	Maximal-Radius	Einer Kavitationsblase in m / μm
RNA	Ribonukleinsäure	Auch in den Formen rRNA und mRNA erwähnt
t	Zeit	min oder s
T	Temperatur	In °C oder Kelvin
t_{99}	Zeit für 99 % Inaktivierung der Keime	min
THM	Trihalogenmethan	
t_K	Kontaktzeit	s
t_L	Latenzzeit	Verweilzeit zwischen ClO_2 -Dosierung und Probehahn in s
t_M	Messzeit	s
TMB	3,3',5,5'-Tetramethylbenzidin	
t_U	Umlaufzeit	Für eine Passage durch den Kavitationskreislauf in s
t_v	Verzögerungszeit	Verzögerung der Inaktivierung in s
US	Ultraschall	
v'	Volumen (klein / Probe)	ml
V' / V	(Gesamt-)Volumen	ml oder L
v_∞	Anströmgeschwindigkeit	$m s^{-1}$

V_{\max}	Maximale Geschwindigkeit	Im engsten Rohr-Querschnitt in m s^{-1}
z	Anzahl an Passagen	
ϵ_{ONPG}	Absorptionskoeffizient ONPG	mmol cm^{-1}
ρ	Dichte	g L^{-1}
σ	Oberflächenspannung	J m^{-2}

10.2. Tabellen- und Abbildungsverzeichnis

Tabelle 3.1: Stoffeigenschaften von Chlordioxid.....	24
Tabelle 3.2: Reaktionsgleichungen zur Darstellung von Chlordioxid für die Trinkwasserdesinfektion.	29
Tabelle 3.3: Auflistung recherchierter Zahlenwerte für C^*t_{99} in $\text{mg L}^{-1} \text{min}$ von <i>Escherichia coli</i> bei der Inaktivierung mittels Chlordioxid (nach der Temperatur geordnet).	36
Tabelle 4.1: Auflistung der verfahrenstechnischen Parameter und Kenngrößen der Versuchsanlage.....	74
Tabelle 4.2: Zusammensetzung der physiologischen Phosphatpufferkonzentrate (20-fach) mit pH 6,3 und 7.	83
Tabelle 4.3: Herstellung der Natronlauge (2 %) zur Reinigung der Versuchsanlage.....	84
Tabelle 4.4: Zusammensetzung des Anzuchtmediums und Agars (Basis Luthia-Broth).....	84
Tabelle 4.5: Zusammensetzung des Analysenpuffers (pH 7) für die Iodometrie.	84
Tabelle 4.6: Herstellung der Kaliumiodid Lösung ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$) für die Iodometrie. ...	84
Tabelle 4.7: Herstellung der Natriumthiosulfat Lösungen zur Analyse oder zum Quenchen von ClO_2	84
Tabelle 4.8: Herstellung der Stärkelösung zur Iodometrie.	85
Tabelle 4.9: Zusammensetzung der DPD-Lösung zur Konzentrationsbestimmung von ClO_2	85
Tabelle 4.10: Zusammensetzung des β -Mercaptoethanolpuffer (10-fach konzentriert) für die Aktivitätsmessung).....	85
Tabelle 4.11: Herstellung der ONPG-Lösung (10-fach konzentriert) für die Aktivitätsmessung.....	85
Tabelle 4.12: Eingesetzte Volumina der Proben und Puffer für die Aktivitätsmessung.....	95

Tabelle 5.1: Vergleich verschiedener Betriebszustände von Lochblende, nur Nachlaufdüse und des gesamten Kavitationsreaktors Mikrogitter mit Nachlaufdüse.....	103
Tabelle 6.1: Freisetungsgrad an β -Galaktosidase für eine Passage in %.....	119
Tabelle 6.2: Vergleich der Aktivierungsenergien und des Frequenzfaktoren für die drei untersuchten Verfahren.	139
Abbildung 3.1: Einteilung der Desinfektionsverfahren.	6
Abbildung 3.2: Liste der zugelassenen Desinfektionsmittel für die Trinkwasseraufbereitung nach dem Umwelt Bundesamt (Stand 2009).	10
Abbildung 3.3: Vergleich der Effektivität verschiedener Desinfektionsmittel mittels Auftragung der benötigten Konzentration über der Zeit für eine 99 % Inaktivierung von <i>E. coli</i> (nach Akin und Hoff, 1982).	12
Abbildung 3.4: Vergleich von möglichen Verläufen der Inaktivierung (nach Gyürek, 1998).....	15
Abbildung 3.5: Molekülstruktur des Chlordioxids in seinen beiden mesomeren Grenzstrukturen des radikalischen Elektrons.	24
Abbildung 3.6: Löslichkeit von Chlordioxid in Abhängigkeit des Partialdrucks im Kopfraum (DVGW W224, 1986).	27
Abbildung 3.7: Anlagenschema für die vor Ort-Herstellung von Chlordioxid nach dem Chlor-Chlorit- oder Salzsäure-Chlorit-Verfahren (gestrichelt; aus DVGW W224, 1986).....	31
Abbildung 3.8: Schematischer Aufbau der Zellhülle von gram-negativen Bakterien (nach Dahl, 2008; modifiziert).....	34
Abbildung 3.9: Schematisches Phasendiagramm mit den Zustandsänderungen Sieden und Kavitation (Pfeile) über die Siedelinie (gestrichelt).	41
Abbildung 3.10: Kräftegleichgewicht an einer Mikroblase in Flüssigkeit.....	42
Abbildung 3.11: Verlauf des Blasenkollapses a) sphärisch bei $75.000 \text{ Bilder s}^{-1}$ und b) asphärisch an einer Wand (unterer Bildrand; Bild 4 zeigt deutlich den Mikrojet in der Mitte der Blase) bei $56.500 \text{ Bilder s}^{-1}$ aufgenommen (aus Philipp und Lauterborn, 1998).	45
Abbildung 3.12: Fotografie von Blasenfilamentstrukturen an eine Ultraschallsonotrode bei a) normaler Belichtungszeit und b) einer Kurzbelichtungszeit (Mettin, 2007).	47
Abbildung 3.13: Axialer Schnitt durch eine Venturi-Düse mit Lage der Parameter zur Berechnung der Kavitationszahl und Verlauf des Druckbeiwerts C_p	49
Abbildung 3.14: Auswahl der verwendeten Lochplatten nach der Forschergruppe um Pandit (aus Vichare und Pandit, 2000).....	53
Abbildung 3.15: Modellvorstellung der Wirkung von oszillierenden Mikroblasen auf Zellmembranen (nach VanWamel et al., 2006; modifiziert).	59
Abbildung 3.16: Kavitationskreislauf (nach Jyoti und Pandit, 2004a).	66

Abbildung 4.1: Vereinfachtes Anlagenschema zur Durchführung von Untersuchungen zur Wirkung von hydrodynamischer Kavitation und deren Kombination mit Chlordioxid auf Zellen.	68
Abbildung 4.2: Photographie der Versuchsanlage zur Untersuchung der Kombination von hydrodynamischer Kavitation und Chlordioxid zur Desinfektion.	69
Abbildung 4.3: Vergleich des theoretischen Volumenstroms mit dem Messwert des Durchflusssensors.	72
Abbildung 4.4: Kennlinie der Chlor-dioxidosierpumpe.	73
Abbildung 4.5: Volumenstromabhängigkeit des Chlordioxidsensors.	73
Abbildung 4.6: Vergleich von normalisierten Antworten auf eine Sprungfunktion für verschiedene Volumenströme (Der Pfeil markiert dabei den Zeitpunkt der Probenahme für die externe Inkubation).	75
Abbildung 4.7: Vergleich von normalisierten Antworten auf einen Dirac-Impuls für verschiedene Volumenströme.	75
Abbildung 4.8: Abhängigkeit charakteristischer Zeiten vom Volumenstrom (bei 8,5 L Füllvolumen des Arbeitskreislaufs).	81
Abbildung 4.9: Reaktion von DPD mittels ClO_2 zum Chromophor.	89
Abbildung 4.10: Reaktion von TMB mit 2 ClO_2 zu einem gelben Farbstoff.	91
Abbildung 4.11: Beispiel einer Kalibrierung für die Bestimmung der ClO_2 -konzentration (DPD-Methode, DIN 38408-G5).	91
Abbildung 4.12: Kalibrierung der Chlordioxidbestimmung nach der Tetramethylbenzidin- Methode.	91
Abbildung 4.13: Intrazelluläre Umsetzung von Calcein AM zu Calcein durch Esterasen.	93
Abbildung 5.1: Technische Zeichnung des Längsschnitt durch den neu entwickelten Kavitationsreaktor (Mikrogitter mit Nachlaufdüse) mit Querschnitt A-A. Die Durchflussrichtung verläuft von unten nach oben.	97
Abbildung 5.2: Technische Zeichnung der Lochblende (Aufsicht).	99
Abbildung 5.3: Technische Zeichnung des Längsschnitts durch die Nachlaufdüse mit Zulaufkonus (Durchfluss von links nach rechts).	100
Abbildung 5.4: Eingangsdruck als Funktion des Volumenstroms für verschiedene Kavitationsapparaturen und Bauteile. Der Beginn der Kavitation zeigt sich dabei charakteristisch durch einen Knick in der Steigung (markiert durch einen Pfeil).	100
Abbildung 5.5: Vergleich der erreichbaren Kavitationszahlen über die dafür benötigten hydraulischen Leistungseinträge. Das Einsetzen der Kavitation zeigt sich durch einen Knick in der Steigung (markiert durch einen Pfeil).	101
Abbildung 6.1: Beispiele für den Verlauf der Lebendkeimzahl und der Chlordioxid-konzentration über der Zeit für verschiedene Startkonzentrationen ($C_0 = 0,15; 0,25; 0,30$ und $0,35 \text{ mg L}^{-1}$) an Chlordioxid (Startkeimzahl $\sim 2 \cdot 10^7 \text{ ml}^{-1}$, $20 \text{ }^\circ\text{C}$).	105

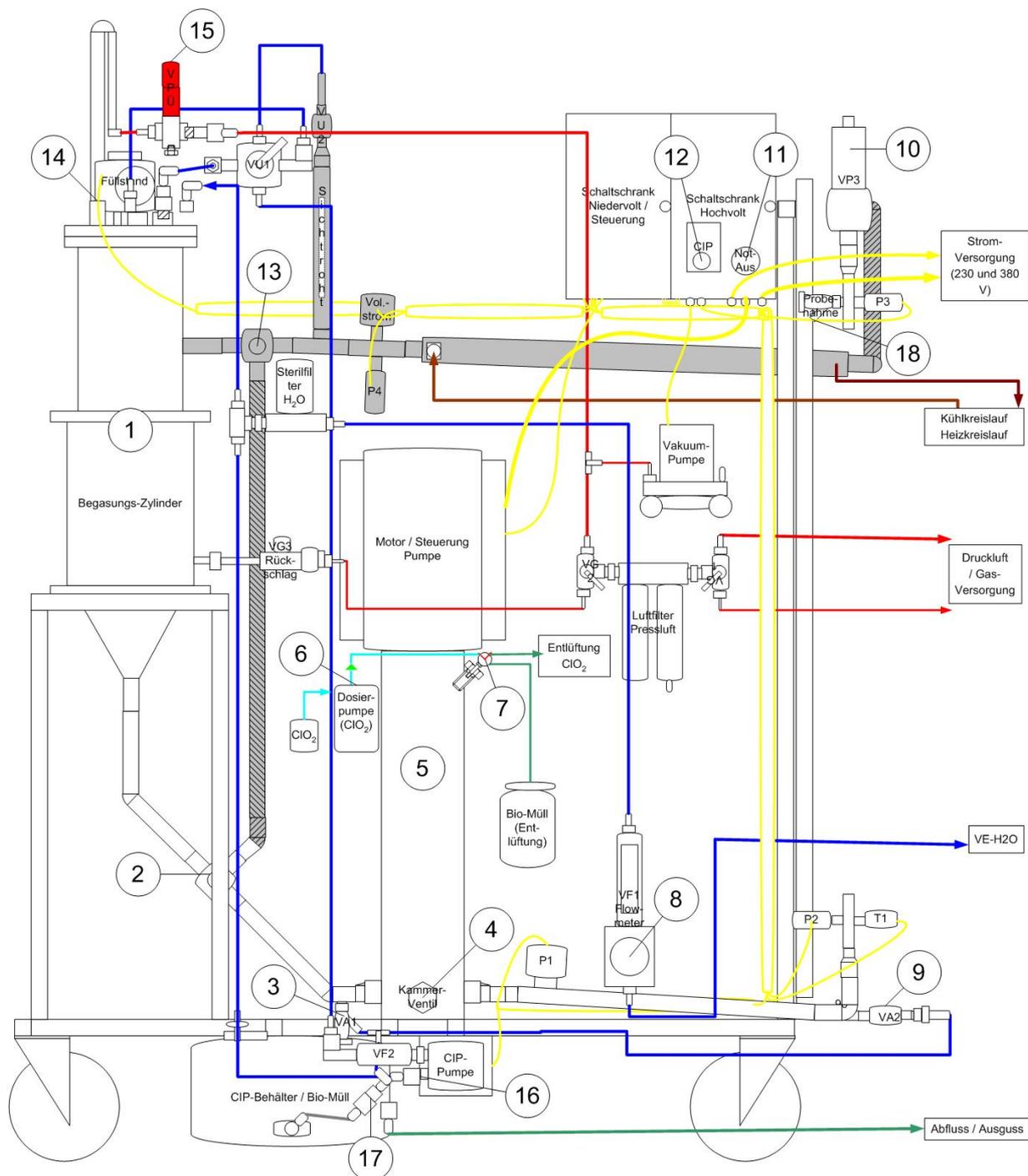
Abbildung 6.2: Verlauf der Chlor-dioxidkonzentration über der Zeit für verschiedene Startkonzentrationen bei der Inaktivierung von $2 \cdot 10^7$ <i>E. coli</i> ml ⁻¹	106
Abbildung 6.3: Gemessene End-keimzahlen (> 3 Minuten Inaktivierungs-zeit) in % zu Startkeimzahl bei verschiedenen Startkonzentrationen an ClO ₂	106
Abbildung 6.4: Doppelt logarithmische Auftragung der benötigten Zeit in Minuten für eine Inaktivierung von 99 % der Startkeimzahl über der Startkonzentration an Chlordioxid (Startkeimzahl $\sim 2 \cdot 10^7$ KbE ml ⁻¹ , 20 °C).	107
Abbildung 6.5: Vergleich der t ₉₉ über verschiedene Startkeimzahlen an <i>E. coli</i> bei einer konstanten ClO ₂ -Startkonzentration von C ₀ = 0,30 mg L ⁻¹	109
Abbildung 6.6: Vergleich der t ₉₉ über der Startkonzentration an ClO ₂ bei einer Startkeimzahl von $2 \cdot 10^6$ KbE ml ⁻¹ mit der Regression aus Abb. 6.4.....	109
Abbildung 6.7: Verlauf der Lebendkeimzahl (KbE ml ⁻¹) für verschiedene Temperaturen (C ₀ = 0,30 mg L ⁻¹ ClO ₂ , Start-KbE $\sim 2 \cdot 10^7$ ml ⁻¹).	110
Abbildung 6.8: Auftragung der C ₀ ⁿ *t ₉₉ über der Temperatur bei konstanter C ₀ = 0,30 mg L ⁻¹ Chlordioxid und $\sim 2 \cdot 10^7$ Start-KbE ml ⁻¹ (Potentielle Regression).	111
Abbildung 6.9: Arrhenius-Plot der Inaktivierungskonstanten k über dem Kehrwert der Temperatur in Kelvin (C ₀ = 0,30 mg L ⁻¹ ClO ₂ , $\sim 2 \cdot 10^7$ Start-KbE ml ⁻¹).	111
Abbildung 6.10: Vergleich der β-Galaktosidaseaktivitäten im Überstand nach entsprechender Anzahl an Passagen von <i>E. coli</i> durch Lochblende und Mikrogitter mit Nachlaufdüse bei einer optischen Dichte von 0,05.	117
Abbildung 6.11: Vergleich der β-Galaktosidaseaktivitäten im Überstand nach entsprechender Anzahl an Passagen von <i>E. coli</i> durch Lochblende und Mikrogitter mit Nachlaufdüse bei einer optischen Dichte von 4,0.	117
Abbildung 6.12: Vergleich des erzielten Aufschlussgrades in % bei hydrodynamischer Kavitation mit Lochblende und Mikrogitter mit Nachlaufdüse gemessen als β-Galaktosidaseaktivität im Überstand bei einer OD von 0,05.	118
Abbildung 6.13: Vergleich des erzielten Aufschlussgrades in % bei hydrodynamischer Kavitation mit Lochblende und Mikrogitter mit Nachlaufdüse gemessen als β-Galaktosidaseaktivität im Überstand bei einer OD von 4,0.	118
Abbildung 6.14: Vergleich der relativen Zellinaktivierungsraten pro Passage durch Lochblende und Mikrogitter mit Nachlaufdüse (GND) bei den optischen Zelldichten von 0,05 und 4,0.....	119
Abbildung 6.15: Auftragung der Fluoreszenzänderung von Calcein im Überstand über der Anzahl an Passagen von <i>E. coli</i> durch Mikrogitter mit Nachlaufdüse und Lochblende.	121
Abbildung 6.16: Vergleich der maximalen Fluoreszenzänderung bei den Versuchsansätzen von Mikrogitter mit Nachlaufdüse (GND) und Lochblende (LBL).....	121
Abbildung 6.17: Vergleich der relativen Fluoreszenzänderung an Calcein in Abhängigkeit der Anzahl an Passagen durch Lochblende und Mikrogitter mit Nachlaufdüse in % zum Kugelmühlenaufschluss.	122

Abbildung 6.18: Benötigte Zeit t_{99} (zur Inaktivierung von 99 % der Startkeimzahl) bei verschiedenen Startkonzentration an Chlordioxid nach einer Passage der Lochblende ($C_v = 0,13$; Startkeimzahl $\sim 2 \cdot 10^7$ KbE ml^{-1} ; 20 °C).....	128
Abbildung 6.19: Gemessene End-keimzahlen (> 3 Minuten Inaktivierungszeit) in % zur Startkeimzahl bei verschiedenen Startkonzentrationen an ClO_2 nach einer Passage der Lochblende.....	129
Abbildung 6.20: Vergleich der t_{99} von einer Passage der Lochblende in Kombination mit Chlordioxid und der reinen Chlordioxid-Inkubation über der Startkonzentration an ClO_2	129
Abbildung 6.21: Direkter Vergleich der Inaktivierung von Lochblende in Kombination mit ClO_2 und nur ClO_2 -Inkubation bei links oben: $C_0 = 0,30 \text{ mg L}^{-1}$ (0,33 mg L^{-1} bei Lochblende), Start-KbE $\sim 2 \cdot 10^7 \text{ ml}^{-1}$; rechts oben: $C_0 = 0,30 \text{ mg L}^{-1}$, Start-KbE $\sim 3 \cdot 10^7 \text{ ml}^{-1}$ und links unten: $C_0 \approx 0,25 \text{ mg L}^{-1}$, Start-KbE $\sim 2 \cdot 10^7 \text{ ml}^{-1}$	130
Abbildung 6.22: Einfluss der Kavitationszahl auf die Inaktivierung von <i>E. coli</i> bei einer oder mehreren wiederholten Passagen durch die Lochblende (Inkubation in der Versuchsanlage). Vergleich mit der Blindreferenz: Unterdrückte Kavitation mittels Gegendruck bei ähnlichem Leistungseintrag der Pumpe (entsprechend bei $C_v = 0,13$).....	131
Abbildung 6.23: Temperaturabhängigkeit des $C_0^{n \cdot t_{99}}$ bei einer Passage durch die Lochblende ($C_0 = 0,30 \text{ mg L}^{-1} \text{ ClO}_2$, $\sim 2 \cdot 10^7$ KbE ml^{-1} Startkeimzahl, Potentielle Regression).....	132
Abbildung 6.24: Arrhenius-Plot der Inaktivierungsgeschwindigkeiten k über dem Kehrwert der Temperatur in Kelvin und Vergleich mit der reinen ClO_2 -Inaktivierung (LBL = Lochblende).....	132
Abbildung 6.25: Vergleich der t_{99} von reiner ClO_2 -Inkubation (Dunkelgraue Datenpunkte) und Kombination von einer Passage Lochblende mit ClO_2 (Netzwerk-Plot) bei verschiedenen Startkonzentrationen an ClO_2 und Biotrockenmasse-konzentrationen an <i>E. coli</i>	134
Abbildung 6.26: Einfluss der Kavitationszahl (Gitterebene) auf den $C_0^{n \cdot t_{99}}$ des Mikrogitters mit Nachlaufdüse ($C_0 = 0,25 \text{ mg L}^{-1} \text{ ClO}_2$, $\sim 2 \cdot 10^7$ Start-KbE ml^{-1} , 20 °C).....	138
Abbildung 6.27: Temperaturabhängigkeit des $C_0^{n \cdot t_{99}}$ bei einer Passage durch das Mikrogitter mit Nachlaufdüse ($C_0 = 0,3 \text{ mg L}^{-1} \text{ ClO}_2$, $\sim 2 \cdot 10^7$ KbE ml^{-1} Startkeimzahl, Potentielle Regression).....	139
Abbildung 6.28: Arrhenius-Plot der Inaktivierungsgeschwindigkeiten k über dem Kehrwert der Temperatur in Kelvin und Vergleich mit der reinen ClO_2 -Inaktivierung (GND = Mikrogitter mit Nachlaufdüse).....	139
Abbildung 6.29: Einfluss der Temperatur und des Volumenstroms auf den $C_0^{n \cdot t_{99}}$ des Mikrogitters mit Nachlaufdüse bei $C_0 = 0,30 \text{ mg L}^{-1} \text{ ClO}_2$ und $2 \cdot 10^7$ Start-KbE ml^{-1} (interne Inkubation).....	140
Abbildung 6.30: Auftragung der t_{99} des Mikrogitters mit Nachlaufdüse (GND) über der Chlordioxid-Startkonzentration und Vergleich mit der reinen ClO_2 -Inkubation ($\sim 2 \cdot 10^7$ Start-KbE ml^{-1} , 20 °C).....	142

Abbildung 6.31: Gemessene End-keimzahlen des GND (> 3 Minuten Inaktivierungszeit) in % zur Startkeimzahl bei verschiedenen Startkonzentrationen an ClO ₂	142
Abbildung 6.32: Direkter Vergleich des Lebendkeimzahlverlaufs der reinen ClO ₂ -Inkubation mit dem Mikrogitter mit Nachlaufdüse bei C ₀ = 0,30 mg L ⁻¹ ClO ₂ und ~ 3*10 ⁷ ml ⁻¹ Start-KbE (links) und C ₀ ≈ 0,25 mg L ⁻¹ und ~ 2*10 ⁷ ml ⁻¹ Start-KbE (rechts).....	143
Abbildung 6.33: Einfluss des Gegendrucks (Druck nach dem Mikrogitter mit Nachlaufdüse) auf den C ₀ ⁿ *t ₉₉ (C ₀ = 0,30 mg L ⁻¹ ClO ₂).....	144
Abbildung 6.34: Vergleich der t ₉₉ des GND in % zur reinen ClO ₂ -Inkubation (Mittelwert bei C ₀ = 0,30 mg L ⁻¹) über dem hydraulischen Energieeintrag.....	144
Abbildung 6.35: Vergleich des Mittelwertes des t ₉₉ der reinen ClO ₂ -Inkubation mit den Werten der Lochblende (LBL) und des Mikrogitters mit Nachlaufdüse (GND) bei C ₀ = 0,25 mg L ⁻¹ ClO ₂ (Startkeimzahl 2 – 3 *10 ⁷ KbE ml ⁻¹).....	149
Abbildung 6.36: Vergleich der t ₉₉ von reiner ClO ₂ -Inkubation (Mittelwert), Lochblende und GND bei verschiedenen Gegendrücken bei C ₀ = 0,30 mg L ⁻¹ ClO ₂ (Startkeimzahl 2 – 3 *10 ⁷ KbE ml ⁻¹).....	149
Abbildung 6.37: Vergleich der Linearen Regressionen von Log t ₉₉ über Log ClO ₂ für die reine ClO ₂ -Inkubation und Kombination Chlordioxid mit Lochblende und Mikrogitter mit Nachlaufdüse (~ 2*10 ⁷ Start-KbE ml ⁻¹ , 20 °C, ab C ₀ = 0,25 oder 0,30 mg L ⁻¹).....	150
Abbildung 7.1: Vergleich der Inaktivierungszeiten für die Reduzierung der Startkeimzahl um 99 % von reiner ClO ₂ -Inkubation und einer Passage der Lochblende und des Mikrogitters mit Nachlaufdüse (Startkeimzahl 2*10 ⁷ – 3*10 ⁷ KbE ml ⁻¹ , 20 °C, GND = Mikrogitter mit Nachlaufdüse, Mittelwerte bei der reinen ClO ₂ -Inkubation).....	156
Abbildung 7.2: Vergleich der Inaktivierungszeiten für 99 % Reduktion der Startkeimzahl bei verschiedenen Startkonzentrationen an ClO ₂ und Biotrockenmassen (entsprechend 2*10 ⁶ – 6*10 ⁷ Start-KbE ml ⁻¹) für die Kombination mit einer Passage der Lochblende (Netzplot) und der reinen ClO ₂ -Inkubation.....	157

10.3. Ergänzungen zur Versuchsanlage und des Steuerprogramms

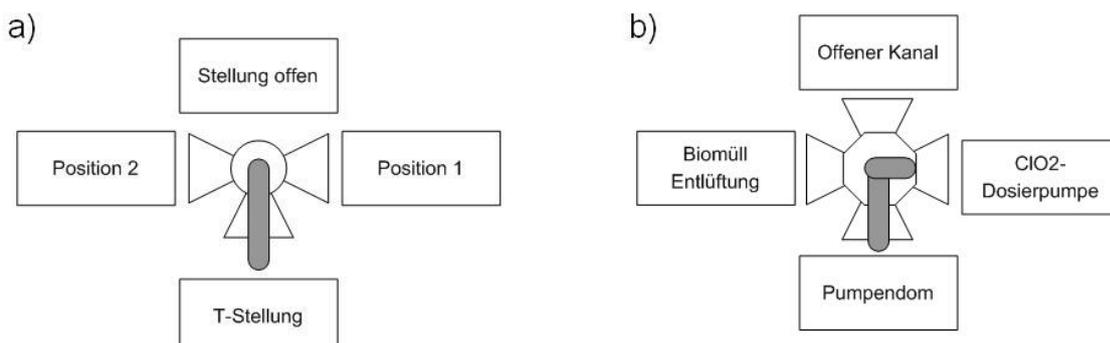
Schemazeichnung der Seitenansicht der Versuchsanlage:



Legende:

1	Vorlaufbehälter
2	Unteres Hauptventil 3-Wege
3	Ablassventil 1
4	Pumpenkammerventil
5	Hauptpumpe
6	ClO ₂ -Dosierungspumpe
7	Pumpendom 4-Wege-L-Ventil
8	Einlassventil für VE-Wasser
9	Ablassventil 2
10	Gegendruck-Drosselventil
11	Notausschalter
12	CIP-Pumpe-Startschalter
13	Oberes Hauptventil 3-Wege
14	Füllstutzen Vorlaufbehälter
15	Entlüftungs- Überdruck-Ventil
16	Kupplung CIP-Pumpe (H ₂ O/CIP)
17	Kupplung Ablass (Biomüll/H ₂ O/CIP)
18	Probenahme-Ventil
Rot	Zu- und Ab-Luft
Blau	Zulauf VE-Wasser / NaOH
Türkis	Zulauf ClO ₂
Grün	Ablauf Biomüll / Wasser / NaOH
Gelb	Elektrische Leitungen / Messleitungen
Braun	Zu- Ab-Lauf Kühlwasser
Grau	In der Zeichenebene hinten liegend

Definition der Ventilstellung der a) Hauptventile (2 und 13, 3-Wege-T-Ventil) und b) des Pumpendom-Ventils (7, 4-Wege-L-Ventil):



Bedienungsanleitung:

1) Vorbereitung und Inbetriebnahme

- Auswahl der Geometrie und der Messstrecken:
 - o Lösen der Fixierung auf Arbeitsschiene
 - o Lösen gewünschter Klemmen und Verschraubungen
 - o Umbau der Rohrbauteile / Geometrie
 - o Fixieren der Bauteile auf Arbeitsschiene
 - o Schließen der Klemmen (Vorsicht bei Plexiglas nicht zu fest!)
 - o Prüfung auf Dichtigkeit
- Anschluss der Kühler / Heizung
- Anschluss elektrische Anschlüsse (220 und 380 V)
- LabVIEW-Karte anschließen (USB-Stecker an Rechner / Notebook)
- LabVIEW-Oberfläche starten, gewünschte Ausleseoberfläche („ .vi-Datei)
- Vorbereitung aller Hilfsmittel (Puffer, Proberöhrchen, Chlordioxid etc.)

2) Befüllen der Anlage (mit VE-Wasser)

- Ablassventile 3 und 9 schließen
- Hauptventile öffnen 2 und 13; wenn nur Vorlaufbehälter gefüllt werden soll unteren Hauptventilhebel 2 auf Position 1
- Pumpendomventil 7 auf „Entlüftung / Biomüll“
- Pumpenkammerventil 4 öffnen (etwa 2 Umdrehungen)
- Schlauch an VE-H₂O anschließen
- Anschluss des Wassers an Kupplung 16
- Befüllventil 8 öffnen
- VE-Hahn öffnen bis Flowmeter über (Ventil 8) max. oberen Anschlag erreicht
- CIP-Pumpe aktivieren 12
- Füllpegel über LabVIEW verfolgen
- Füllung für einen Versuch ~ 10 L (LabVIEW: „Nur Vorlaufbehälter“), für 2 Versuche ~ 20 L (Gesamte Anlage)
- Entlüftungsschlauch von Pumpendomventil zur Biomüllflasche beobachten: sobald Wasser kommt: Pumpendomventil 7 auf „Offener Kanal“ stellen
- Beenden der Befüllung:
 - o VE-Hahn schließen und Schlauch gleich abschrauben, CIP-Pumpe saugt Schlauch noch leer
 - o Befüllventil 8 schließen
 - o CIP-Pumpe 12 abschalten

3) Entlüften der Pumpe und Anlage

- Bei Versuch mit 10 Liter erst unteres Hauptventil 2 öffnen
- Wenn bei offenem Pumpendomventil 7 (Stellung „Entlüften / Biomüll“), neben Luft auch Wasser ausströmen, dann:
- Hauptpumpe 5 aktivieren bis 1. Pumpstufe erreicht wird
- Entlüftungsprozedere:
 - o Pumpe beschleunigen (3-4 Stufen) und
 - o Gleichzeitig Pumpenkammerventil 4 etwa 1 Umdrehung öffnen
 - o Zeitnah (2-3 sec.) Pumpe wieder verlangsamen und
 - o Gleichzeitig Pumpenkammerventil 4 schließen
 - o Aus dem Pumpendomventil 7 sollte jetzt weitere Luft entweichen, danach wieder gleichmäßig Wasser

- Wiederholung der oberen 5 Punkte
- Entlüftungsprozedere etwa 5 – 10 x in kurzen Abständen wiederholen, sodass möglichst wenig Wasser entweicht
- Danach Pumpe 5 auf Stufe 3 – 4 bei offenem (1 - 2 Umdrehungen) Kammerventil 4 und geschlossenem Pumpendomventil 7 („Offener Kanal“)
- Etwa 1 Minute mit offenem Kammerventil, dann 2 Minuten bei geschlossenem Kammerventil 4 bei variabler Pumpendrehzahl (Stufe 3 – 6) Versuchskreislauf entlüften
- Ist die Entlüftung vollständig erfolgt, so sollten im Sichtrohr bei Pumpleistung Stufe 3-4 kaum mehr Luftblasen aufsteigen (evtl. Hauptventil 2 in T-Stellung und Hauptventil 13 in Halb-Position zwischen 2 und T-Stellung um Wasserspiegel in das Sichtrohr steigen zu lassen).

4) Mikrobiologischer Betrieb Vorbereitungen

- Hauptventile 2 und 13 wieder öffnen
- Zugabe des Pufferkonzentrats über Deckelstutzen 14
- Pumpenkammerventil etwa 1 Umdrehung öffnen und 5 Minuten mischen
- Mischung der resuspendierten Bakteriensuspension bei nicht kavitierender Pumpenleistung (Maximal Stufe 3) auch über Deckelstutzen 14 einbringen
- Mischzeit mindestens 10 min
- Schließen des Pumpenkammerventils
- Befüllen des Arbeitskreislaufs:
 - Pumpendrehzahl auf niedrigste Stufe drosseln
 - Unteres Hauptventil 2 in T-Stellung schließen
 - Oberer Hauptventil 13 auf Halb-Position zwischen T-Stellung und Position 2 bringen
 - Langsam noch weiter in Position 2 „schließen“ bis Flüssigkeit in Sichtrohr steigt
 - Gewünschte Füllmenge im Sichtrohr mit oberem Ventil 13 halten
 - Gleichzeitig untere Ventil schnell in Position 1 und oberes Ventil in Position 2 bringen, ohne dass der Füllstand im Sichtrohr abfällt
 - Einstellen der gewünschten Temperatur (Manuell durch zuschalten von Kühler oder Heizbad)

5) Bedienung der ClO₂-Dosierpumpe 6:

- Vorbereitung der Chlordioxidlösung / -Menge
- Falcon-Röhre (15 ml) an Dosierpumpe 6 anschließen (Saugschlauche muss bis in die Spitze des Falcons reichen)
- Drehzahl der Dosier-Pumpe mit Pumpenkennlinie an Versuchsvolumenstrom anpassen
- Entlüften des Dosierschlauches:
 - Pumpendomventil 7 auf „ClO₂-Dosierpumpe“ stellen
 - Starten der Dosierpumpe 6 über externen Schalter
 - Pumpe ausschalten wenn Teflonschlauch bis Pumpendomventil 7 gefüllt ist
 - Pumpendomventil 7 auf „Pumpendom“ stellen

6) Versuchsdurchführung

- Vorbereitung und Durchführung wie in Material Methoden beschrieben, Zusätzlich:

- Eingabe des Dateinamens für die Datenaufzeichnung in LabVIEW
- Gewünschte Pumpenleistung vorbereitend einstellen (an Fernsteuerung der Pumpe)
- Starten der Pumpe 5 und kurz später
- Starten der Datenaufzeichnung (LabVIEW) mit gleichzeitigem
- Start der Dosier-Pumpe 6 für ClO₂-Dosierung (wieder abschalten nach ca. 2 Passagen)
- Entnahme der Proben am Probeventil 18 (jeweils Vorlauf von 3 ml verwerfen) zu gewünschten Zeitpunkten
- Je nach Temperatur Kühler oder Heizung zuschalten
- Nach der letzten Probe, Datenaufzeichnung stoppen und Pumpe drosseln.
- Versuch unter variablen Flussraten (interne Inkubation 1 Passage):
 - o Start des Versuchs wie oben beschrieben
 - o Drosselung der Pumpleistung (zu Stufe 2 der Pumpe) nach der 1. Passage)
 - o Weiter zeitabhängige Probenahme fortführen

7) Entleeren der Anlage nach mikrobiologischen Betrieb:

- Pumpe 5 drosseln auf Minimum und Kammerventil 4 etwa 2 Umdrehungen öffnen
- Biomüll-Flachkanister an Ablaufkupplung 17 anschließen und Ablaufventile 4 und 9 öffnen.
- Ist dies der zweite Versuch dann öffnen der beiden Hauptventile 2 und 13 (Stellung offen)
- Wenn Flüssigkeitsspiegel unter Domniveau sinkt, öffnen der Entlüftung im Pumpen-Domventil 7 (Stellung „Entlüftung / Biomüll“)
- Stoppen der Hauptpumpe 5
- Warten bis Kreislauf nahezu leer ist und Pumpe 2 -3 mal kurz auf Minimum aktivieren und wieder ausschalten
- Druckluftschlauch an Druckluftversorgung anschließen
- Kontrolle der Ventilstellungen der Zuluft (für Kopfraum Vorlaufbehälter)
- Vorsichtig Druckluft öffnen (Entlüftungsventil 15 muss leicht offen stehen)
- Luftstrom nicht bis zum Überlaufen des Biomüll-Kanisters aufdrehen
- Flexible Schlauchverbindung (Nach Probenahme-Ventil bis Kühler) bei Bedarf anheben um „Toträume“ zu vermeiden
- Hauptpumpe 2-3 mal aktivieren und wieder ausschalten
- Druckluft drosseln und dann Kanister abklemmen
- Druckluft ganz abstellen
- Wenn dieser Versuch der erste (von 2 geplanten) war dann:
 - o Schließen beider Ablassventile 4 und 9
 - o Öffnen der beiden Hauptventile
 - o Befüllen der Anlage und Entlüften wie unter 3) beschrieben mit dem Prozedere für 10 L Gesamtvolumen
- Ist Versuch bereits der zweite gewesen, dann folgt die CIP-Reinigung

8) Reinigungszyklus:

- CIP-Reinigung erfolgt mit 2 % Natronlauge (Vorsicht Ätzend!)
- Ankuppeln des Heizbades und Betrieb auf einer Vorlauftemperatur von 70°C (Aufheizen dauert bis zu 1,5 Stunden)
- Schließen der Ablassventile 4 und 9

- Ankoppeln des Natronlaugen-Behälters an Kupplung 16
- Starten der CIP-Pumpe 12 und Anlage füllen bis der Vorlagebehälter (NaOH) leer ist
- Stoppen der CIP-Pumpe 12
- Entlüften der Anlage wie unter 3) Beschrieben
- Hauptventil 2 in T-Stellung und Hauptventil 13 in Position 2 bringen (Spülen des Vorlaufbehälters 1 über Sprühkugel)
- Steigern der Hauptpumpe 5 auf Stufe 5
- Betrieb bis Temperatur der Natronlauge 60 °C erreicht hat
- Spülen der Rohre zwischen den Hauptventilen und des Vorlaufbehälters (ca. 5 min)
- Natronlauge-Behälter an Ablaufkupplung 17 ankuppeln
- Pumpe drosseln und Ablassventile 4 und 9 öffnen
- Entleeren wie unter 7) beschrieben (Druckluft etc.)
- VE-Wasser anschließen wie unter 2) beschrieben
- Füllen und Entlüften der Anlage wie unter 2) und 3) beschrieben
- Die Anlage mit VE-Wasser spülen wie oben für CIP-Reinigung beschrieben
- Anschluss des Abwasser-Schlauchs an Kupplung 17 und entleeren wie oben beschrieben
- Wiederholen der Spülprozedur mit VE-Wasser
- Abschließend längeres „Trocken-blasen“ mit Druckluft

Zum Steuerprogramm LabVIEW:

Die Programmieroberfläche ist nur mit ausreichendem Kenntnisstand in der LabVIEW-Entwicklungsumgebung zu verändern. Hier können die entsprechenden Daten-Eingang, Verarbeitung und Ausgabe definiert werden.

Die Benutzeroberfläche besteht aus Eingabe- und Ausgabe-Modulen. Die Eingabe-Module sind an den Wahlschaltern links neben dem Zahlenwert-Fenster erkennbar. Hier kann die Eingabe durch die Wahlschalter oder durch direktes Anklicken und Zahleneingabe erfolgen.

Das Programm und die Datenerfassung werden durch das Pfeil-Element des Programmfensters aktiviert (oben links in Programmleiste).

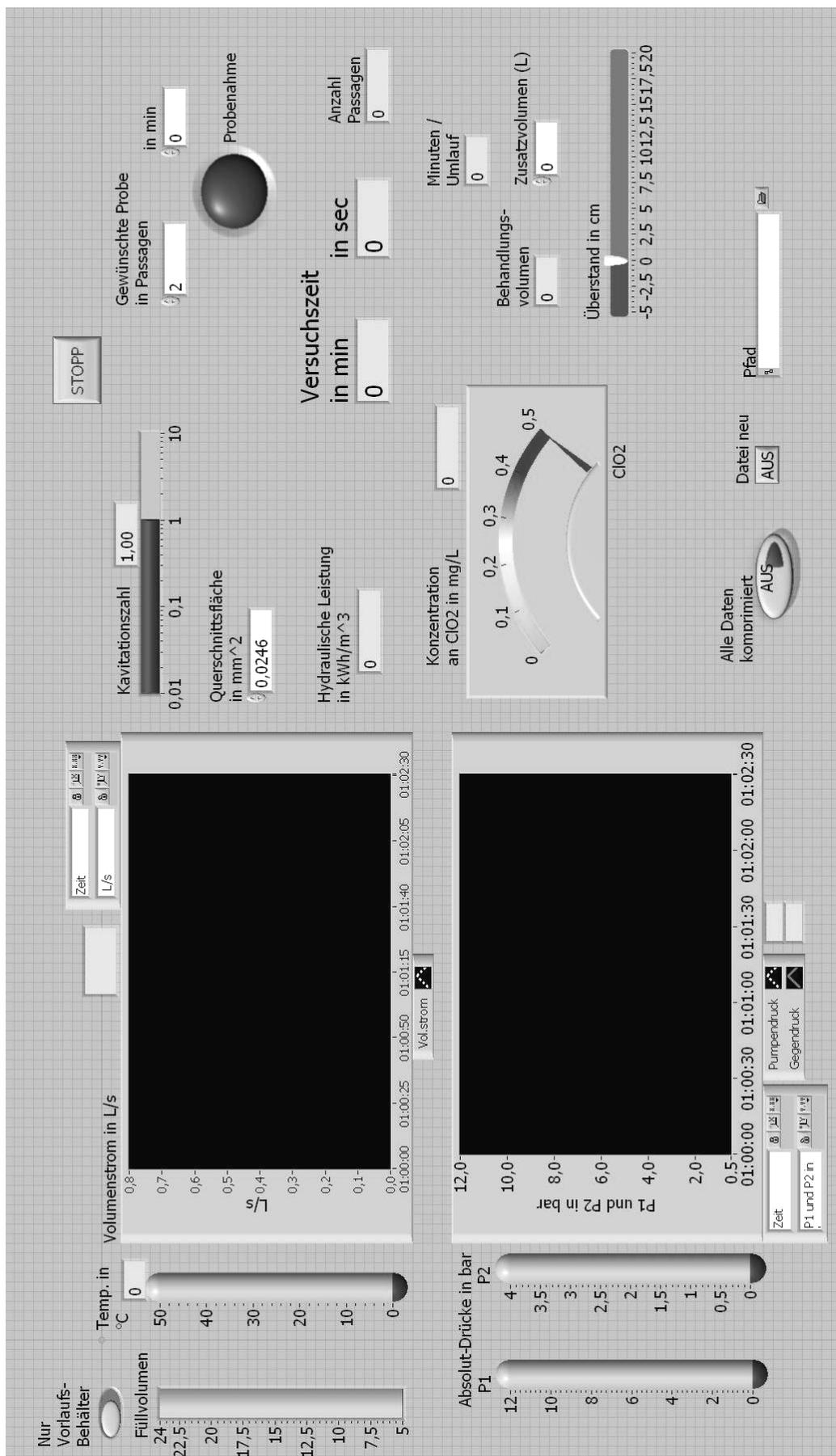
Die Datenaufzeichnung wird durch den Druckknopf „Alle Daten komprimiert aufzeichnen“ gestartet. Es ist eine vorherige Eingabe des Dateinamens erforderlich oder bei Start kommt automatisch die Abfrage nach dem gewünschten Dateinamen.

Die Eingabe „Zusatzvolumen“ dient zur Korrektur des Rohr-Volumens das durch den Kavitationsreaktor oder den Messstrecken zusätzlich entsteht. Der Schieber „Überstand in cm“ dient zur Korrektur des Volumens im Sichtrohr.

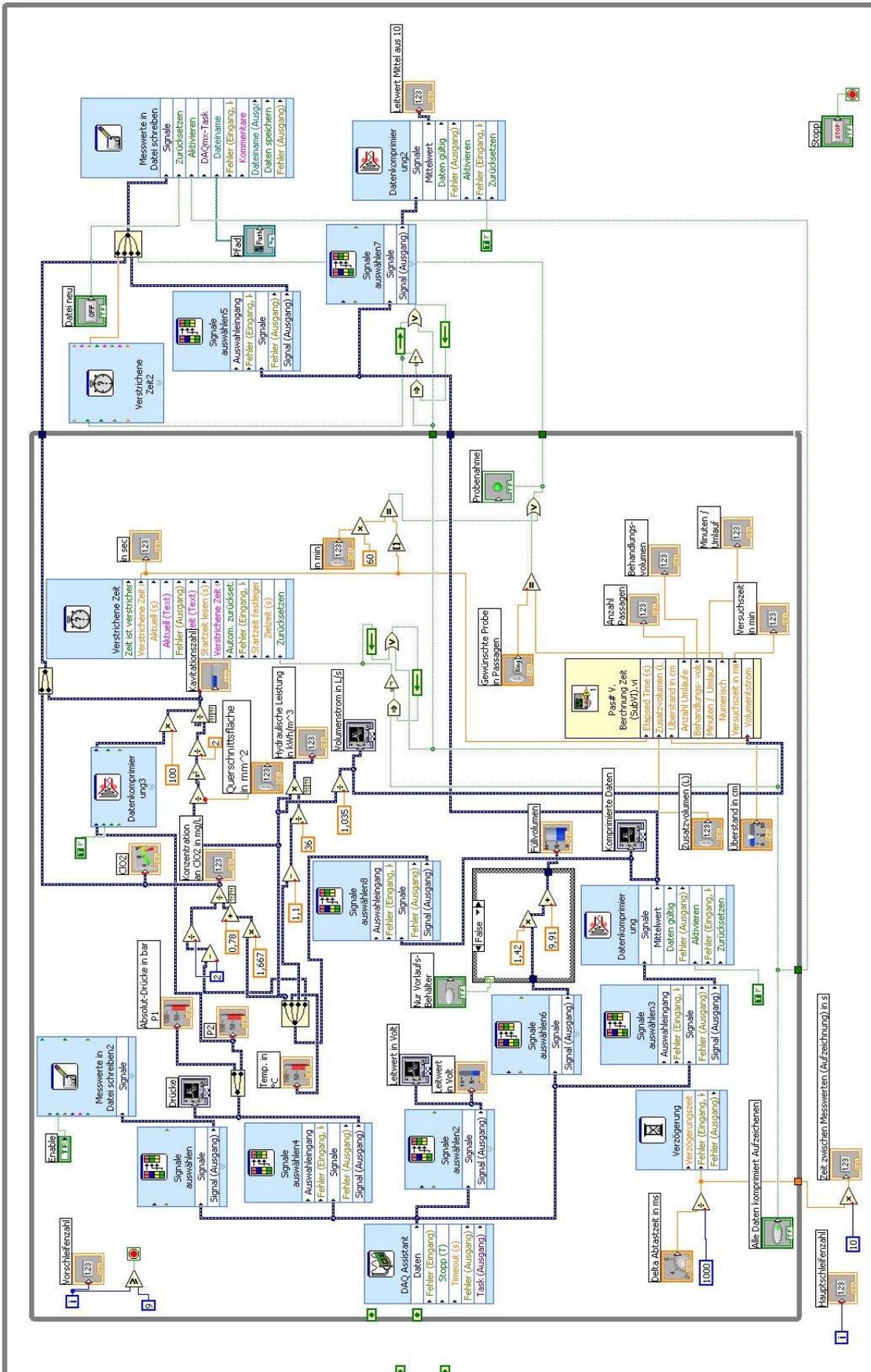
Bei Füllen des Vorlaufbehälters muss die Füllstandssonde noch angepasst werden durch Auswahl „Nur Vorlaufbehälter“ wenn nur ein Versuch gefahren wird.

Bei der Eingabe „Gewünschte Probe in Passagen“ oder „in min“ kann der gewünschte Wert eingegeben werden, bei dem dann die grüne LED als Hilfestellung den Zeitpunkt der Probenahme signalisiert.

Benutzeroberfläche LabVIEW-Programm:



Programmier-Oberfläche LabVIEW-Programm:



10.4. Listen der Geräte, Materialien und Chemikalien

Sonstige verwendete Geräte:

Gerät	Typ / Bezeichnung	Hersteller
Analysenwaage	Explorer E1M213	Ohaus
Autoklav	Systec 5075 ELV	Systec
Bench Top-Zentrifuge	Mikro 20	Hettich
Bio-Zentrifuge	Stratos	Heraeus
Fluoreszenzmikroskop	Axioplan	Zeiss
Heizblock	Thermomixer Komfort mit 1,5 ml und 15 ml Modul	Eppendorf
Inkubationsschrank	Art.Nr.: 9010-0003	Binder
Kugelmühle	MM200	Retsch
Magnet-Rührplatte	Variomag Monotherm	H-P Labortechnik
MTP-Fluoreszenzphotometer	Fluostar Galaxy	Tecan
Multikanalpipette	ePet 1200µl 8-Kanal	Biohit
pH-Meter	CG843	Schott
Photometer 1	BioMate 3	Thermo Spectronic
Photometer 2	Genesys 20	Thermo Spectronic
Pipette, variables Volumen	5 ml	Brand
Pipetten, variables Volumen	20, 200 und 1000 µL	Brand, Eppendorf
Präzisionswaage	Explorer E12145	Ohaus
Repetier-Dispenser	Handy-Step®	Brand
Schüttelinkubator	Multiphor II	Infors AG
Stand-Zentrifuge	Rotixa 50 RS	Hettich
Stand-Zentrifuge	RC5C	DuPont Instruments
Sterilbank	Typ SWB, Klasse I	Waldner Laboreinrichtungen
Vortexer	REAX top	Heidolph

Materialien:

Material	Bezeichnung / Spezifikation	Hersteller
Deckgläser	24x50 mm	Marienfeld Superior
Dispenser-Spitzen	0,5, 2,5, 12,5, 50 ml	VWR
Einwegküvetten	½ Mikro 10 mm	Hartenstein
Falcon-Röhrchen	15 und 50 mL	Nunc

10 Anhänge

Gewinde Flaschen	100, 250, 500 und 1000 ml	Schott Duran / VWR
Glasküvetten	Halb-Mikro, 50 mm, OG	Starna GmbH
Glas-Vials (braun)	Schraubverschluss 4 ml	VWR
Glaswaren / Kleinteile		Schott Duran / VWR / Brand
Immersionsöl	Immersol 518N	Zeiss
Inkubations-Kolben (3-Hals)	120 ml	Schott Duran
Inkubations-Kolben klein	Kulturflaschen 50 und 100 ml	Schott Duran
Kulturkolben	500 und 1000 ml	Schott Duran
Mikrotiterplatte	F-Form 163320	PreSens
Mikrotiterplatte deepwell	96-fach 2,2 ml	VWR
Objektträger	76x26 mm	Roth
Petrischalen	□ 90 mm x 14 mm	VWR
Pipettenspitzen	200 und 1000 µL	Gilson
Pipettenspitzen	5 mL	Brand
Pipettenspitzen, teflonbeschichtet	200 und 1200 µL	Brand / BioHit
Reaktionsgefäße	1,5 und 2 mL	A. Hartenstein
Rührfische	teflonbeschichtet	VWR

Chemikalien:

Bezeichnung	Artikelnummer	Hersteller
2-Mercaptoethanol	115.433	Merck
2-Nitrophenyl-β-D-Galactopyranosid	CN 08.2	Roth
Aceton	9372.3	Roth
Agar	5210.2	Roth
Ampicillin	10 835 242 001	Roche
Calcein-Acetoxymethylester	206700	Calbiochem, Merck
Calciumchlorid-Dihydrat	1.023.820.500	Merck
D(+)-Glucose-Monohydrat	6780.2	Roth
Dikaliumhydrogenphosphat	P749.2	Roth
Dinatriumhydrogenphosphat-Dodecahydrat	T106.2	Roth
Ethanol 96 %	T171.2	Roth
Ethylendiamintetraacetat	X 986.2	Roth
Fluoreszein Diacetat	343209	Calbiochem, Merck
Glycerin	1.591.800.050	Merck

Hefe Extrakt	253-3	Deutsche Hefewerke
Kaliumchlorid	6781.3	Roth
Kaliumdihydrogenphosphat	3904.1	Roth
Kaliumiodid	1.05040.1000	Merck
Laktose	6868.2	Roth
Magnesiumchlorid	1.058.331.000	Merck
Natriumchlorid	3957.1	Roth
Natriumhydroxid	9356.2	Roth
Natriumthiosulfat	CN55.1	Roth
Pepton aus Casein	8986.1	Roth
Pufferlösungen pH 4-7 ± 0,02	P713.1 und A517.1	Roth
Ringertabletten	1.00731.1000	Merck
Salzsäure	CN761	Roth
Schwefelsäure	1.00731.1000	Merck
Stärke (löslich)	0178-17-7	Difco