

# **Wirksamkeit der Elimination von Viren durch Filtrations- verfahren der Trinkwasseraufbereitung**

zur Erlangung des akademischen Grades eines  
DOKTORS DER INGENIEURWISSENSCHAFTEN (Dr.-Ing.)

der Fakultät für Chemieingenieurwesen und Verfahrenstechnik des  
Karlsruher Instituts für Technologie (KIT)

genehmigte  
DISSERTATION

von  
Dipl.-Ing. Katja Kreißel  
aus Rheinzabern

Referent: Prof. Dr.-Ing. Matthias Franzreb

Koreferent: Prof. Dr. Harald Horn

Tag der mündlichen Prüfung: 16.10.2013







## Danksagung

Die vorliegende Dissertation entstand von 2009 bis 2012 am Technologiezentrum Wasser (TZW) Karlsruhe in der Abteilung Mikrobiologie im Rahmen des durch das Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) geförderten Projektes „Wirksamkeit der Elimination von Viren durch Filtrationsverfahren der Trinkwasseraufbereitung“ (02WT0945).

Mein Dank gilt meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr.-Ing. Matthias Franzreb vom Institut für funktionelle Grenzflächen (IFG) für die Unterstützung und die Bereitschaft, diese Arbeit zu betreuen und zu begutachten, was mir die Promotion am Karlsruher Institut für Technologie (KIT) ermöglichte. Die langen Diskussionen und wertvollen Anregungen trugen maßgeblich zum Erfolg der Arbeit bei.

Bei Prof. Dr. Harald Horn bedanke ich mich für die Übernahme des Koreferats.

Ein besonderer Dank gilt Frau Dr.-Ing. Beate Hamsch, die mir die Möglichkeit bot, meine Doktorarbeit am TZW durchzuführen und mir immer mit viel Zeit und Engagement zur Seite stand.

Frau Dr.-Ing. Pia Lipp danke ich für herzliche Zusammenarbeit und die hilfreichen Diskussionen zur Membranfiltration.

Der Abteilung Umwelthygiene des Umweltbundesamts, insbesondere Herrn Dr. Hans-Christoph Selinka und den Damen vom Labor danke ich für die Unterstützung bei der Durchführung der Versuche mit enteralen Viren. Die durchgeführten halbtechnischen Versuche waren nur möglich durch die Unterstützung von Herrn Biwer und seinem Team des Talsperrenwasserwerkes Kleine Kinzig, sowie von Herrn Bludau von den Harzwasserwerken.

Ein herzliches Dankeschön geht an meine Abteilung am TZW. Das angenehme Arbeitsklima und die uneingeschränkte Unterstützung haben diese Arbeit erst möglich gemacht. Insbesondere Frau Monika Bösl war eine unverzichtbare Stütze sowohl bei den labor- als auch bei den aufwendigen halbtechnischen Versuchen. Danke für alles! Auch bei Ornisha Meier-Knapp und Sebastian Blinn möchte ich mich an dieser Stelle nochmals für ihre engagierte Arbeit und Hilfe im Rahmen ihres Praktikums, bzw. ihrer Diplomarbeit bedanken.

Zuletzt möchte ich mich bei meiner Familie bedanken. Danke für die Unterstützung, den Zuspruch und die fachlichen Diskussionen.



## Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurde das Risiko des Vorkommens von Viren im Trinkwasser betrachtet, wobei besonders auf die Eliminationsleistung der partikelabtrennenden Stufen Flockungsfiltration und Ultrafiltration eingegangen wurde. Der Virenrückhalt durch die genannten Aufbereitungsverfahren wurde durch Dosierversuche mit den Bakteriophagen MS2 und phiX174 bestimmt. Dabei wurde der Einfluss einzelner Parametergrößen, wie Flockungsmittelart, -konzentration und Wassertyp für die Flockung und Flächenbelastung, Membranfouling und Wassertyp für die Membranfiltration untersucht. Zusätzlich wurden die zugrundeliegenden Wirkmechanismen der einzelnen Prozesse betrachtet. Zur Bestimmung der Übertragbarkeit der Ergebnisse aus dem Labor dienten Versuche im halbertechnischen Maßstab, zur Übertragbarkeit des Bakteriophagenrückhalts auf den Rückhalt pathogener Viren, Vergleichsversuche mit enteralen Viren. Zur Beurteilung der Viruselimination durch die partikelabtrennende Stufe in der Praxis von deutschen Talsperren und einem Flusswasserwerk wurden Untersuchungen des Rohwasser und des Ablaufes dieser Stufe durchgeführt. Als Parameter wurden die natürlich vorkommenden somatischen und F-spezifischen Bakteriophagen im Wasser herangezogen, wodurch ein späterer Vergleich mit Labor- und halbertechnischen Versuchen möglich war.

Aufgrund der geringen viralen Belastung der Talsperrenwässer konnte die Reduktion natürlicher somatischer und F-spezifischer Coliphagen nicht ermittelt werden. Das untersuchte Flusswasser dagegen wies eine erhöhte Konzentration an Indikatorbakteriophagen auf, sodass für diese eine mittlere Reduktion bei einer Flockungsfiltration von  $1,8 \pm 0,2$  log-Stufen berechnet werden konnte.

Die Eignung von MS2 als Virusindikator bei Flockungsprozessen ist nur eingeschränkt gegeben, da eine starke Inhibierung von MS2 bei einer Flockung mit PACl erkannt wurde. Als Ursache wurden Wechselwirkungen der Bakteriophagenoberfläche mit gelösten hochkationischen PACl-Spezies identifiziert. Diese führten zu einer Blockade des Infektionsweges von MS2, wahrscheinlich durch Schädigung des Reifungsproteins A. Der Bakteriophage phiX174 wird dagegen nicht inaktiviert.

Es wurde gezeigt, dass der Rückhalt von Viren durch Flockung in den Versuchen hauptsächlich auf Schwarmflockungsmechanismen an der Viruspartikeloberfläche beruhte. Im untersuchten Konzentrationsbereich wurde bei höheren Flockungsmittelkonzentrationen und dem Einsatz von Pachi ein höherer Virenrückhalt als bei Einsatz von  $\text{FeCl}_3$  ermittelt. Die Mechanismen ähneln denen der Elimination von natürlichem organischem Material (NOM), wobei eine Parallelität der Eliminationsleistungen bezüglich NOM- und Virusent-

fernung in Abhängigkeit vom Flockungs-pH-Wert erkannt wurde. Bei pH-Werten von 5 – 6 wurden mit  $\text{FeCl}_3$  die höchsten Rückhalte gemessen. Der Einschluss der Bakteriophagen zu Beginn der Flockenbildung wurde in unbehandelten Oberflächenwässern durch die Anwesenheit von kolloidalem NOM aufgrund von Brückenbildung und Anlagerungseffekten verbessert. Wässer mit einer hohen spezifischen Absorption (SAK-254/DOC-Verhältnis) zeigen den höchsten Phagenrückhalt. Als wesentlicher Einflussfaktor ist zudem die Flockungsmittelkonzentration anzusehen. Die von der WHO (WHO 2011) angegebene Größenordnung von 0,15 – 0,52 log-Stufen für den Virenrückhalt durch Flockung mit anschließender Sedimentation wurde für niedrige Flockungsmittelkonzentrationen erreicht, die auch bei der konventionellen Flockung zum Einsatz kommen. Ab einer Flockungsmitteldosierung von 5 mg/L  $\text{FeCl}_3$  und PACl konnten für MS2 Rückhalte >0,5 log-Stufen beobachtet werden, mit einem Maximum von >4,0 log-Stufen Rückhalt in unbehandeltem Oberflächenwasser bei einer Flockungsmitteldosierung von 10 mg/L. phiX174 wurde in vielen Versuchen schlechter als MS2 zurückgehalten. So konnte mit einer Dosierung von 5 mg/L  $\text{FeCl}_3$  und PACl nur ein Rückhalt von 0,3 – 0,5 log-Stufen für  $\text{FeCl}_3$  und ein Rückhalt von 0,3 – 3,0 log-Stufen für PACl erzielt werden. Maximaler Rückhalt waren 3,5 log-Stufen mit 10 mgAl/L PACl. Eine großtechnische Flockungsanlage erreichte mit 7 mgFe/L einen Rückhalt natürlicher somatischer Coliphagen von  $1,8 \pm 0,2$  log-Stufen. Es konnte gezeigt werden, dass eine Übertragung der Versuchsergebnisse aus dem Labor auf den halbtechnischen Maßstab möglich ist und die Bakteriophagen als konservative Surrogate für HAdV2 und MNV geeignet sind. Der Rückhalt dieser enteralen Viren war vergleichbar oder höher als der Rückhalt der gewählten Bakteriophagen.

Die für eine Ultrafiltration geforderten 4 log-Stufen Rückhalt (T. K. DVGW 2006) wurden nur bei Wässern mit erhöhtem Foulingpotential gemessen, in sauberen Wässern schwankte der Rückhalt der Bakteriophagen stark und lag oft unter einer log-Stufe. Dabei zeigte sich ebenfalls der Einfluss von kolloidalem NOM. Bei Wässern mit hoher spezifischer Absorption von SAK-254/DOC >3 wurde auch ein gutes Rückhalteergebnis erzielt. In Wässern mit einer geringeren spezifischen Absorption von SAK-254/DOC <2 lagen die ermittelten Rückhalte deutlich niedriger. In den unbehandelten Oberflächenwässern mit einem hohen Anteil an hochmolekularen organischen Stoffen wurden in labor-, halb- und großtechnischen Versuchsmaßstäben zumeist Rückhalte >4 log-Stufen für MS2 und phiX174 ermittelt. In aufbereiteten Grundwässern mit einem deutlich niedermolekularen Organikanteil wurde eine breitere Streuung der Ergebnisse ermittelt. Die Rückhalte schwankten bei diesen Wässern stark zwischen den labor-, halb und großtechnischen Versuchsreihen. Während mit den Labormembranmodulen Rückhalte von 2,5 – 3,0 log-Stufen für MS2 und phiX174 erzielt wurden, lag der Rückhalt von MS2 und phiX174 im halbtechnischen Maßstab nur bei 1,3 log-Stufen. An einer großtechnischen Versuchsan-



lage mit Membranen eines anderen Herstellers wurde für das Wasser mit niedrigem Foulingpotential lediglich ein Rückhalt von 0,5 log-Stufen für beide Phagen ermittelt.

Während die Unterschiede zwischen den einzelnen Membranmodulen in den Wässern mit hohem Foulingpotential nicht sichtbar waren, da sie durch die Deckschichtbildung überlagert wurden, fiel bei den Wässern mit niedrigem Foulingpotential eine deutliche Unterscheidung der einzelnen Membranmodule auf, welcher auf die Modulverarbeitung zurückgeführt werden konnte. Es wurde gezeigt, dass insbesondere die Membranverklebung, das Modulpotting, einen großen Einfluss auf die Rückhalteleistung der Membranmodule hat. Bei einer verbesserten Aufnahme des Pottingharzes durch höhere Pottingtemperaturen und modifizierte Stützsichten wurden höhere Rückhalte erzielt.

Eine weitere Charakterisierung der Membrantrenngrenzen erfolgte durch Quantifizierung und Charakterisierung der Partikelkonzentration im Wasser durch den Einsatz der Laserinduzierten Breakdown-Detektion (LIBD). Neben der Dosierung von Bakteriophagen wurden auch Latexpartikeln mit einem Durchmesser von 10 – 100 nm eingesetzt. Der Nachweis von Polystyrolpartikeln gelang mittels LIBD. Verdünnungskurven von 20 und 30 nm Partikeln von  $2 \cdot 10^9$  /mL bis  $2 \cdot 10^5$  /mL, bzw.  $2 \cdot 10^4$  /mL zeigten den in der Literatur beschriebenen sigmoidalen Verlauf. Der Nachweis der Bakteriophagen konnte nur in hohen Konzentrationen (Nachweisgrenze für MS2  $1 \cdot 10^7$  PFU/mL, für phiX174  $1 \cdot 10^4$  PFU/mL) mit speziell aufgereinigten Viruslösungen erreicht werden. Reste des Nährmediums, welche sich nach der Aufreinigung über 1.000 kDa-, 100 kDa- und 30 kDa-Filtration immer noch in der Bakteriophagenlösung befanden, verursachten ein starkes Hintergrundsignal, sodass bei allen Phagenmessungen mittels LIBD aufgereinigtes Medium ohne Bakteriophagen als Blindprobe mitgemessen werden musste. Der messbare Konzentrationsbereich für die beiden Bakteriophagen war für die Vermessung von natürlichen Proben ungeeignet, da in diesen die Viruskonzentrationen oft deutlich unter  $10^4$  /mL liegen. Auch bei den Dosierversuchen zur Bestimmung der Membrantrenngrenzen war der Einsatz der LIBD zur Bestimmung der Bakteriophagenkonzentration nicht sinnvoll, da die Konzentrationen nach den UF-Membranen immer deutlich unter der Nachweisgrenze lagen. Der Rückhalt von Polystyrolpartikeln in Membranrückhaltetests konnte jedoch mittels LIBD erfasst werden. Aufgrund der verschiedenen vorhandenen Größen der Polystyrolpartikeln war es möglich, für zwei Membranmodule eine Trennkurve zu ermitteln.

## Abstract

In the present study the risk of occurrence of viruses in portable water was studied, with focus on the elimination potential of the process steps for particle removal flocculation filtration and ultrafiltration. The retention of viruses by the mentioned process steps was determined by challenge tests with the bacteriophages MS2 and phiX174. The influence of parameters like flocculant choice and concentration and water type for flocculation and flux, membrane fouling and water type for membrane filtration were examined. Additionally the studies focused on the mechanisms of elimination during the different processes

To evaluate the transferability of the results from lab-scale experiments, semi-technical experiments and tests with technical applications were performed, as well as comparative tests with enteric viruses. As the necessary treatment performance for a water treatment processes is dependent of raw water quality, additional sampling was performed to evaluate the removal of naturally occurring bacteriophages in water treatment plants with reservoir and river water as source for drinking water production.

Because of low viral contamination a reduction of naturally occurring somatic and F-specific coliphages in reservoir water could not be determined. River water on the contrary showed a higher concentration of indicator bacteriophages. By this a  $1.8 \pm 0.2$  log-step reduction of phages in a flocculation filtration step could be observed.

The applicability of MS2 as virus surrogate in flocculation processes is only partly given. A strong inhibition of MS2 during flocculation with PACl was observed, basing on interactions between bacteriophage surface and the dissolved highly cationic PACl-species. These interactions lead to an inhibition of the F-specific infection way, presumably because of damage of the maturation protein A. phiX174 was not inhibited.

It was shown that the removal of viruses by flocculation in the experiments is mainly dominated by sweep flocculation mechanisms. With the examined flocculant concentrations a higher removal was observed for high flocculant concentrations and for the application of PACl compared to  $\text{FeCl}_3$ . The mechanisms are comparable to the ones of natural organic matter (NOM) removal, with parallelism of removal efficiencies for NOM and virus removal. Highest removal was observed for  $\text{FeCl}_3$  at pH 5 – 6. The entrapment of the bacteriophages at the beginning of floc forming is improved in natural surfaces waters by the presence of colloidal NOM due to bridge forming and adsorption effects.

Water types with a higher specific UV absorption (UV-254/DOC ratio) showed the highest bacteriophage removal. The range of virus removal expected by WHO (WHO 2011) for flocculation combined with sedimentation of 0.15 to 0.52 log-steps was achieved for low flocculation concentrations, which are typical for conventional flocculation processes in drinking water treatment. With a dosing of more than 5 mg/l FeCl<sub>3</sub> or PACl flocculant a reduction of MS2-concentration of >0.5 log-steps was observed, with a maximum of >4.0 log-steps in untreated surface water with a flocculant dosing of 10 mg/L. phiX174 was in most experiments removed to a lower extent. By dosing 5 mg/L FeCl<sub>3</sub> and PACl only a removal of 0.3 – 0.5 log-steps for FeCl<sub>3</sub> and a removal of 0.3 – 3.0 log-steps for PACl was achieved. Maximum removal was 3.5 log-steps with 10 mgAl/L PACl. A technical scale flocculation process achieved for natural somatic coliphages a removal of 1.8±0.2 log-steps with 7 mgFe/L FeCl<sub>3</sub> for natural somatic coliphages. The transferability of results from lab-scale experiments to semi-technical applications was accomplished and the applicability of the bacteriophages MS2 and phiX174 as conservative surrogates for HAdV2 and MNV. The removal of enteric viruses was comparable to the removal of the bacteriophages of higher.

For ultrafiltration a log-removal of 4 log-steps (T. K. DVGW 2006) was only achieved for waters with high fouling potential, in cleaner waters the removal was not constant and was often determined to be less than one log-step. Like for flocculation a strong influence of colloidal NOM was observed. For waters with a high specific absorption of UV(254)/DOC >3 good virus removal was yielded. For waters with a minor specific absorption of UV(254)/DOC < 2 the removal was clearly reduced. In untreated water types with a high content of high molecular weight organic substances a removal >4 log-steps for MS2 and phiX174 was achieved in lab-, semi-technical and technical scale. In treated groundwaters with a low molecular weight organic content a wider distribution of results was observed. The bacteriophage removal deviated between lab-, semi-technical and technical scale. While a removal of 2.5 – 3.0 log-steps was achieved for MS2 and phiX174 with lab-scale membrane modules, the removal of MS2 and phiX174 was only 1.3 log-steps in semi-technical scale experiments. With a technical scale pilot plant with membranes from a different manufacturer only a 0.5 log-step removal was observed in water with a low fouling potential.

While differences between single membrane modules were masked in water types with a high fouling potential, a clear differentiation between the membrane modules could be observed in water types with a low fouling potential. These differences were identified as a result of differing module fabrication. It could be shown that especially the membrane potting had a strong influence on removal performance of single membrane modules. With an

improved potting resin intake, due to higher potting temperatures and a modified supporting layer of the membranes, the highest removal was achieved.

Further characterization of membrane separation curves was achieved with quantification and characterization of the water particle content by Laser-Induced Breakdown-Detection (LIBD). Besides dosage of bacteriophages polystyrene particles with a diameter of 10 – 100 nm were used. The detection of polystyrene particles was successful with LIBD. Dilution curves showed for 20 and 30 nm particles within the range of  $2 \cdot 10^9$  /mL to  $2 \cdot 10^5$  /mL and  $2 \cdot 10^4$  /mL, respectively showed the sigmoidal distribution described in literature. The detection of bacteriophages was achieved only in high concentrations (detection limit for MS2  $1 \cdot 10^7$  PFU/mL, for phiX174  $1 \cdot 10^4$  PFU/mL) with a specially purified virus solution. Remaining components of the culture media, which were still present after purification with 1.000 kDa-, 100 kDa- and 30 kDa-filtration, resulted in a strong background signal. By this, for every bacteriophage detection with LIBD a specially purified culture media without bacteriophages included had to be measured as blank. The measurable concentration range for both bacteriophages was not suitable for determinations of natural samples as the concentrations in such water samples is usually less than  $10^4$  /mL. But also for spiking-tests with bacteriophages for determination of membrane separation curves the use of LIBD for phage concentration detection was not reasonable as the concentration of bacteriophages in the filtrate of an ultrafiltration is significantly lower than the detection limit of LIBD. The removal of polystyrene particles in membrane performance tests was successfully measured with LIBD. By using different available polystyrene radii the separation curve of two membrane modules could be determined.

# Inhaltsverzeichnis

<b>Danksagung.....</b>	<b>i</b>
<b>Zusammenfassung.....</b>	<b>iii</b>
<b>Abstract.....</b>	<b>vi</b>
<b>Inhaltsverzeichnis .....</b>	<b>ix</b>
<b>1 Einleitung und Zielsetzung .....</b>	<b>1</b>
<b>2 Theoretische Grundlagen .....</b>	<b>3</b>
<b>2.1 Wasserbürtige Viren.....</b>	<b>3</b>
2.1.1 Vorkommen und Verbreitung .....	3
2.1.2 Risikoabschätzung .....	4
<b>2.2 Bakteriophagen als Virusindikatoren.....</b>	<b>7</b>
2.2.1 Eigenschaften von MS2, Q $\beta$ und phiX174 .....	7
2.2.2 Verhalten in der Trinkwasseraufbereitung.....	10
<b>2.3 Flockungsfiltration .....</b>	<b>12</b>
2.3.1 Verfahren.....	12
2.3.2 Chemische Vorgänge .....	14
<b>2.4 Ultrafiltration .....</b>	<b>19</b>
2.4.1 Verfahren.....	19
2.4.2 Integritätsnachweis im nanoskaligen Bereich .....	24
<b>3 Material und Methoden.....</b>	<b>25</b>
<b>3.1 Eingesetzte Bakteriophagen.....</b>	<b>25</b>
<b>3.2 Herstellung der Bakteriophagenlösungen .....</b>	<b>25</b>
3.2.1 Anzucht und Kontrolle der Wirtsstämmen .....	25
3.2.2 Herstellung der Bakteriophagen-Stammkulturen .....	26
<b>3.3 Etablierung des PCR-Nachweises der Bakteriophagen.....</b>	<b>27</b>
3.3.1 Primerauswahl.....	27
3.3.2 Standardherstellung .....	29
<b>3.4 Quantitative Bakteriophagenbestimmung .....</b>	<b>34</b>
3.4.1 Kulturverfahren .....	34
3.4.2 Quantitative PCR.....	35

<b>3.5</b>	<b>Charakterisierung der Bakteriophagen mittels dynam. Lichtstreuung.....</b>	<b>40</b>
<b>3.6</b>	<b>Nachweis von Nanopartikeln und Bakteriophagen mittels LIBD.....</b>	<b>41</b>
3.6.1	Aufbau .....	41
3.6.2	Energiekurven .....	42
3.6.3	Berechnung der Konzentration aus den Messwerten .....	43
3.6.4	Eingesetzte Polystyrolpartikeln und Durchführung der Messungen .....	45
<b>3.7</b>	<b>Eingesetzte Wässer für labor- und halbtechnische Versuche.....</b>	<b>46</b>
<b>3.8</b>	<b>Flockungsversuche .....</b>	<b>46</b>
3.8.1	Laborversuche.....	46
3.8.2	Halbtechnische Versuche.....	49
<b>3.9</b>	<b>Membranversuche .....</b>	<b>52</b>
3.9.1	Laborversuche.....	52
3.9.2	Halbtechnische Versuche.....	55
<b>4</b>	<b><i>Ergebnisse und Diskussion.....</i></b>	<b>60</b>
<b>4.1</b>	<b>Rückhalt von Bakteriophagen in großtechnische Oberflächenwasserwerken .....</b>	<b>60</b>
<b>4.2</b>	<b>Flockungsfiltration .....</b>	<b>62</b>
4.2.1	Einfluss der Flockungsbedingungen auf Bakteriophagen.....	62
4.2.2	Labor- und halbtechnische Flockungsversuche .....	72
4.2.3	Flockungsmechanismen.....	84
4.2.4	Vergleich des Rückhalts von Bakteriophagen und enteraler Viren.....	87
4.2.5	Erkenntnisse und Schlussfolgerungen der Flockungsversuche.....	90
<b>4.3</b>	<b>Ultrafiltration .....</b>	<b>91</b>
4.3.1	Labor- und halbtechnische Membranversuche .....	91
4.3.2	Filtrationsmechanismen.....	101
4.3.3	Vergleich mit dem Verhalten enteraler Viren .....	105
4.3.4	LIBD-Messungen als Ersatzparameter .....	106
4.3.5	Erkenntnisse und Schlussfolgerungen der UF-Versuche .....	113
<b>5</b>	<b><i>Fazit und Ausblick.....</i></b>	<b>115</b>
<b>6</b>	<b><i>Literaturverzeichnis.....</i></b>	<b>118</b>
<b>7</b>	<b><i>Formelzeichen und Symbole .....</i></b>	<b>129</b>
<b>8</b>	<b><i>Anhang .....</i></b>	<b>133</b>

## 1 Einleitung und Zielsetzung

Nach § 5 (1) der Trinkwasserverordnung (TrinkwV 2001) dürfen „*im Wasser für den menschlichen Gebrauch [...] Krankheitserreger im Sinne des § 2 Nr. 1 des Infektionsschutzgesetzes nicht in Konzentrationen enthalten sein, die eine Schädigung der menschlichen Gesundheit besorgen lassen.*“

Gerade für Viren, die zum Teil ein hohes Infektionsrisiko aufweisen, kann diese Anforderung nicht immer durch die Abwesenheit von Fäkalindikatoren und auch nicht durch Messungen von Viren im Trinkwasser sichergestellt werden. Die minimale Infektionsdosis von Rotaviren z.B. liegt bei 1 – 10 Viruspartikeln (Graham, Dufour und Estes 1987). Wird hierbei das durch die WHO (WHO 2011) nach dem DALY-Konzept (Disease Adjusted Life Years) vorgeschlagene akzeptierbare Erkrankungsrisiko zugrunde gelegt, so ergäbe sich ein Untersuchungsvolumen von 32 m<sup>3</sup>, das frei von Viren sein müsste. Eine so niedrige Konzentration an Viruspartikeln kann selbst beim Einsatz von Aufkonzentrierungsverfahren nicht routinemäßig kontrolliert werden. Deshalb kann man nur die Risikoabschätzung anwenden, um das Vorkommen von Viren im Trinkwasser beschreiben zu können. Dazu sind neben Kenntnissen über die Belastung des Rohwassers, das zur Trinkwassergewinnung genutzt wird, auch Kenntnisse über die Eliminationsleistungen der Aufbereitungsverfahren notwendig.

Im Rahmen des BMBF-Verbundvorhabens „Wirksamkeit der Elimination von Viren durch Filtrationsverfahren der Trinkwasseraufbereitung“ sollte die Entfernung von Viren bei der Membranfiltration, Flockungsfiltration und der Langsandsand-/Uferfiltration untersucht werden, um eine Bewertung des Risikos des Vorkommens von Viren im Trinkwasser zu ermöglichen. Im Teilprojekt II: „Ermittlung der Eliminationsleistung von Flockungsverfahren und Ultrafiltrationsverfahren“ (02WT0945) wurde die Eliminationseffizienz der im Wasserwerk genutzten partikelabtrennenden Stufen untersucht. Die Arbeiten mit Ultrafiltration und Flockungsfiltration unter realitätsnahen Bedingungen sollten der Praxis eine Informationsgrundlage für das Risiko des Vorkommens von Viren im Trinkwasser bereitstellen. Die Erkenntnisse des Vorhabens sollten eine bessere Bewertung der Notwendigkeit einer Desinfektion ermöglichen.

Zum einen sollte die mögliche Rohwasserbelastung durch Viren in zur Trinkwassergewinnung genutzten Talsperren durch die Messung der Konzentrationen an F-spezifischen und somatischen Coliphagen geprüft werden. Außerdem war zu prüfen, ob die Eliminationsleistung der partikelabtrennenden Stufen in der Talsperrenwasseraufbereitung durch Messung der natürlichen Bakteriophagenkonzentration vor und nach der Stufe zu charakterisieren war. Zusätzlich wurde die Aufbereitungsleistung einer Flockungsfiltration in einem Flusswasserwerk mit diesen Parametern beschrieben, um die Elimination von Bakteriophagen im großtechnischen Maßstab zu charakterisieren.

Um eine Abschätzung der Eliminationsleistungen in Abhängigkeit von Betriebsbedingungen und -zuständen der Aufbereitungsverfahren zu ermöglichen, waren zunächst Laborversuche durchzuführen. Dabei sollten Bakteriophagen als Modellorganismen in hohen Konzentrationen zudosiert werden, um genaue Aussagen über die Größenordnungen der Rückhalteleistungen zu erlangen. Diese Viren ähneln in Bezug auf Oberflächeneigenschaften und Größe humanpathogenen Viren wie z. B. Noroviren. Im Rahmen der Laborversuche sollten, nachdem die Nachweismethoden etabliert und angepasst wurden, Rückhalte bestimmt und dabei auftretende Effekte beobachtet werden. Für die Flockungstechnologie waren Flockungsmittelart, -konzentration, Flockenbildungszeit, pH-Wert etc. und für die Membrantechnologie Flächenbelastung, Transmembrandruck, pH-Wert etc., zu variieren. Nachdem konservative Bedingungen überprüft wurden, sollten auch Extrema getestet werden, um die Grenzen der Aufbereitungsverfahren bezüglich des Virenrückhaltes auszuloten. Zudem waren Vergleichsversuche mit humanpathogenen Viren vorgesehen, um die Übertragbarkeit der Ergebnisse, die für Bakteriophagen erzielt wurden, zu zeigen. In einem nächsten Schritt sollten die Erkenntnisse auf halbtechnische und großtechnische Versuche übertragen werden, um die Gültigkeit für praktische Größenordnungen zu überprüfen. Diese halb- und großtechnischen Flockungs- und Membrananlagen sollten in verschiedenen Wasserwerken betrieben werden, um den Einfluss der Rohwasserqualität zu untersuchen.

Ein weiterer Aufgabenbereich war die Anwendung der Laser-Induzierten Breakdown-Detektion (LIBD) zur Quantifizierung von Nanopartikeln. Es war zu prüfen, ob die Detektion von organischen Partikeln wie Viren mit dieser Messmethode möglich ist. Darüber hinaus sollte damit der Rückhalt von Ultrafiltrationsmembranen charakterisiert werden, wobei neben den Bakteriophagen MS2 und phiX174 auch Polystyrol-Partikeln eingesetzt werden sollten.



## 2 Theoretische Grundlagen

### 2.1 Wasserbürtige Viren

#### 2.1.1 Vorkommen und Verbreitung

Wasser als möglicher Übertragungsweg von Virusinfektionen ist seit langem bekannt und wurde nach dem zweiten Weltkrieg zum ersten Mal durch die Isolierung von Polioviren aus dem Hudson River (New York) belegt (Botzenhart und Fleischer 2009). Eine der weltweit am häufigsten auftretenden Krankheiten mit großen Epidemien mit über 1.000 Erkrankten, die durch Wasser übertragen wird, ist wohl Hepatitis (WHO 2011). Während Hepatitis A-Infektionen oft durch den Verzehr von verseuchten Muscheln hervorgerufen wurde, sind die Epidemien durch Hepatitis E-Viren, welche auch durch Schweine ausgeschieden werden, meist auf abwasserkontaminiertes Trinkwasser zurückzuführen. Auch eine Chlorung reichte oft nicht aus, die Viren zu inaktivieren. Hepatitis E-Epidemien traten bisher immer in Südostasien auf (Botzenhart 2007). In Europa sind aus epidemiologischer Sicht Vertreter der Familie der Caliciviren wie Noroviren von Bedeutung (RKI 2004). Sie verursachen Gastroenteritis, deren Ausbreitung aufgrund der Verbreitung durch Trinkwasser in einigen wenigen Fällen nachgewiesen werden konnte. So sind z. B. Ausbrüche in Sachsen 2004 (Botzenhart 2007), in Neuveville (Schweiz) 1998 (Maurer und Störchler 2000), sowie mehrere Ausbrüche in Finnland beschrieben (Lahti und Hiisvirta 1995). In Deutschland und der Schweiz waren schwerwiegende Defekte in der Aufbereitung verantwortlich, die zu einer starken Abwasserkontamination des zur Trinkwasseraufbereitung verwendeten Rohwassers und zu einer nicht ausreichenden Desinfektion führten. Defekte in der Aufbereitung in Zusammenhang mit starker fäkaler Belastung und nicht nach dem Stand der Technik betriebenen Anlagen sind der häufigste Grund für den Durchbruch von Viren in das Trinkwasserverteilungsnetz, in Konzentrationen, die Infektionen und Erkrankungen nach sich ziehen (Westrell, Bergstedt und Stenström 2003).

Noroviren können in Abwasser- und Oberflächenwässern ganzjährig nachgewiesen werden, überwiegend jedoch in erhöhten Konzentrationen zwischen Oktober und März (Botzenhart und Fleischer 2009). Zu den Noroviren, wie auch den Rotaviren muss angemerkt werden, dass auch ein hohes Infektionsrisiko über Tröpfchen- und Schmierinfektion gegeben ist, sodass nicht alle Epidemien an Durchfallerkrankungen auf die Übertragung durch Trinkwasser zurückzuführen sind.

Weitere Viren, die häufig in Rohwässern auftreten, sind Adenoviren und Enteroviren, wobei die hervorgerufenen Erkrankungen sowohl Darmtrakt, als auch obere Luftwege und Schleimhäute betreffen (Botzenhart 2007). Es gibt jedoch auch dokumentierte Ausbrüche

von Bindehautentzündung durch das Schwimmen in Schwimmbädern, welche durch Typen des Adenovirus ausgelöst worden sind (Crabtree, et al. 1997) (Papapetropoulou und Vantarakis 1998), wobei hier die erhöhte UV- und Chlorresistenz der Adenoviren im Vergleich zu Enteroviren sicherlich eine wichtige Rolle spielte (Van Heerden, et al. 2003).

Der Eintrag von Viren in zur Trinkwassergewinnung genutzte Rohwässer erfolgt wie bereits dargelegt immer über die Kontamination durch Abwasser. Viren gelangen über die Ausscheidungen von Infizierten in das Abwasser, wobei die Konzentrationen in Größenordnungen von 1 bis zu 10.000 infektiösen Viruspartikeln pro Liter liegen kann (Botzenhart 2007). Kläranlagenablauf beinhaltet immer noch eine hohe Anzahl an Viren, obwohl die Elimination in der Kläranlage bei 60% - 99,999% liegen kann (Safferman und Morris 1976) (Zhang und Farahbakhsh 2007).

Die Persistenz der hier angeführten Viren in Wasser ist relativ hoch und kann Monate oder Jahre betragen. Grund hierfür ist das Fehlen einer Lipidhülle, wodurch die Viren wenig empfindlich gegenüber Umwelteinflüssen sind (Modrow und Falke 1997).

### **2.1.2 Risikoabschätzung**

Um eine Infektionen durch Viren auszulösen wird meistens nur eine sehr geringe Infektionsdosis (MID) benötigt. Das gilt auch für Viren, die in das Wasser (Trinkwasser, Badegewässer etc.) gelangen. Aber nicht alle Viren, die in das Wasser gelangen, führen zu einer Gefährdung des Menschen, da die Konzentrationen an humanen Viren in der Regel äußerst gering sind. Kenntnisse über die MID, welche immer mit der Wahrscheinlichkeit einer Erkrankung verknüpft ist ( $MID_{50}$  entspricht der Viruskonzentration bei der bei 50% der Exponierten eine Erkrankung auftritt), sind daher essentiell für eine quantitative Risikoabschätzung.

Die Bestimmung der MID ist schwierig, da dazu Versuche mit Menschen notwendig wären. So ist die Datenlage recht dünn und die Bestimmung des aus der MID resultierenden Risikos schwierig, da die Konzentrationen im Trinkwasser bei sehr geringen Dosen von oft weniger als einem Virus pro Exponiertem liegt (Bratby 2006). Eine Infektion durch das enterale Poliovirus kann durch 10 – 100 (Taylor, et al. 2010), eine Erkrankung durch Rotaviren schon durch 1 – 10 Viruspartikel ausgelöst werden (Graham, Dufour und Estes 1987) (Ward, et al. 1986).

Verschiedene Ansätze der Risikoabschätzung definieren das akzeptable Risiko einer Infektion mit Viren über das Trinkwasser. Die Surface Water Rule der USA legt den Berechnungen die Überlegung zugrunde, dass eine Infektion pro 10.000 Konsumenten pro

Jahr bei einer durchschnittlichen Aufnahme von 2 L Trinkwasser akzeptabel ist (Schmoll, et al. 2012). Der Ansatz der WHO (WHO 2011) legt sogenannte Disease Adjusted Life Years (DALY) fest, welche neben der Häufigkeit der Infektionen auch Faktoren wie die Schwere der Erkrankung mit einbezieht (Schmoll, et al. 2012). Zusammen mit der bekannten MID eines Virus kann die Erregerkonzentration im Wasser berechnet werden, die unterhalb einer vertretbaren Gesundheitsschädigung liegt (vertretbares Bezugsrisiko) und eine trinkwasserbedingte Infektion sehr unwahrscheinlich werden lässt. Nach WHO-Berechnungen (Schmoll, et al. 2012) ergibt sich für Rotaviren die Anforderung von 32 m<sup>3</sup> Trinkwasser frei von Viruspartikeln gemäß dem DALY-Konzept und umgerechnet 4500 m<sup>3</sup> frei von Viruspartikeln auf der Grundlage von einer Erkrankung unter 10.000 Exponierten. Diese Anforderungen können aufgrund der extrem großen theoretisch zu untersuchenden Volumina durch eine Endproduktkontrolle des Wassers nicht direkt überprüft werden.

Zur Quantifizierung des Risikos wird deshalb auf die Risikoabschätzung zurückgegriffen (Teunis, et al. 2009) (Gregory, Jia und Williams 1998) (Broyles, O'Connell und Korniewicz 2002). Es werden die Viruskonzentrationen im Rohwasser und die Eliminierungsleistung der einzelnen Aufbereitungsschritte ermittelt. Aus diesen Werten kann dann für verschiedene Viren die theoretische Konzentration im Trinkwasser berechnet und mit dem akzeptablen Risiko verglichen werden. Sollte sich so eine ungenügende Aufbereitungsleistung für ein Wasserwerk ergeben, müssen Maßnahmen ergriffen und die Leistung der einzelnen Schritte verbessert oder weitere Aufbereitungsmaßnahmen mit eingebunden werden.

Die Konzentrationen an Viren in Rohwässern die zur Trinkwassergewinnung genutzt werden sind sehr unterschiedlich und schwanken zudem saisonal. Grundwässer sind aufgrund der natürlichen Filterwirkung des Bodens sehr gut geschützt. Viren werden durch verschiedene Vorgänge in der Bodenpassage wie Adsorption und Inaktivierung zurückgehalten oder eliminiert, sodass nach ausreichender Bodenpassage im Grundwasser praktisch keine Viren mehr nachzuweisen sind (Bundschuh, Wagner, et al. 2005) (Syngouna und Chrysikopoulos 2010) (Wagner 2005). In Oberflächenwässern wurden von verschiedenen Studien Viruskonzentrationen meistens zwischen 0 – 300 Viruspartikel pro Liter nachgewiesen. In einer Studie (Fleischer und Hamsch 2007) wurde das Vorkommen verschiedener Viren, wie Rota-, Noro-, Adeno-, und Enteroviren in Oberflächenwässern untersucht. Es zeigte sich, dass in Fließgewässern 90 % aller Proben (n=110) viruspositiv waren und in stehenden Gewässern 28 % aller Proben (n=40). Das Auftreten der humanpathogenen Enteroviren fiel mit den Erkrankungsgipfeln beim Menschen im Sommer und Winter zusammen. Es ist zu vermerken, dass in den Messreihen dieser Studie der Nachweis von Viren i. d. R. mit dem Nachweis von Fäkalindikatoren zusammenfiel. In anderen Fällen scheint diese Korrelation nicht gegeben zu sein, insbesondere da Viren

eine sehr viel höhere Widerstandskraft gegen Umwelteinflüsse zeigen als *E. coli* und coliforme Bakterien (Armon und Kott 1996).

Der zweite Bestandteil der Risikoabschätzung ist die Beurteilung der Aufbereitung, wobei eine genügend hohe Eliminationsleistung erzielt werden muss. Das Multi-Barrieren-Konzept, nach welchem die deutsche Trinkwasserversorgung aufgebaut ist, umfasst mehrere Aufbereitungsschritte, um die Trinkwasserqualität zu gewährleisten. Es beinhaltet nicht nur den Ressourcenschutz und damit die Überwachung der hohen Qualität der Rohwässer, sondern auch verschiedene Aufbereitungsschritte, die sich in ihrer Eliminationsleistung ergänzen. So ist zum Beispiel eine Partikelabscheidung wichtig, um eine optimale Desinfektionsleistung durch UV-Bestrahlung oder Chlorung zu gewährleisten (Jekel 1986) (Westrell, Bergstedt und Stenström 2003). Nach den Angaben der WHO (WHO 2008) erreicht eine Flockung bei konventionellen Einstellungen eine Virenreduktion von 0,15 – 0,52 log-Stufen, Ultrafiltrationsanlagen sollten mindestens 4 log-Stufen (T. K. DVGW 2006) eliminieren. Die Bestimmung der Rückhalteleistung der einzelnen Stufen ist jedoch nicht alleinig durch Einzeluntersuchungen ermittelbar. Wenn auch Wasserwerke über einen langen Zeitraum unter konstanten Bedingungen betrieben werden können, ist nicht auszuschließen, dass plötzliche Trübungsereignisse, pH-Wert-Schwankungen oder Defekte in der Desinfektion auftreten können. Auch diese Ereignisse müssen bei solchen Untersuchungen mit erfasst werden, um die ganze Bandbreite der Aufbereitungsleistung mit ihren Abweichungen zu bestimmen (Teunis, et al. 2009) (Smeets, et al. 2008).

Die Reduktion der fraglichen Viren im Wasserwerk ist kaum messbar, da sie meist auch bereits im Rohwasser in nur sehr niedrigen Konzentrationen auftreten. Die Endkontrolle des Trinkwassers erfolgt bisher immer über die Bestimmung von *E. coli* und coliformen Bakterien, sodass keine direkte Aussage über die Elimination von humanpathogenen Viren oder deren Präsenz im Trinkwasser getroffen werden kann.

Aus diesem Grund wird vorgeschlagen Laborversuche und halbtechnische Versuche anzuwenden, bei denen Viren in hohen Konzentrationen dosiert werden können, um eine tatsächlich messbare Reduktion zu erhalten. Um eine Aussage für das Wasserwerk zu erhalten, müssen die Parameter so gewählt werden, dass sie den Bedingungen in der Großanlage entsprechen. Da der Nachweis der meisten humanpathogenen Viren aufgrund des Nachweises über Zellkulturen sehr aufwändig ist, bzw. z.B. das Anzüchten von Noroviren gar nicht möglich ist und darüber hinaus mit pathogenem Material gearbeitet werden müsste, wurden als Ersatzparameter Bakteriophagen vorgeschlagen (Buras und Kott 1966) (Kott 1981).

Man kann diese Bakteriophagen verwenden, um von ihrer Anwesenheit und Konzentration auf die von humanpathogenen Viren zu schließen (Verwendung als Indikatorparameter). Dabei sollte eine gewisse Korrelation zwischen dem Vorkommen dieser Indikatoren und humanen Viren vorliegen, die gleiche Widerstandskraft gegen Umwelteinflüsse, gleiches Verhalten in der aquatischen Umwelt und eine gemeinsame Quelle voraussetzt (Armon und Kott 1996). Werden die Bakteriophagen genutzt um von ihrer Reduktion in den Aufbereitungsschritten der Trinkwasseraufbereitung auf die Elimination von Viren zu schließen, dann fungieren sie als Indikatorparameter. Dabei sind für das Vorkommen in der Umwelt vor allem physio-chemische Parameter (ähnliche Oberflächenladung, gleiches Verhalten und gleiche Morphologie) ausschlaggebend (Selinka, et al. 2011).

## **2.2 Bakteriophagen als Virusindikatoren**

### **2.2.1 Eigenschaften von MS2, Q $\beta$ und phiX174**

Die Nutzung von Bakteriophagen in der Wasservirologie kam in den letzten Jahrzehnten auf. Bereits 1982 wurden unterschiedliche Funktionen definiert (Mossel 1983), für welche verschiedene Bakteriophagen geeignet scheinen. Neben vergleichbarem Umweltverhalten, Morphologie und Größe, etc. ist auch der relativ unkomplizierte Nachweis von Bakteriophagen ein wichtiger Grund für den Einsatz von Bakteriophagen als Virusindikatoren.

Bakteriophagen sind Viren, die Bakterien (Prokaryonten) befallen und deren Stoffwechsel zur Replikation nutzen. Sie sind in nahezu jeder Biosphäre, insbesondere in den Ozeanen in großen Mengen und in großer Diversität zu finden (Ackermann 2007) (Hennes und Suttle 1995), sodass angenommen wird, dass Phagen den zahlreichsten und ältesten Anteil der Viren ausmachen (Ackermann 2007). Für annähernd jedes bekannte Bakterium ist ein spezifischer Bakteriophagentyp zu finden. Meist sind sie aus nicht mehr als einer Nukleinsäure und einer Kapsidhülle aufgebaut.

Die Taxonomie der Viren wurde 1995 im 6. Bericht des Internationalen Komitees für Taxonomie der Viren aufgestellt und erfolgt nach folgenden Kriterien (Modrow und Falke 1997):

1. Art des Genoms aus RNA oder DNA (einzel-, oder doppelsträngig, linear oder zirkulär, etc.)
2. Morphologie wie z.B. Symmetriefform der Kapside und Virusgröße

Für Enterobakterien infizierende Bakteriophagen ergibt sich daraus eine Einteilung in 7 Familien. Die in dieser Arbeit eingesetzten Bakteriophagen gehören zu den Familien *Leviviridae* (MS2, Q $\beta$ ) und *Microviridae* (phiX174).

Viren, die der Familie *Leviviridae* angehören haben ein *ssRNA*-Molekül als Genom. Die Viren sind unbehüllt mit einer ikosaedrischen Kapsidstruktur und einer Größe von ca. 26 nm. Der Infektionsweg dieser Bakteriophagen führt über die Adsorption an die F-Pili von *Escherichia coli* (sogenannte F+ RNA-Bakteriophagen).

Bakteriophagen, die Bakterien infizieren, die im menschlichen und tierischen Darm vorkommen (Colibakterien) werden Coliphagen genannt. RNA-Coliphagen können in vier Genogruppen eingeteilt werden: Gruppe I (z.B. MS2), Gruppe II (z.B. GA), Gruppe III (z.B. Q $\beta$ ) und Gruppe IV (z.B. SP). Diese Gruppen können serologisch, d.h. über eine Kreuzreaktion mit Antikörper gegen andere Phagen), der molaren Masse des Viruspartikels und der Sedimentationsgeschwindigkeit der viralen RNA unterschieden werden (Calendar 2006). So ist z. B. das RNA-Molekül der Gruppen I und II kürzer, als das der Gruppen III und IV.

Die Infektion von *E. coli* durch MS2 und Q $\beta$  erfolgt, wie bereits erwähnt, über die Adsorption der Phagen an die jeweiligen F-Pili (1 – 80  $\mu$ m lang (Baalousha 2009) (Valentine und Strand 1965) (Lawn 1966)), welche eigentlich für den horizontalen Gentransfer bei Bakterien verantwortlich sind (Calendar 2006). Die Anlagerung an der Außenseite des F-Pilus ist reversibel und wird durch eine erhöhte Ca<sup>2+</sup>-Konzentration gefördert (Baalousha 2009) (Valentine und Strand 1965). Es wurde gezeigt, dass sich durchaus mehrere Phagenpartikeln an den Seiten der F-Pili anlagern können (Stavis und August 1970), es kommt aber zu deutlich weniger Infektionen. Es wird hier von nicht äquivalenten Adsorptionsplätzen gesprochen (Caro und Schnös 1966). Für die Adsorption wesentlich ist das Reifungsprotein A, welches sich in einer Kopie auf der Virushülle befindet (Curtiss und Krueger 1974). Das Hüllprotein spielt in diesem Zusammenhang keine Rolle, wie Studien zeigten (Valentine und Strand 1965), in denen es durch einen binären Komplex aus einer Kopie des Reifungsproteins A und einer Kopie des Gruppe I RNA-Moleküls zu einer Infektion eines Pili-ausbildenden Bakteriums kam. Bei der Infektion wird die RNA zusammen mit einem Teil des durch Hydrolyse gespaltenen Reifungsproteins A in die Zelle geschleust. Der andere Teil des Proteins wird in das Medium entlassen (Stavis und August 1970). Der weitere Infektionsweg nach der Adsorption, vereinfacht unterteilbar in die Teilreaktionen Penetration, Replikation, Aufbau und Freisetzung, ist bei (Calendar 2006) und (Modrow und Falke 1997) ausführlich beschrieben.

Während Gruppe IV-Bakteriophagen weit verbreitet sind und sowohl in menschlichen als auch tierischen Ausscheidungen vorkommen, findet man Vertreter der Gruppe I (MS2) vorwiegend in Tieren und Vertreter der Gruppe II und III (Q $\beta$ ) ausschließlich in Menschen (Calendar 2006).

Mitglieder der *Microviridae* (z. B. phiX174) sind ebenfalls unbehüllt und zeichnen sich durch ein ikosaedrisches Kapsid und eine geringe Größe aus (22 – 33 nm). Sie weisen Projektionen (Spikes) an allen 12 Scheitelpunkten auf und besitzen einen zirkulären ssDNA-Strang als Genom (Calendar 2006).

Die Infektion des Wirtsbakteriums erfolgt durch Adsorption an Lipopolysaccharid-Rezeptoren an der Bakterienzellwand (somatische Coliphagen). Dabei sind die 12 Spikes an den Ecken des ikosaedrischen Kapsids notwendig. Nach der Injektion des ssDNA-Stranges verbleibt ein Großteil der Proteinhülle außerhalb des Wirtsbakteriums (Incardona und Selvidge 1973). Zur Beschreibung des weiteren Infektionsweges soll auch hier auf (Calendar 2006) verwiesen werden.

Das zirkuläre ssDNA-Genom (5.386 bp) von phiX174 wurde als erstes vollständiges DNA-Genom 1977 - 1978 sequenziert. Es beinhaltet 11 Gene. phiX174 hat einen relativ einfachen Aufbau mit 12 morphologischen Einheiten. Das Kapsid besteht aus 4 verschiedenen Hüllproteinen, wobei drei davon in höherer Kopienzahl vorliegen (Protein J, F, G) und das Protein H mit 12 Kopien die Spikes bildet (McKenna, et al. 1992).

Somatische Coliphagen wie phiX174 sind sowohl in menschlichen als auch in tierischen Ausscheidungen zu finden.

Nicht nur Größe und Form sind wichtige Kriterien für die Auswahl von Bakteriophagen als Virusmodelle. Insbesondere die Oberflächeneigenschaften, wie Ladung und Hydrophobizität, welche die Adsorptionsneigung bestimmen, sind weitere wichtige Faktoren, die einen Vergleich mit dem Verhalten von enteralen Viren in der Trinkwasseraufbereitung beeinflussen.

MS2, Q $\beta$  und phiX174 sind wie bereits erwähnt kleine Bakteriophagen, sodass sie bezüglich der Trenngrenze von Filtrationsverfahren als konservative Modelle betrachtet werden können. F-spezifische Phagen ähneln mit ihrem ikosaedrischen Kapsid, ihrer Größe und dem ssRNA-Strang den Polioviren (*Picornaviridae*), sodass sie von humanen Viren unter dem Elektronenmikroskop nur schwer zu unterscheiden sind (Grabow 2004). Somatische Coliphagen sind in Abwasser meistens in höheren Konzentrationen zu finden als F-spezifische Phagen (Grabow 2004).

MS2 ist mit einem isoelektrischen Punkt (IEP) von 3,9 bei neutralem pH-Wert negativ geladen (Michen und Graule 2010). Es konnte durch Adsorptionsversuche an Quarzsande (Schijven und Hassanizadeh 2000), sowie direkt durch Kontaktwinkelmessungen (Attinti, et al. 2010) gezeigt werden, dass MS2 einen durchaus starken hydrophoben Charakter aufweist.

phiX174 ist ein stabiler Modellphage, der in der Umwelt eine hohe Tenazität (wenig Inaktivierung) zeigt (Schijven und Hassanizadeh 2000). Der IEP von phiX174 liegt bei 6,6 (Michen und Graule 2010) die Hydrophobizität ist gering (Attinti, et al. 2010). Q $\beta$  liegt mit seinem IEP von 5,3 zwischen MS2 und phiX174 (Attinti, et al. 2010).

### **2.2.2 Verhalten in der Trinkwasseraufbereitung**

Für die Trinkwasseraufbereitung von Interesse ist vor allem das potentielle Vorkommen humanpathogener Viren. Jedoch sind diese oft in sehr geringen Konzentrationen im Rohwasser vertreten und der Nachweis ist meist langwierig und schwierig. Bei Dosierversuchen mit ausreichend messbaren Konzentrationen an Viren ist der Umgang mit pathogenen Viren in solch großen Mengen meist nicht trivial und die Anzucht zudem bei vielen Viren nicht möglich (z.B. Noroviren). Aus diesen Gründen werden Bakteriophagen als Indikatorparameter für Dosierversuche herangezogen. Sie ähneln in ihren Oberflächeneigenschaften den humanpathogenen Viren, sodass auch eine vergleichbare Persistenz in der Umwelt und ein ähnliches Verhalten in der Trinkwasseraufbereitung zu vermuten ist.

Zur Bodenpassage als ersten Schritt einer Wasseraufbereitung finden sich einige Studien, die das Verhalten von Bakteriophagen und Viren im Untergrund (Schijven und Hassanizadeh 2000) (Bales, et al. 1993) untersuchen. Die Elimination von Viren ist im Untergrund sehr gut, wenn die Randbedingungen wie Bodenbeschaffenheit, Porosität, Aufenthaltszeit, etc. geeignet sind.

Bei einer Schnellsandfiltration herrschen dagegen andere Bedingungen mit weniger optimalen Aufenthaltszeiten. So konnte in Versuchen mit Bakteriophagen lediglich ein Rückhalt von 0,3 – 0,5 log-Stufen beobachtet werden (Aronino, et al. 2009).

Zur Flockung als partikelabtrennende Stufe der Wasseraufbereitung stehen verschiedene Flockungsmittel, Flockungshilfsmittel und abtrennende Stufen wie Sedimentation oder Schnellsandfiltration zur Verfügung. In der Literatur sind dementsprechend auch verschiedene Beobachtungen zum Rückhalt von Bakteriophagen und enteralen Viren publiziert. Die WHO (WHO 2011) beschreibt einen Virenrückhalt durch Flockungsfiltration mit 0,15 – 0,52 log-Stufen. Während durch Flockung eines trüben Rohwasser mit 20 –



23 mgAl/L  $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$  die Bakteriophagen Fr, MS2 und PRD1 um 3,2 – 2,5 log-Stufen eliminiert werden konnten (Gerba, et al. 2003), wurde die Konzentration des feline Calicivirus nur um 1,8 log-Stufen reduziert. Im Gegensatz dazu wurde mit dem gleichen Rohwasser und einer Dosierung von 40 mgFe/L eine Reduktion von MS2 und PRD1 von nur 1,8 und 1,5 log-Stufen erreicht (Abbaszadegan, Mayer, et al. 2007), aber eine Reduktion des feline Calicivirus von 2,3 log-Stufen. In derselben Studie war der Rückhalt von Adenoviren mit dem des Phagen phiX174 mit 2,5 log-Stufen vergleichbar. Bei der Flockung von mit Kaolin dotiertem Leitungswasser mit einer hohen Konzentration an  $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$  wurde von einer Reduktion von MS2 um 1,3 log-Stufen und einer besseren Elimination von Hepatitis A Viren um 1,8 log-Stufen berichtet (Nasser, et al. 1995). Polioviren wurden dagegen lediglich um 0,2 log-Stufen reduziert. Bei Vergleichsexperimenten mit  $\text{FeCl}_3$  und Eisensulfat konnte ein vergleichbarer oder besserer Rückhalt von verschiedenen humanpathogenen Viren wie Polio, Coxsackieviren und Enteroviren in Oberflächenwässern gegenüber dem Rückhalt von Bakteriophagen wie F-spezifische RNA-Phagen, phiX174 und PRD1 erreicht werden (Mayer, Ryu und Abbaszadegan 2008) (Havelaar, Van Olphen und Schijven 1995) (Guy, McIver und Lewis 1977). Es zeigt sich also, dass die Ergebnisse z. T. widersprüchlich sind und ein pauschaler Vergleich des Rückhalts von Bakteriophagen mit dem Rückhalt humanpathogener Viren nicht möglich ist und u. U. von den Prozessbedingungen abhängt.

Die Membranfiltration ist eine partikelabtrennende Stufe mit einer sehr scharfen Trenngrenze, zunächst einmal unabhängig von den Wasserparametern. Für eine UF-Membran wird ein Rückhalt von Viren von mindestens 4 log-Stufen gefordert (T. K. DVGW 2006). Durch die physikalische Siebung müsste der Rückhalt von Viren und Bakteriophagen eigentlich klar bestimmbar sein. Dennoch sind die Berichte aus der Literatur auch hier sehr unterschiedlich. Während in einer Studie (Hamsch, et al. 2012) für kapillare Keramikmembranen mit einer Porenweite von 0,01 und 0,05  $\mu\text{m}$  immerhin noch ein Rückhalt von MS2 von 3,1 und 2,0 log-Stufen in aufbereitetem Talsperrenwasser erzielt werden konnte, erreichte eine weitere Studie (Herath, Yamamoto und Urase 1999) einen Rückhalt von MS2 von lediglich 1,0 log-Stufen in Reinstwasser. Mit einer 30 kDa UF-Kapillar-Membran wurden bei einer weiteren Studie (Fiksdal und Leiknes 2006) in autoklaviertem Leitungswasser so gut wie kein Rückhalt von MS2 beobachtet. Erst mit der zusätzlichen Dosierung von aluminiumbasierten Flockungsmitteln wurde ein Rückhalt  $>6$  log-Stufen erreicht. In einer halbtechnischen Anlage konnte mit einer 0,03  $\mu\text{m}$  Membran einen MS2-Rückhalt von 2,6 log-Stufen erreicht werden (Boudaud, et al. 2012), der Phage GA wurde jedoch nur um 0,23 log-Stufen reduziert. Bei einem Vergleich von verschiedenen Mikro- und Ultrafiltrations-Kapillar-Membranen wurde für MS2 und Q $\beta$  ein maximalen Rückhalt  $>6$  log-Stufen mit einer 0,01  $\mu\text{m}$  Cellulose-Kapillar-Membran erreicht

(Langlet, et al. 2009). Oft (Matsushita, Matsui und Shirasaki 2006) (Fiksdal und Leiknes 2006) (Matsui, et al. 2003) wurde zur Verbesserung der Membranleistung Flockungsmittel eingesetzt, welches auch immer einen positiven Effekt auf den Rückhalt von Bakteriophagen hatte.

Als wichtigste Einflussgröße identifizierten die meisten Studien die Porengröße, wobei eine geringe Porengröße keinen vollständigen Rückhalt von Viren garantierte. Hier müssen u. U. noch weitere Faktoren, wie Porengrößenverteilung oder Modulaufbau mit berücksichtigt werden, die die Leistung der Membran schmälern können und von Hersteller zu Hersteller verschieden sein können.

Eine interessante Studie (Jacangelo, Adham und Laine 1995) zeigte beim Einsatz von 100 und 500 kDa UF-Kapillar-Membranen, dass der Rückhalt deutlich anstieg, wenn ein Wasser mit hohem Foulingpotential verwendet wurde, so dass es zur Deckschichtbildung und einer Adsorption von Phagen an die Membranoberfläche bzw. an die Deckschicht kam.

Die Desinfektion steht häufig am Ende einer Aufbereitung. Unbehüllte Viren sind durch ihre pH-Stabilität und ihre Struktur z. T. resistenter gegen Desinfektionsmittel wie Chlor, Chlordioxid, Ozon, bzw. gegen Desinfektionsverfahren wie die UV-Bestrahlung als Bakterien wie *E. coli* und Salmonellen (Botzenhart und Fleischer 2009). Jedoch kann durchaus auch über diese Verfahren eine Viruselimination oder -inaktivierung erreicht werden (Sobsey 1989), wenn eine ausreichende Vorbehandlung günstige Bedingungen, wie eine niedrige Konzentration organischer Substanzen und geringe Trübung, die Desinfektion begünstigen. So kann die Desinfektion nach der Aufbereitung vorhandene Viren stark reduzieren (Botzenhart und Fleischer 2009).

## **2.3 Flockungsfiltration**

### **2.3.1 Verfahren**

Die Flockung ist eine partikelabtrennende Stufe in der Wasseraufbereitung. Die im Wasser vorhandenen Partikeln liegen meist als disperses System vor, wobei die Partikel, z.B. Ton, Sand, Algenzellen, Parasiten und Viren, als negativ geladene Teilchen durch elektrostatische Abstoßungskräfte und Hydratation stabilisiert sind.

Diese Kräfte werden durch die Zugabe von Metallkationen als Flockungsmittel überwunden. Es kommt zu einer Ladungsneutralisation, Ausfällung und Flockung von Metallhydroxiden, die die Kolloide mit sich reißen. Entsprechend dieser Reihenfolge wird auch der

verfahrenstechnische Prozess gegliedert (Jekel, Gimbel und Ließfeld 2003). Beim Koagulationsvorgang, bei welchem die gelösten Metallkationen mit dem Wasser Hydroxide bilden, die dann ausfallen, können auch echt gelöste Stoffe, z. B. Huminsäuren mitgefällt und somit aus dem Wasser entfernt werden (Jekel 1986).

Der in der Praxis eingesetzte Energieeintrag in das Wasser, das mittlere Schergefälle  $\bar{G}$  [ $1 \cdot \text{sec}^{-1}$ ], wird aus dem Energieeintrag  $P$  [ $\text{Nm} \cdot \text{sec}^{-1}$ ], dem Reaktionsvolumen  $V$  [ $\text{m}^3$ ] und der dynamischen Viskosität  $\eta$  [ $\text{N} \cdot \text{sec} \cdot \text{m}^{-2}$ ] berechnet (Bernhardt 1996).

$$\bar{G} = \left[ \frac{P}{\eta V} \right]^{\frac{1}{2}} \quad (1)$$

Die Dosierung und Einmischung des Flockungsmittels erfolgt in einem ersten Schritt unter Einhaltung eines hohen Schergefälles von  $\bar{G} > 1000$  1/sec (T. R. DVGW 1998). Dadurch wird gewährleistet, dass eine optimale Vermischung und Verteilung des Flockungsmittels stattfindet. Die Entstabilisierung des dispersen Partikelsystems findet ebenfalls in diesem Verfahrensschritt statt. Diese anfängliche schnelle Koagulation wird, besonders für kleine Teilchen, von der Brown'schen Molekularbewegung bestimmt und als perikinetische Flockung bezeichnet. Die Flockenbildung jedoch beruht auf der Kollision größerer Partikel und wird so maßgeblich von der Konvektion bestimmt. Dies wird als orthokinetische Flockung bezeichnet. Durch den Einsatz von Rührern wird die Kollisionswahrscheinlichkeit durch die Erhöhung der Konvektion gesteigert.

Die Bildung von Mikro- und Makroflocken erfolgt in einem separaten Prozessschritt, da hier ein geringeres Schergefälle notwendig ist, sodass sich die Hydroxo-Komplexe bilden und als Flocken ausfallen können. Hier werden meist  $\bar{G}$ -Werte zwischen 10 und 100 1/sec (T. R. DVGW 1998) eingehalten. Die Verweilzeit in diesem Schritt muss lang genug sein (3 – 30 min), damit eine vollständige Flockung erreicht wird.

Die Metallhydroxidflocken mit den koagulierten zuvor gelösten Stoffen und den in der Flocke eingehüllten Partikeln müssen in einem abschließenden Schritt entfernt werden. Beim Einsatz großer Mengen an Flockungsmittel (bis 5 mgAl/L und 10 mgFe/L) und spezifisch dichten Aggregaten (Jekel 1985) kann die Sedimentation eingesetzt werden. Die Tiefenfiltration (Schnellsandfiltration) ist jedoch ein sehr gängiges Verfahren, bei welchem die Flocken in einem Mehrschichtfilter abgetrennt werden.

### 2.3.2 Chemische Vorgänge

Wie schon angesprochen, reagieren die zudosierten Metallsalze (z.B.  $\text{FeCl}_3$ ,  $\text{AlCl}_3$ ) mit dem Wasser zu Hydroxo-Aquo-Komplexen (Bernhardt 1996), die stufenweise, ausgehend von einem Hex-Aquo-Komplex, bei verschiedenen pH-Werten entstehen, bis sich bei einem pH-Wert von 6 das unlösliche Aluminiumhydroxid und ab pH-Werten von 5 unlösliches Eisenhydroxid bilden (Abb. 1).

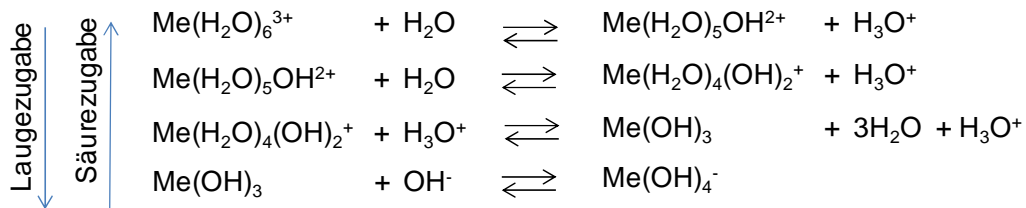
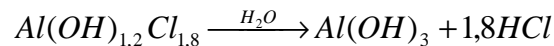


Abb. 1 Hydrolysereaktionen von Metallsalzen als Flockungsmittel in wässriger Lösung (Jekel, Gimbel und Ließfeld 2003, Jacangelo, Adham und Laine 1995).

Diese kationischen Metallpolymere zwischen pH 3 und 6 sind hochreaktiv und neigen zur Polymerisation, was zu einem gesteigerten Aufbereitungseffekt führt. Aus diesem Grund werden von der Industrie Flockungsmittelprodukte bereitgestellt, die bereits vorpolymerisierte Aluminiumspezies enthalten. Dieses Polyaluminiumchlorid (PACl) reagiert im Wasser ebenfalls zu Aluminiumhydroxid nach der folgenden Gleichung:



Dieses PACl besteht aus drei hauptsächlich Aluminiumspezies, welche sich durch ihre Reaktion mit Ferron unterscheiden lassen (Van Benschoten und Edzwald 1990), die monomere Aluminiumspezies ( $\text{Al}_a$ ), das Hauptagenz der  $\text{AlCl}_3$ -Flockungsmittel (Yan, et al. 2008), die halbpolymerisierte Spezies ( $\text{Al}_b$ ), das Hauptagenz von PACl (Yan, et al. 2008) (Van Benschoten und Edzwald 1990) und Spezies kolloidalen oder festen Aluminiums ( $\text{Al}_c$ ). Die  $\text{Al}_b$ -Spezies ist ein kondensiertes basisches Ion mit einer Basizität von  $B=2,8$  ( $B$ = molares Verhältnis  $\text{OH}/\text{Al}$ ) mit der Summenformel  $\text{AlO}_4\text{Al}_{12}(\text{OH})_{24}^{7+}$ , welche auch als  $\text{Al}_{13}$  bezeichnet wird.  $\text{Al}_{13}$  ist eine hoch reaktive Spezies (Liu, et al. 2009) (Matilainen, Vepsäläinen und Sillanpää 2010), die stark mit negativ geladenen Oberflächen reagiert und ab einem pH-Wert von 5,5 stabil ist. Bei pH-Werten  $>5,5$  nimmt die  $\text{Al}_b$ -Fraktion ab und Aluminiumpräzipitate treten auf.

Ein Faktor, der die Bildung verschiedener Metallhydroxidspezies beeinflusst, ist der pH-Wert (Abb. 2).

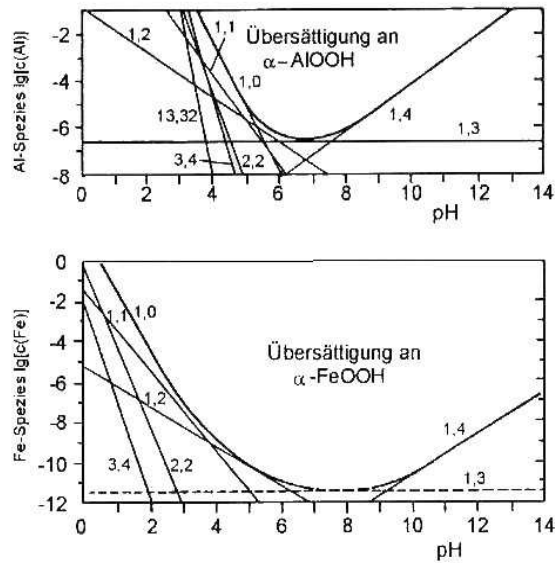


Abb. 2 Stabilitätsdiagramme von Aluminium und Eisen (Jekel, Gimbel und Ließfeld 2003).

So kann die Bildung hochreaktiver polymerisierter Metallhydroxidkomplexe durch einen leicht sauren Flockungs-pH-Wert begünstigt werden. Im pH-Wert-Bereich zwischen 6 und 8 liegt das Löslichkeitsminimum von Aluminiumhydroxiden, zwischen 5,5 und 9 das Löslichkeitsminimum der Eisenhydroxide. Es kann bei diesen pH-Werten von einer nahezu vollständigen Ausfällung ausgegangen werden, sodass eine Restkonzentration von lediglich  $10^{-6,5}$  mol/L in der Lösung verbleibt (Jekel 1985). Ab pH-Werten von 7,5 für Aluminium und ab Werten größer 10 für Eisen kommt es zu einer Rücklösung in Form von Aluminat ( $\text{Al}(\text{OH})_4^-$ ) und Ferrat ( $\text{Fe}(\text{OH})_4^-$ ).

So unterschiedlich die abzutrennenden Partikel in einem Wasser sind (Algen, Bakterien, Ton, Huminsäuren), so unterschiedlich sind auch die Prozesse, die bei der Flockung der Teilchen ablaufen. Zunächst müssen hierzu die Flockungsmechanismen unterschieden werden. Bei einer Entstabilisierung der Partikel, die sich aufgrund ihrer negativen Oberflächenladung abstoßen, kommt es durch die Zugabe von mehrwertigen Gegenionen zu einer reduzierten elektrostatischen Abstoßung. Grund hierfür ist die Maskierung der negativen Oberflächenladung durch diese Elektrolyte. Die Teilchen können sich näher zueinander bewegen. Wird der Abstand zwischen den Partikeln so gering, dass die van-der-Waals-Kräfte wirken können, kommt es zu einer Agglomeration der Teilchen. Die Überlappung dieser Oberflächenkräfte wird durch die DLVO-Theorie beschrieben (Myers 1999).

Für die gesamten Wechselwirkungen gilt für die Gibbs freie Energie  $\Delta G_T$ :

$$\Delta G_T = \Delta G_{Rep} + \Delta G_{Att} \quad (2)$$

Somit folgt die Resultierende für geringe Abstände (der Abstand ist viel kleiner als der Teilchenradius) der Gleichung:

$$\Delta G_T = \underbrace{\left[ \left( \frac{64c_0kT}{\kappa} \right) \exp(-\kappa x) \right]}_{\Delta G_{Rep}} - \underbrace{\left[ \frac{A_H}{12\pi x^2} \right]}_{\Delta G_{Att}} \quad (3)$$

$c_0$  Elektrolytkonzentration [1/m<sup>3</sup>]

$k$  Boltzman Konstante [J/K]

$T$  Temperatur [K]

$\kappa$  1/Doppelschichtdicke [1/m]

$x$  Teilchenabstand [m]

$A_H$  Hamaker Konstante [J]

$Rep$  Abstoßend

$Att$  Anziehend

Die negative Ladung von Partikeln in wässriger Lösung kann durch Dissoziation von Molekülgruppen (Carboxyl-, Hydroxid-, Aminogruppen, etc.) an der Oberfläche verursacht werden. Auch Ionenadsorption, Ionensubstitution (besonders bei Tonmineralien) oder die Adsorption von grenzflächenaktiven Stoffen, wozu auch die Huminstoffe zählen, tragen dazu bei. Diese Ladung wird im wässrigen Medium durch die Anlagerung von positiv geladenen Gegenionen kompensiert und das Gesamtsystem erreicht einen Zustand elektrischer Neutralität. An der Grenzfläche zwischen Partikel und wässriger Lösung hat sich eine elektrochemische Doppelschicht ausgebildet (Abb. 3).

Eine einfache mathematische Beschreibung dieser Doppelschicht ergibt für Kugeln aus der Poisson'schen Beziehung zwischen Ladungsdichte und Potential folgende Funktion:

$$\psi = \frac{\psi_d r}{x} \exp(-\kappa(x-r)) \quad (4)$$

$$\text{mit } \kappa = \sqrt{\frac{8\pi n_{i,\infty} z_i^2 e^2}{\epsilon k T}} = \frac{1}{\delta}$$

$$\frac{1}{\partial} = \text{const.} \sqrt{nz^2} = \text{const.} \sqrt{I}$$

$\psi$	Potential [V]
$\psi_{\partial}$	Sternpotential [V]
$\partial$	Debye-Hückel Länge [m]
$k$	Boltzman Konstante [J/K]
$x$	radialer Abstand der Kugelmittelpunkte [m]
$r$	Kugelradius [m]
$\epsilon$	Dielektrizitätskonstante [As/Vm]
$T$	Temperatur [K]
$e$	Elementarladung [C]
$n_{i,\infty}$	Anzahl der Ionen der Sorte i pro Volumen im Gleichgewicht [1/m <sup>3</sup> ]
$z_i$	Ladungszahl der Ionen der Sorte i [-]
$I$	Ionenstärke [C <sup>2</sup> /m <sup>3</sup> ]

Geht man von einer ebenen, unendlich ausgedehnten Grenzfläche mit einem Oberflächenpotential  $\psi_0$  (V) und einer Oberflächenladungsdichte  $\sigma_0$  (C\*m<sup>-2</sup>) aus, so lassen sich die Ladungs- und Potentialverteilungen in der Lösung als Funktion des Abstandes von der Oberfläche beschreiben (Gregory, Jia und Williams 1998).

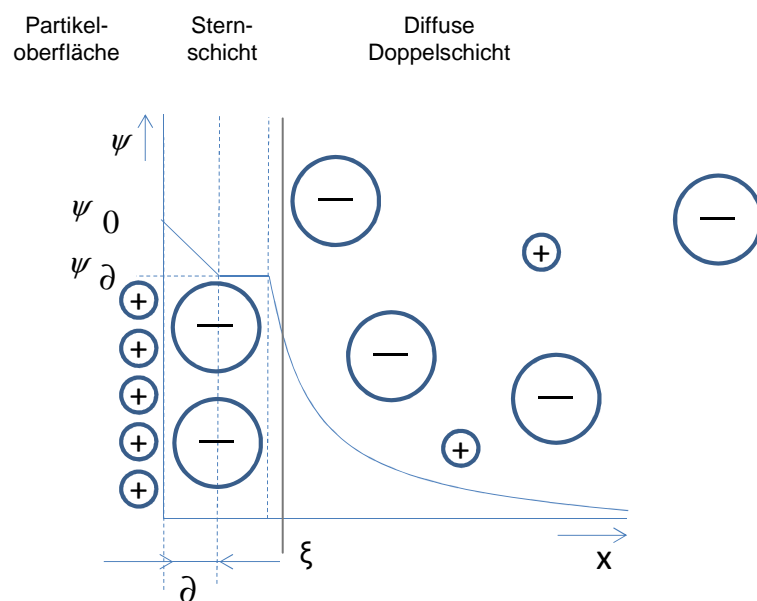


Abb. 3 STERN-Modell der elektrischen Doppelschicht nach(Gregory, Jia und Williams 1998).

Ein Modell zur Beschreibung dieser Verteilungen ist das Doppelschichtmodell nach GOUY-CHAPMAN. Dieses Modell betrachtet u.a. Ionen in Lösung als Punktladungen, die sich bis zur Grenzfläche annähern können. STERN korrigiert diese Annahme in seinem Modell und definiert die Lage der Ionenladung als Mittelpunkt einer Kugel endlicher Größe. Das bedeutet, dass die Ladung eines Gegenions in wässriger Lösung die Grenzfläche nicht berühren kann, sondern sich mindestens im Abstand des Kugelradius befinden muss. Dieser Abstand wird als Stern-Schicht bezeichnet. Außerhalb dieser Schicht befindet sich analog zu GOUY-CHAPMAN eine diffuse Schicht von Gegenionen. Zur Beschreibung der Ladungsverhältnisse wird heute allgemein vom STERN-GRAHAME-Modell ausgegangen, das aus den bereits erwähnten Doppelschichtmodellen weiterentwickelt wurde.

In der Stern-Schicht kommt es durch die Anlagerung der Gegenionen zu einem Abfall des Oberflächenpotentials  $\Psi_0$  auf das Potential  $\Psi_\delta$  der Stern-Schicht mit der Dicke  $\delta$ , welche somit die Reichweite des Potentials angibt. Diese kann in Abhängigkeit von Ladung und Konzentration der Ionen zwischen 2 und 25 nm betragen (Jekel 1985). Weiter entfernt von der Partikeloberfläche strebt das Potential gegen Null, bis in unendlichem Abstand von der Oberfläche die elektrische Neutralität nach außen hergestellt ist (Gregory, Jia und Williams 1998).

Eine relative Bewegung zwischen geladener Grenzfläche und angrenzender Elektrolytlösung führt dazu, dass Teile der Doppelschicht abgeschert werden. An der Scherebene wird eine messbare Potentialdifferenz ausgebildet, die als Zetapotential  $\zeta$  bezeichnet wird (Abb. 3). Die genaue Lage der Scherebene ist von verschiedenen Parametern abhängig und nicht exakt bestimmbar. Daher wird sie oft mit der Grenze zwischen starrer und diffuser Schicht gleichgesetzt.

Neben der Entstabilisierung kann bei den stark kationischen Hydroxo-Komplexen auch eine Adsorptions-Ladungsneutralisation eintreten, wobei die Komplexe spezifisch an der Oberfläche gebunden werden. Während bei den Metallsalzen diese reaktiven Spezies hauptsächlich im leicht sauren pH-Bereich gebildet und stabil sind, liegen diese bei PACl schon vorkonditioniert stabil im Flockungsmittel vor.

Beide Mechanismen haben jedoch den Nachteil, dass die Aggregationskinetik so langsam abläuft, dass keine absetzbaren Flocken entstehen. Somit ist die Abtrennung der partikulären Fraktion meist schwierig, wenn die Suspension nicht stark verdünnt vorliegt und



somit eine Filtration möglich ist (Jekel 1985). Auch liegen häufig die Restkonzentrationen an Aluminium oder Eisen höher als die zulässigen Grenzwerte.

Der wichtigste Flockungsmechanismus bei Flockung im neutralen pH-Bereich ist jedoch die Einschlussflockung und Mitfällung. Bei der Ausbildung der unlöslichen Metallhydroxide werden Partikel unabhängig von ihrer Oberflächenladung in die sich bildende Flocke eingeschlossen. Da bei der Bildung der Flocken auch die Stadien der Hydroxo-Verbindungen durchlaufen werden, kann es auch zur Mitfällung von echt gelösten Komponenten kommen. Eine Überdosierung und damit verbunden eine Umladung der Partikel kann bei diesem Flockungsmechanismus nicht erfolgen.

In den meisten Wasserwerken wird bei pH-Werten von 6,5 für Eisensalze und pH 6,7 für Aluminiumsalze bzw. PACl geflockt, sodass dieser Flockungsmechanismus den Haupteinflussfaktor bei der Entfernung von Trübung und partikulären Stoffen darstellt.

Bei der Flockung von echt gelösten organischen Materialien greifen zusätzlich andere Mechanismen. (Jekel 1985) konnte eine deutlich messbare Grenzflächenkomplexierung am Hydroxid unter Ligandenaustausch der OH<sup>-</sup>-Ionen gegen organisch dissoziierte saure Gruppen nachweisen. Aber auch die Komplexierung mit dem Metallkation und Adsorption an die Metallhydroxidflocken führen zu einer Eliminierung organischen Materials. Insbesondere die langkettigen hydrophoben Huminsäuren und Kolloide lassen sich so gut aus dem Wasser entfernen, während die Eliminierung der kurzkettigen hydrophilen Fraktion meist nicht gut gelingt (Matilainen, Vepsäläinen und Sillanpää 2010).

## **2.4 Ultrafiltration**

### **2.4.1 Verfahren**

Der Verwendungszweck entscheidet, welche Strukturen und Eigenschaften einer Membran notwendig und einsetzbar sind. Selektivität und Permeabilität werden von der Struktur einer porösen Membran beeinflusst, der Innenaufbau bestimmt, zum Beispiel bei Umkehrosmose oder Ultrafiltration, die mechanische Beanspruchbarkeit. Hauptziel der Ultrafiltration ist die Entfernung partikulärer Stoffe bis in den nanoskaligen Bereich.

Treibende Kraft der Ultra- und Mikrofiltration ist die angelegte Druckdifferenz. Je nach Konzipierung der Anlage muss die Membran somit mechanische Stabilität gegen Über- oder Unterdruck aufweisen. Dies macht es notwendig, die aktive filtrierende Schicht durch eine ausreichend stabile Stützschiicht zu unterstützen.

Die meisten Ultrafiltrationsmembranen werden aus Polyethersulfon (PES) hergestellt, welches durch weitere Maßnahmen, beispielsweise durch den zusätzlichen Einsatz von Materialien wie Polyvinylpyrrolidon, hydrophilisiert wird, um einen möglichst hohen Durchsatz bei möglichst kleiner Porengröße zu erzielen.

Durch Ultrafiltrationsmembranen können Moleküle von ca. 500 bis 500.000 g/mol Molmasse abgetrennt werden. Dies ermöglicht den Rückhalt von Bakterien und von Viren, welche mit ihrer Größe zwischen dem molekularen und makromolekularen Bereich, also ungefähr zwischen 0,01 und 0,1  $\mu\text{m}$  liegen (Madigan, et al. 2003). Der Arbeitsbereich liegt zwischen 1 bar und 10 bar. Die Trennwirkung basiert nahezu ausschließlich auf Sieb- und Wechselwirkungen mit der Porenwand und wird näherungsweise durch das ideale Modell der Porenmembran beschrieben (Abb. 4).

Diese Siebeffekte treten bei einer ideal asymmetrischen Membran primär an der Membranoberfläche auf. Ausschlaggebend ist dann die Porenradienverteilung. In der Praxis sind die Verhältnisse jedoch komplizierter, da die Trenneffekte bei einer nicht streng asymmetrischen Membran nicht nur an der Oberfläche auftreten, sondern vielmehr in der gesamten Membrantiefe, was zu einem irreversiblen Verlust von Permeabilität führen kann (Frimmel, Gorenflo und Saravia 2006).

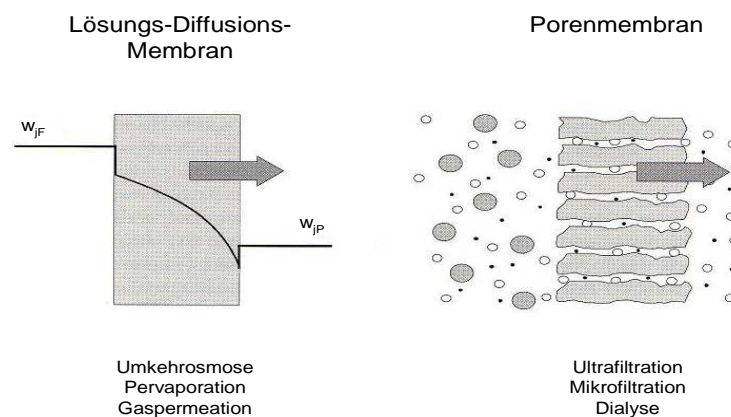


Abb. 4 Darstellung einer idealen Lösungs-Diffusions-Membran und Porenmembran (Melin und Rautenbach 2004)

Zur Bestimmung der Trenneigenschaften von Ultrafiltrationsmembranen wird der Molecular weight cut off (MWCO) bestimmt. Diese Größe gibt an, welche Moleküle noch zu 90% von der Membran zurückgehalten werden. Aufgrund der Porengrößenverteilung, die bei jeder Porenmembran auftritt, ist diese Trenngrenze mehr oder weniger scharf definiert und wird als Kennlinie (Trennkurven) angegeben. Die Trennschärfe (Rückhalt) ist wie folgt definiert:

$$R_i = \frac{c(F_i) - c(P_i)}{c(F_i)} \quad (5)$$

$R_i$  Rückhalt der Komponente i,

$c(F_i)$  Konzentration der Komponente i im Feedstrom

$c(P_i)$  Konzentration der Komponente i im Permeatstrom

In Abb. 5 ist eine Übersicht über die einzelnen Membrantypen und ihre Trenngrenzen gegeben.

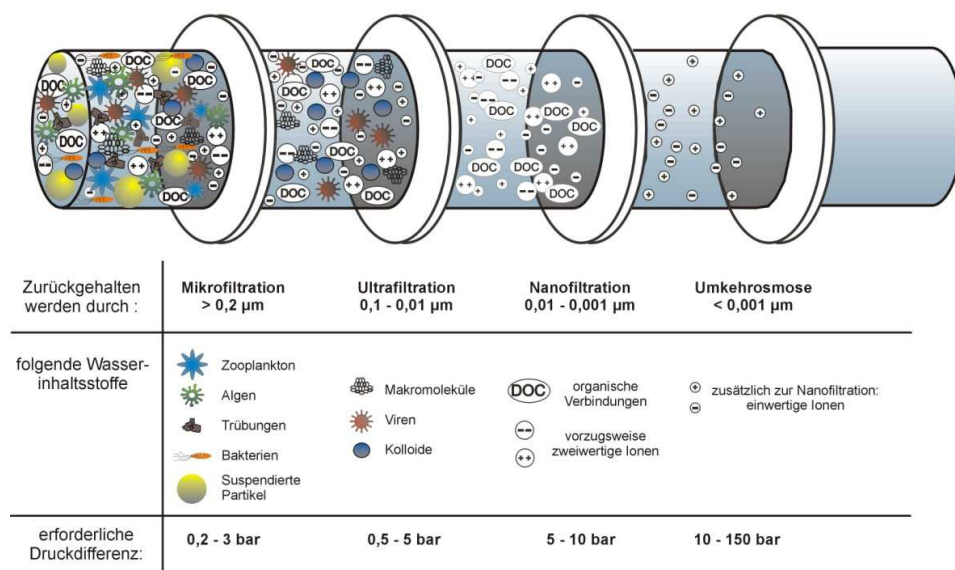


Abb. 5 Trenngrenze verschiedener Membrantypen (Lipp 2010).

Der Faktor, welcher in der Praxis oft ausschlaggebend ist, ist der Permeatfluss, der bei bestimmten Betriebsbedingungen erreichbar ist, auch als Flux oder Flächenbelastung bezeichnet.

Der Flux  $V_P$  [L/(m<sup>2</sup>\*h)] definiert den Permeatfluss als Quotient aus Durchfluss  $\dot{Q}$  [L/h] und Membranfläche  $A_M$  [m<sup>2</sup>]:

$$V_P = \frac{\dot{Q}}{A_M} \left[ \frac{L}{m^2 * h} \right] \quad (6)$$

Der Fluss durch die Membran pro bar mittleren Arbeitsdrucks wird als Permeabilität bezeichnet. Die Permeabilität  $L_p$  ist das Maß für die hydraulische Leistungsfähigkeit einer Membran und entspricht unter konstanten Bedingungen dem reinen Filterwiderstand. Sie berechnet sich als Quotient aus dem Flux  $v_p$  [L/m<sup>2</sup>/h] und der angelegten transmembranen Druckdifferenz  $TMP$  [bar].

$$L_p = \frac{v_p}{TMP} \left[ \frac{L}{m^2 * h * bar} \right] \quad (7)$$

Die Permeabilität ist entscheidend für eine Ultrafiltration, sie ist nicht nur kennzeichnend für den Zustand der Membran, sondern für das gesamte System der Filtration. Sie verändert sich durch die Abhängigkeit von einer Vielzahl von Parametern (z.B. Partikelkonzentration, Temperatur, Druck, usw.), mit dem aktuellen Betriebszustand und der Dauer des Betriebes.

Um die Temperaturabhängigkeit der Wasserdichte und damit die veränderbare Filtrierbarkeit des Wassers zu berücksichtigen wird ein Korrekturfaktor bestimmt (Melin und Rautenbach 2004), um die Permeabilität auf 20°C zu normieren.

$$k(T) = \exp(0,0239 * (20 - T)) \quad (8)$$

$k(T)$  Korrekturfaktor zur Normierung der Permeabilität auf 20°C

$T$  Temperatur [°C]

Der herrschende Arbeitsdruck wird bei einem Membranprozess transmembrane Druckdifferenz  $TMI$  genannt.

$$TMI = \frac{p_F + p_R}{2} - p_p \quad [bar] \quad (9)$$

$TMI$  transmembrane Druckdifferenz [bar]

$p_F$  herrschender Druck im Feedstrom [bar]

$p_R$  herrschender Druck im Retentat [bar]

$p_p$  herrschender Druck im Permeat [bar]

Mikro- und Ultrafiltration können durch das Porenmodell beschrieben werden, im Gegensatz zum Lösungs-Diffusionsmodell bei der Umkehrosmose (Abb. 4). Bei Mikro- und Ultrafiltration erfolgt die Trennung nur aufgrund der Größe der abzutrennenden Partikel. Die Trenngrenze wird durch den Porengrößendurchmesser bestimmt und ist von der Porengrößenverteilung abhängig (reiner Siebprozess). Bei der Beschreibung des Massenstromes einer Komponente  $i$  ist für die Ultrafiltrationsmembran im Wesentlichen die Druckdifferenz maßgebend, die durch die Konvektionsströmung hervorgerufen wird.

Nicht im Modell der idealen Porenmembran berücksichtigt ist die in der Praxis auftretende reversible oder irreversible Deckschichtbildung und Konzentrationspolarisation, die zu einer Minimierung des Stoffstromes führen kann und somit eine Leistungsverminderung bedingt.

Während bei der Umkehrosmose, bei der das Phänomen der Konzentrationspolarisation auftritt, niedermolekulare Stoffe wie Salze zurückgehalten werden, werden bei der Ultrafiltration gelöste Makromoleküle an der Membranoberfläche angereichert (Rosenberger, et al. 2006) (Le-Clech, Chen und Gane 2006). Gelöste Substanzen können sowohl an der Membran adsorbieren und Poren verstopfen, als auch, unter der Annahme eines kleinen Diffusionskoeffizienten (Rosenberger, et al. 2006), eine gelartige Schicht an der Membran ausbilden (Trussel, et al. 2006).

Ein weiterer Effekt, welcher ebenfalls zu einer Erhöhung der Druckdifferenz führt, ist die Anhäufung ungelösten Materials an der Membranoberfläche und damit der Aufbau eines Filterkuchens. Insbesondere bei der Dead-End-Filtration ist dieser Effekt von Bedeutung. Die Druckdifferenz (welche den Membranwiderstand überlagern kann), die notwendig ist, um den Filterkuchenwiderstand zu überwinden, kann mit der Darcy-Gleichung für Stoffflüsse durch poröse Schichten beschrieben werden. Der Widerstandsterm  $R$  [1/m] in der Darcy-Gleichung setzt sich somit wie folgt zusammen:

$$\Delta p = \frac{\eta}{A} R \frac{dV}{dt} \quad (10)$$

$$R = R_{\text{Membran}} + R_{\text{VerblockungPoren}} + R_{\text{Adsorption}}$$

$\Delta p$  Strömungsdruckverlust im porösen Medium (Filterkuchen) [bar]

$A$  Filterfläche [m<sup>2</sup>]

$dV/dt$  Filtratfluss [m<sup>3</sup>/h]

$\eta$  Viskosität [kg/(m\*s)]

Zusätzlich verändert der Filterkuchen die Filtrationseigenschaften des Membransystems.

### 2.4.2 Integritätsnachweis im nanoskaligen Bereich

Zum Nachweis der Membranintegrität stehen direkte und indirekte Messmethoden zur Verfügung (Antony, Blackbeard und Leslie 2011) (Guibert und Colling 2011). Beispiele für direkte Methoden sind die Verwendung von Ersatzparametern, wie Bakteriophagen, Latexpartikeln oder fluoreszierende Partikeln, sowie druckbasierte Tests, wie der Druckabfalltest, Vakuumtest, oder die Überwachung des diffusiven Luftstromes durch die Membran. Indirekt kann die Membranintegrität über die kontinuierliche Messung des totalen organischen Kohlenstoffes (TOC), des spektralen Absorptionskoeffizienten bei 254 nm (SAK-254), Partikeln oder Trübung bestimmt werden. Mit Ausnahme der Verwendung von Ersatzparametern, wie Viren oder Partikeln, ist den Verfahren jedoch gemein, dass sie nur Defekte  $\geq 1 - 1,5 \mu\text{m}$  erfassen können (Duek, et al. 2012). Dabei können die druckbasierten Tests eine recht gute Auflösung zeigen, wie bei (Antony, Blackbeard und Leslie 2011) beschrieben. Keine guten Ergebnisse wurden mit der Trübungsmessung oder der Partikelzählung erzielt (Antony, Blackbeard und Leslie 2011), da beim Vergleich mit anderen Challenge-Tests, wie Blasentest oder Rückhalt von Bakteriophagen keine Korrelationen feststellbar waren.

Im nanoskaligen Bereich gibt es bisher keine zufriedenstellende Messmethodik, die im Betrieb angewendet werden kann. Die Dosierung von Ersatzparametern wäre in dieser Größenordnung die einzige Methode, um die Integrität von Membranen zu bestimmen, sie fällt jedoch für den kontinuierlichen Betrieb aus.

### 3 Material und Methoden

#### 3.1 Eingesetzte Bakteriophagen

Als Modellviren wurden der F-spezifische Coliphage MS2 (NCTC 12487), bezogen von der National Collection of Type Cultures, der F-spezifische Coliphage Q $\beta$  (DSM 13768), sowie der somatische Coliphage phiX174 (DSM 4497) von der Deutschen Sammlung für Mikroorganismen und Zellkulturen verwendet.

Tab. 1 Übersicht über verwendete Bakteriophagen.

Bakteriophage	IEP	Durchmesser [nm]	Wirtsbakterium
MS2	3,9	25	<i>Salmonella Typhimurium</i> -Stamm WG49, NCTC 1284
Q $\beta$	5,3	24	<i>Salmonella Typhimurium</i> -Stamm WG49, NCTC 1284
phiX174	6,6	27	<i>Echerischia coli</i> -Stamm WG5, DSMZ 18455

Anzucht und Nachweis erfolgten für die F-spezifischen Coliphagen MS2 und Q $\beta$  nach (ISO10705-1:1995 2001) und für den somatischen Coliphagen phiX174 nach (ISO10705-2:2000 2001), bzw. z.T. über quantitative PCR.

#### 3.2 Herstellung der Bakteriophagenlösungen

##### 3.2.1 Anzucht und Kontrolle der Wirtsstämme

###### Herstellung der Stammkulturen

Der gefriergetrocknete Inhalt einer Ampulle Wirtsstammkultur wurde in einem kleinen Volumen Trypton-Hefeextrakt-Glukose-Bouillon (TYGB) für WG 49, bzw. in Modifizierte Scholtens' Bouillon (MSB) für WG 5 gelöst. Die Suspension wurde zu 50 mL TYGB, bzw. MSB in eine 250 mL Schraubglasflasche überführt und für WG 49 für (18 $\pm$ 2) h, für WG 5 für (20 $\pm$ 4) h bei (37 $\pm$ 1) $^{\circ}$ C und (100 $\pm$ 10) rpm bebrütet. Zur Konservierung wurden 10 mL steriles Glycerin hinzugefügt, 1,25 mL-Teilvolumina auf Kryoröhrchen verteilt und bei – (70 $\pm$ 10) $^{\circ}$ C gelagert.

### **Herstellung der Arbeitskulturen**

Es wurde ein Kryoröhrchen mit Stammkultur bei Raumtemperatur aufgetaut und eine Platte McConkey-Agar so beimpft, dass Einzelkolonien erhalten wurden. Die Platten wurden bei  $(37\pm 1)^\circ\text{C}$  für WG 49 für  $(18\pm 2)$  h und für WG 5 für  $(20\pm 4)$  h bebrütet. Kulturmaterial von 3 bis 5 Laktose-positiven Kolonien wurden vom McConkey-Agar abgenommen und in 50 mL vorgewärmte TYGB, bzw. in MSB eingeimpft. Nach einer Bebrütung von  $(5\pm 1)$  h bei  $(37\pm 1)^\circ\text{C}$  ( $100\pm 10$ ) rpm wurden 10 mL steriles Glycerin hinzugefügt, 1,25 mL-Teilvolumina auf Kryoröhrchen verteilt und eingefroren.

### **Kalibrierung der Trübungsmessung**

Zur Bestimmung der Korrelation zwischen Zelldichte und Trübung für den späteren Bakteriophagennachweis wurden 50 mL vorgewärmte TYGB, bzw. MSB mit 0,5 mL einer Arbeitskulturen beimpft und 3 h für WG 49, bzw. 3,5 h für WG 5 bei  $(37\pm 1)^\circ\text{C}$  und  $(100\pm 10)$  rpm bebrütet. Alle 30 min wurde eine Trübungsmessung durchgeführt und 1 mL Probe für die Lebendzählung entnommen. Zweimal je 0,1 mL einer  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$  und  $10^{-6}$  Verdünnung wurden auf Trypton-Hefeextrakt-Glukose-Agar (TYG)-Platten ausgestrichen und bei  $(37\pm 1)^\circ\text{C}$  ( $24\pm 2$ ) h bebrütet. Aus den so ermittelten Koloniezahlen und Trübungswerten wurde die Trübung hergeleitet, die einer Zelldichte von  $10^8/\text{mL}$  entspricht. Bei der Anlage weiterer Arbeitskulturen derselben Stammkultur wurde bei vergleichbaren Messwerten nur eine Messung durchgeführt.

### **Qualitätskontrolle des Wirtstammes WG49**

Die Qualitätskontrolle wurde nach (ISO10705-1:1995 2001) durchgeführt. Sie beinhaltet die Überprüfung der Wachstumsgeschwindigkeit und der erreichbaren Zelldichte, sowie des Verhältnisses von laktose-positiven und -negativen Kolonien. Ebenfalls zu bestimmen ist die Empfindlichkeit des Wirtstammes WG49 gegenüber F-spezifischen Phagen (MS2).

#### **3.2.2 Herstellung der Bakteriophagen-Stammkulturen**

50 mL TYGB, bzw. MSB wurden mit 0,5 mL Arbeitskulturen beimpft und für WG 49 für  $(18\pm 2)$  h und für WG 5 für  $(20\pm 4)$  h bei  $(37\pm 1)^\circ\text{C}$  und  $(100\pm 10)$  rpm bebrütet. Weitere 50 mL vorgewärmte TYGB, bzw. MSB wurden mit 0,5 mL dieser Übernachtskultur beimpft und für 90 min bebrütet. Die Bakteriophagen wurden dann in einer Endkonzentration von ungefähr  $10^7$  PFU/mL für die F-spezifischen RNA-Phagen MS2 und Q $\beta$  und von ungefähr  $10^8$  PFU/mL für den somatischen Coliphagen phiX174 hinzugegeben und 4 h bis 5 h bebrütet. Verbleibende Bakterienzellen wurden im Anschluss mittels Chloroformextraktion



(5 mL) lysiert und die wässrige Phase in einem weiteren Schritt zentrifugiert. Der Überstand wurde abpipettiert und bei  $(4\pm 2)^\circ\text{C}$  gelagert.

Die Konzentration der Bakteriophagen (Tab. 2) wurde über eine dekadische Verdünnungsreihe in Peptonsalzlösung bestimmt und die Stammkultur kühl gelagert. Die Stammlösung wurde solange verwendet bis der Phagentiter absank.

Tab. 2 Konzentration der Stammlösungen von MS2 und Q $\beta$ .

Bakteriophage	Konzentration der Stammlösung
MS2	$10^{11}$ PFU/mL
Q $\beta$	$10^{10}$ PFU/mL
phiX174	$10^{10}$ PFU/mL

Die Aufreinigung der Stammlösungen erfolgte am Tag der Verwendung. Die Bakteriophagenstammlösungen wurden durch Filtration über 0,1  $\mu\text{m}$  Polyethersulfon (PES) -Spritzenvorsatzfilter (Acrodisc Supor, Pall Industries) aufgereinigt. Es folgten Filtrationen über 1.000 und 100 kDa Zentrifugaleinheiten Roti-Spin Mini-1.000 und -100 (Carl Roth). Eluiert wurde das Retentat der letzten Filtration in 0,9 % NaCl, wobei das Ausgangsvolumen beibehalten wurde. Durch diesen Schritt wurde der Eintrag von DOC, Zellbestandteilen, etc. in das Versuchsmedium weitgehend vermieden bzw. minimiert.

### 3.3 Etablierung des PCR-Nachweises der Bakteriophagen

#### 3.3.1 Primerauswahl

Für phiX174 wurden drei mögliche Primerpaare (siehe Tab. 3) aus der Literatur ausgewählt und auf ihre Eignung hin untersucht.

Tab. 3 Getestete phiX174-Primerpaare (Annealingtemperatur wurde nach (Rychlik, Spencer und Rhoads 1990) berechnet).

Quelle	Primersequenz	Annealing-temp. [ $^\circ\text{C}$ ]	Fragmentlänge [bp]	Position
(Crews, Wittwer und Gale 2008)	F: 5'-GGTTCGTC AAGGACTGGTTT-3' R: 5'-TTGAACAGCATCGGACTCAG-3'	50	110	260 - 369
(Crews, Wittwer und Gale 2008)	F: 5'-GCTTCATGACGCAGAAGTT-3' R: 5'-GCGAAAGGTCGCAAAGTAAG-3'	52	181	11 - 192
(Broyles, O'Connell und Korniewicz 2002)	F: 5'-GCTTGC GTTTATGGTACG-3' R: 5'-ATACGAAGGCGCATAACG-3'	52	1.500	558 - 2074

Eine PCR wurde mit einem Universalprogramm durchgeführt:

Zyklen	Temperatur	Zeit
1	95°C	3 min
34	94°C	30 sec
	55°C, bzw. 50°C	30 sec
	72°C	1 min 15 sec
1	72°C	10 min

Das 2%-ige Gel (1 µL/L Ethidiumbromid) wurde in 1xTAE-Puffer bei 80 mV laufen gelassen.

Aufgrund des Ergebnisses (Abb. 6) wurde das 1.500 bp-Fragment ausgeschlossen und die 110 bp- und 181 bp-Fragmente weiter getestet. Für das lange Fragment konnten keine Banden erzielt werden, was auf eine unspezifische Bindung der Primer hindeutet.

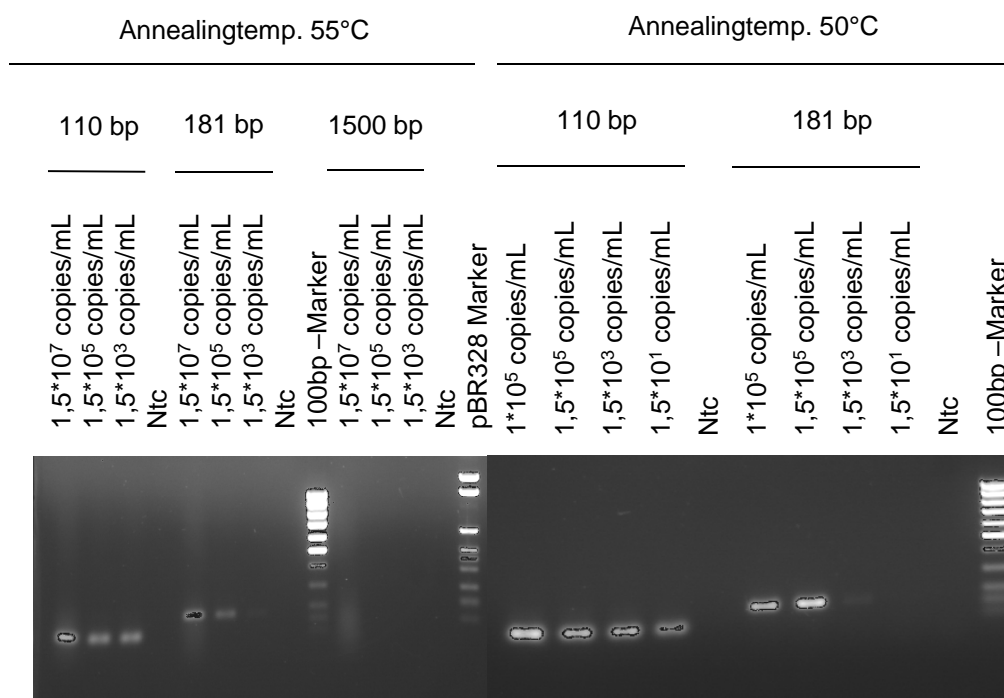


Abb. 6 Ergebnis der PCR zum Test verschiedener *phiX174*-Primerpaare auf einem 2%-ige Agarosegel.

Um eine mögliche Effizienzsteigerung bei höherer Annealingtemperatur zu erzielen, wurde die Annealingtemperatur von 55 auf 50°C variiert. Das Primerpaar für das 110 bp-Fragment erzielte bei 50°C die höchste Effizienz und wurde mittels Gradienten-PCR über einen Temperaturbereich von 50 bis 63°C genauer getestet. Es wurde eine Annealingtemperatur von 52°C gewählt.

Für MS2 stand bereits ein Primerpaar zur Verfügung. Die für die qPCR verwendeten Primerpaare sind in Tab. 4 aufgelistet.

Die jeweiligen Fragmente codieren Erbgutsequenzen auf den Genomen von MS2 und phiX174. Bei MS2 handelt es sich um das Replikaseprotein mit der Zugangsnummer AEB91402, bei phiX174 um das Reifungsprotein A mit der Zugangsnummer AAZ49075.

Tab. 4 Für den molekularbiologischen Nachweis von MS2 und phiX174 verwendete Primerpaare.

Quelle		Primersequenz	Annealing-temp. [°C]	Fragmentlänge [bp]	Position
(Crews, Wittwer und Gale 2008)	F:	5'-GGTTCGTC AAGGACTGGTTT-3'	50	110	260 - 369
	R:	5'-TTGAACAGCATCGGACTCAG-3'			
(Dreier, Stormer und Kleesiek 2005)	F:	5'-CTGGGCAATAGTCAA-3'	52	314	2717 - 3031
	R:	5'-CGTGGATCTGACATAC-3'			

Die Primer für MS2 zeigten bei einer *In silico*-Analyse mit der BLAST Nukleinsäuredatenbank eine 100% Übereinstimmung für Forward- und Revers-Primer, die Primer für phiX174 zeigten eine 100%, bzw. 90% Übereinstimmung für Forward- und Revers-Primer.

### 3.3.2 Standardherstellung

Als Standards für die qPCR wurden linearisierte Plasmide verwendet, in welche das gewünschte PCR-Produkt ligiert wurde. Eine Kalibrierung durch Vergleich mit Ergebnissen aus dem Kulturverfahren wurde nicht durchgeführt, da auf diesem Weg nur aktive Viruspartikel erfasst werden. Die Verwendung von linearisierten Plasmiden mit der ligierten Zielsequenz hat den Vorteil, dass die Plasmidstücke an den Enden des PCR-Produktes das tatsächliche Virusgenom besser simulieren als freie PCR-Produkte.

Zur Herstellung einer für Ligation und Transformation ausreichenden Menge an PCR-Produkten wurde eine PCR (Tab. 5) im Duplikat durchgeführt.

Folgendes Programm wurde verwendet:

Zyklen	Temperatur	Zeit
1	95°C	3 min
35	94°C	30 sec
	<b>52°C</b>	30 sec
	72°C	30 sec
1	72°C	10 min

Tab. 5 Mastermix der PCR zur Herstellung von PCR-Fragmenten für die Standardherstellung.

	Konz.	Mix [ $\mu$ L]	Finale Konz.
H <sub>2</sub> O		33,5	
Puffer	10x	5	1x
dNTP-Mix	je 10 mM	1	je 200 $\mu$ M
Primer A	10 pmol/ $\mu$ L	2,5	0,5 $\mu$ M
Primer B	10 pmol/ $\mu$ L	2,5	0,5 $\mu$ M
Taq Polym.	5 U/ $\mu$ L	0,5	1,25 U
Template		5	

Von den Proben wurden 100  $\mu$ L in eine Tasche eines 2%-igen Agarosegels (1  $\mu$ L/L Ethidiumbromid) gegeben und zusammen mit einem Größenstandard bei 80 mV in 1xTAE-Puffer laufen gelassen.

Die Banden mit gewünschter Produktlänge wurden auf einem UV-Tisch mit einem sterilen Skalpell aus dem Gel geschnitten und in 1,5 mL-Reaktionsgefäßen gewogen.

Die so gewonnene DNA wurde mit dem UltraClean Soil DNA Isolation Kit (MoBio) aufgereinigt, in 30  $\mu$ L eluiert und im Anschluss photometrisch vermessen (Nanometer, Implen).

Die Ligation der PCR-Produkte in den pGEM-T Vektor erfolgte durch Ansetzen des folgenden Mastermixes (Tab. 6) auf Eis.

Tab. 6 Mastermix für die Ligation der PCR-Produkte in den pGEM-T-Vektor.

	Mix [ $\mu$ L]
T4 DNA-Ligase	0,5
pGEM-T Vektor	0,5
Puffer	2,5
Probe	1,5

Pro PCR-Produkt wurden zwei Ansätze, sowie zusätzlich eine Nullkontrolle ohne Insert und eine Positivkontrolle mit Kontrollplasmid aus dem Kit angesetzt. Das Insert-Vektor-Verhältnis muss während der Ligation 3:1 betragen, um ein positives Ligationsergebnis zu erzielen. In 0,5 µL liegen 25 ng Vektor mit 3 kb vor. Die einzusetzende Menge an Insert wird über folgende Formel berechnet:

$$\frac{ng\ Insert \cdot kb\ Insert}{kb\ Vektor} = \frac{Insert}{Vektor} \cdot Verhältnis = ng\ Insert \quad (11)$$

Nach Zugabe der Probe (PCR-Produkt) wurde der Mix über Nacht bei 8°C in Kühlschrank inkubiert.

Die Transformation des pGEM-T-Vektors erfolgte in *E. coli K12 JM109*. Die Arbeiten wurden auf Eis ausgeführt. 25 µL kompetente Zellen wurden mit 1,5 µL Ligationsansatz gemischt und 20 min auf Eis inkubiert. Als Hitzeschock folgte eine Inkubation bei 42°C für 45 sec im Heizblock (BIOER), abgeschlossen mit 2 min Inkubation auf Eis. Der Ansatz wurde mit SOC-Medium auf 500 µL aufgefüllt und für 90 min bei 37°C und 600 rpm im Heizblock (BIOER) inkubiert. Zur Selektion wurden 100 µL der Proben in Duplikat auf LAXI-Platten (LB-Ampicillin-X-Gal-IPTG) ausgestrichen. Die Platten wurden für 24 h bei 37°C inkubiert.

Die hier angewendete Blau-Weiß-Selektion beruht auf dem *lacZ*-Gen welches auf dem Vektor vorhanden ist. Dieses kodiert die β-Galactosidase, welche den Zucker X-Gal spaltet (Galaktose und Indol). Es kommt so zu einer Blaufärbung der Kolonie aufgrund einer Reaktion des Spaltproduktes Indol mit Sauerstoff. Das IPTG im Agar unterstützt die Aufnahme von β-Galaktosidase. Wurde ein Insert an der Multiple Cloning Site aufgenommen, die sich im *lacZ*-Gen befindet, kann von den Zellen keine β-Galaktosidase gebildet werden, die Zellen bleiben weiß. Aufgrund eines Ampicillin-Resistenzgens auf dem Vektor können nur Zellen auf dem Agar wachsen, die einen Vektor aufgenommen haben. Zur Sicherheit wurden weiße Kolonien gepickt und erneut auf LAXI-Platten ausgestrichen und für 24 h bei 37°C inkubiert.

Die Mini-Prep zur Herstellung von Glycerinstocks wurde nach der LiCl-Methode durchgeführt. Dazu wurden 3 – 5 weiße Kolonien von den Platten gepickt und damit Reagenzgläser mit Kappen, die 5 mL LB + Ampicillin Medium enthielten, beimpft. Die Ansätze wurden bei 37°C und ca. 200 rpm über Nacht inkubiert. Am nächsten Tag wurden 2 x 1,5 mL der Kultur 30 - 60 sec. bei 10.000 x g abzentrifugiert und der Überstand abgenommen. Das Pellet wurde in 200 µL TELT und 20 µL Lysozym gelöst, 3 min bei 96°C inkubiert und im Anschluss 5 min auf Eis gekühlt. Die gelöste DNA wurde durch Zentrifugation bei maxi-

maler Geschwindigkeit von Zellbestandteilen separiert und aus dem Überstand entnommen und in ein neues 1,5 mL-Reaktionsgefäß überführt. Die DNA wurde dann erneut gereinigt, indem sie mittels 100 µL eiskaltem Isopropanol ausgefällt und erneut abzentrifugiert wurde. Nach einer weiteren Reinigung des Pellets mit kaltem 70%-igem Ethanol wurde der Überstand nach einer erneuten 3 minütigen Zentrifugation abgenommen und das Pellet mit der Ziel-DNA im offenen 1,5 mL-Reaktionsgefäß vollständig getrocknet. Durch Erhitzen auf 37°C in einem Heizblock wurde sichergestellt, dass das Ethanol, welches weitere Reaktionen hemmt, vollständig entfernt wurde. Zum Abschluss wurde die DNA in 30 mL TE-Puffer gelöst.

Zur Kontrolle der Probe wurde ein Verdau der Miniprep durchgeführt. Dazu wurde das Plasmid mit dem PCR-Produkt in der Multiple Cloning Site auf beiden Seiten des gewünschten Genfragmentes mit den Enzymen Apal und SacI geschnitten (Tab. 7). Durch die enzymatische Abtrennung des Genfragmentes aus dem Plasmid verbleiben ca. 80 bp des Plasmids am Fragment, sodass sich dessen Länge um diesen Betrag erhöht.

*Tab. 7 Ansatz für den Verdau der Miniprep.*

	<b>Mix [µL]</b>
Puffer A	1,0
DNA	3,0
H <sub>2</sub> O	5,0
Apal	0,5
SacI	0,5

Der Verdau erfolgte für 1,5 h bei 37°C, zum Abschluss wurden die Enzyme für 10 min bei 72°C denaturiert. Die korrekte Länge des Genfragmentes wurde durch Auftrennung in einem 1%-igem Agarosegel in 1x TAE-Puffer überprüft.

Kulturen mit korrekter Fragmentlänge wurden als Glycerinstocks bei -70°C unter Zugabe von 300 µL Glycerin zu 700 µL Kulturrest der Miniprep. Bei Bedarf war es so möglich, neue Standards mit demselben Klon herzustellen.

Zur Isolierung einer großen Anzahl an Plasmiden wurde eine Midiprep mit dem QIAGEN Plasmid Purification Midi Kit durchgeführt.

Dazu wurden 50 mL LB + Ampicillin Medium mit Zellmaterial der Masterplatte angeimpft und über Nacht bei 37°C und 300 rpm bebrütet. Die Zellen wurden aus je 25 mL der Kultur durch 15 minütige Zentrifugation bei 6.000 x g und 4°C geerntet. Nach Verwurf des Überstandes wurde das Pellet in 4 mL P1 Puffer gelöst, welcher durch die enthaltene

RNase störende RNA abbaut. 4 mL Puffer P2 diente der Lyse der Zellen. Eine erfolgreiche Lyse wurde nach 5 minütiger Inkubation bei Raumtemperatur durch die Zugabe von Lyse-Blue aus dem Kit überprüft. Bei gleichmäßiger Blaufärbung wurde die DNA durch Zugabe von Puffer 3 von Proteinen und Zellbruchstücken gereinigt. Dazu wurde nach vorsichtigem Invertieren und Entfärbung der Ansatz auf Eis inkubiert und in einem anschließenden Zentrifugationsschritt über 60 min bei 8.000 rpm aufgetrennt. Die DNA im Überstand wurde zur weiteren Abtrennung von großen Zellbruchstücken über mehrlagiges Mull auf die Säule aufgebracht. Die Säule wurde zuvor mit 4 mL QBT Puffer equilibriert. Die DNA auf der Säule wurde zweimal mit 10 mL QC-Puffer gewaschen und die DNA anschließend mit 5 mL QF-Puffer eluiert. Als weiterer Aufreinigungsschritt wurde die DNA mit 3,5 mL eiskaltem Isopropanol ausgefällt und für 60 min bei 5.000 x g und 4°C abzentrifugiert. Das Pellet wurde erneut mit 70%-igem kalten Ethanol gewaschen und nochmals für 30 min bei 5.000 x g und 4°C pelletiert. Nach Verwurf des Überstandes wurde das Pellet vollständig getrocknet und die Plasmid-DNA zum Abschluss in 250 µL TE-Puffer gelöst.

Zur Linearisierung des Plasmids wurde ein Verdau des Midiprep-Ansatzes durchgeführt (Tab. 8). Die Plasmidstücke an den Enden des PCR-Produktes simulieren das tatsächliche Virusgenom, sodass das Plasmid nur an einer Stelle geschnitten wird.

*Tab. 8 Ansatz für den Verdau der Midiprep.*

	<b>Mix [µL]</b>
Puffer A	10
DNA	100 (5 µg)
H <sub>2</sub> O	2,5
Apal	2,5

Der Ansatz wurde für 2 h bei 30°C inkubiert. Bei 30°C liegt das Enzym stabiler vor als bei seiner optimalen Reaktionstemperatur von 37°C, sodass eine vollständige Linearisierung aller Plasmide gewährleistet war.

Zur Aufreinigung der Plasmid-DNA von störenden Inhibitoren wurde das E.Z.N.A MicroSpin DNA Clean-Up Kit von OMEGA bio-tek verwendet. Dazu wurde dem Ansatz das dreifache Volumen an DP Puffer zugegeben und vermischt. Im Anschluss wurde das Gemisch für 1 min bei 10.000 x g über eine Säule abzentrifugiert. Der Durchfluss wurde verworfen und die Säule mit 700 µL DNA-Waschpuffer bei 1 min und 10.000 x g gewaschen. Nach vollständiger Trocknung der Säule wurde die DNA in ein 1,5 mL-Reaktionsgefäß mit 20 µL Elutionspuffer eluiert.

Die Konzentration der so erhaltenen Standards wurde mit einem Qubit Fluorometer von Invitrogen mittels eines Fluoreszenzfarbstoffes vermessen, wodurch eine mit der Messmethode der qPCR vergleichbare Genauigkeit erzielt wurde.

### **3.4 Quantitative Bakteriophagenbestimmung**

#### **3.4.1 Kulturverfahren**

##### **3.4.1.1 Impfkultur**

50 mL der jeweiligen Bouillon (TYGB oder MSB) wurden auf  $(37\pm 2)^{\circ}\text{C}$  erwärmt, mit Arbeitskultur beimpft und bei  $37^{\circ}\text{C}$  mit  $(100\pm 10)$  rpm bebrütet. WG49 wurde nach (ISO10705-1:1995 2001) in einer Konzentration zwischen  $5\cdot 10^6$  und  $3\cdot 10^7$  Kolonien/mL eingestellt, sodass nach 3 h Bebrütung eine Endkonzentration von  $7\cdot 10^7$  bis  $4\cdot 10^8$  Kolonien/mL erreicht wurde. WG5 wurde so beimpft, dass nach 3,5 h Bebrütungs-dauer eine Endkonzentration von  $1\cdot 10^8$  Kolonien/mL erreicht wurde (ISO10705-2:2000 2001). Die Konzentration wurde über die in 3.2.1 beschriebenen Trübungsmessungen bestimmt. Bei Erreichen der gewünschten Endkonzentration wurden die Impfkulturen von dem temperierten Schüttler entnommen und für die Verwendung auf Eis gestellt.

##### **3.4.1.2 Standardverfahren**

Der jeweilige Weichagar wurde zu je 2,5 mL-Teilvolumina auf Zentrifugenröhrchen verteilt und bis zum Probenansatz in einem Heizblock bei  $(45\pm 1)^{\circ}\text{C}$  gelagert. Unter der Sterilbank wurde 1 mL der Probe bzw. der Verdünnung im Doppelansatz in die Zentrifugenröhrchen mit dem vorgelegten Weichagar gegeben. Nach Zugabe von 1 mL der jeweiligen Impfkultur wurde die Mischung stark geschüttelt, der Inhalt über die Oberfläche einer 9 cm TYGA- bzw. MSA-Platte gegossen und gleichmäßig darauf verteilt. Die Platten wurden bei  $(37\pm 2)^{\circ}\text{C}$  für  $(18\pm 2)$  h bebrütet.

##### **3.4.1.3 Proben mit geringen Phagenkonzentrationen**

Für 10 mL Untersuchungsvolumen wurde das Standardverfahren angewandt, indem je zwei Mal 10 mL ssTYGA, bzw. ssMSA, 1 mL Impfkultur und 5 mL Probe angesetzt und auf einer 14 cm Petrischale TYGA, bzw. MSA verteilt wurden.

Bei einem Untersuchungsvolumen von 100 mL wurde ebenfalls das Standardverfahren angewandt, wobei jedoch 50 mL doppeltkonzentrierter ssTYGA, bzw. ssMSA mit 100 mL auf  $37^{\circ}\text{C}$  vorgewärmter Probe und 10 mL Impfkultur vermischt und gleichmäßig auf zehn 14 cm Petrischalen TYGA, bzw. MSA verteilt wurde.



#### **3.4.1.4 Auswertung und Qualitätssicherung**

Die Anzahl der Plaques auf jeder Platte wurden innerhalb von 4 h nach Beendigung der Inkubation ausgezählt. Ausgewertet wurden Platten mit einer Plaqueanzahl zwischen 20 und 300 für F-spezifische Phagen und zwischen 20 und 150 für somatische Phagen.

Die Berechnung der Phagenkonzentration in PFU/mL erfolgte nach (ISO8199:2005 2007).

Zu jedem Ansatz wurden eine Negativkontrolle und eine Positivkontrolle MS2 bzw. phiX174 mitgeführt, bei welcher 100 PFU/mL Phagenstandard angesetzt wurden. Für jeden Agar wurde pro hergestellter Charge eine Sterilkontrolle und eine Funktionskontrolle mit den Wirtsstämmen durchgeführt.

#### **3.4.2 Quantitative PCR**

##### **3.4.2.1 Extraktion**

Die Extraktion wurde mit dem ViralXpress Kit von Millipore durchgeführt, da mit diesem Kit sowohl DNA als auch RNA extrahiert wird.

Zuvor wurde 1 mL der Probe mit den Zentrifugaleinheiten Roti-Spin Mini-30 (Carl Roth) mit einem Cut-Off von 30 MWCO bei maximal 14.000 x g (Hettich Zentrifugen) aufkonzentriert. Gemäß Herstellerprotokoll wurde die Extraktionslösung vor Gebrauch bei Raumtemperatur aufgeschmolzen. In einem 1,5 mL-Reaktionsgefäß wurden 50 µL Probe mit 200 µL Extraktionslösung gemischt und 5 min inkubiert. Zur Aufreinigung der DNA wurde nach der Ausfällung der Proben-DNA durch Zugabe von 250 µL Isopropanol die Mischung 10 sec stark geschüttelt und im Anschluss 10 min bei 16.000xg (Hettich Zentrifugen) für 10 min zentrifugiert. Der Überstand wurde verworfen und die pelletierte DNA mit 400 µL eiskaltem 70%-igem Ethanol erneut gewaschen. Nach weiterem Zentrifugieren (16.000xg für 10 min) wurde der Überstand verworfen und das Pellet bei 34°C im Thermoblock für 45 min getrocknet. Abschließend wurde das Pellet in 50 µL PCR-Wasser resuspendiert. Bei der Bestimmung von MS2 wurde am selben Tag die cDNA-Synthese durchgeführt, um eine Schädigung der RNA zu vermeiden. Das extrahierte, bzw. synthetisierte Material wurde bis zum qPCR-Nachweis bei -18°C gelagert.

##### **3.4.2.2 cDNA-Synthese**

Die cDNA-Synthese wurde mit dem DyNAmo cDNA Synthesis Kit für qPCR von Finnzymes gemäß Herstellerprotokoll (Tab. 9) in 0,2 mL PCR-Gefäßen durchgeführt.

Tab. 9 Mastermix der cDNA-Synthese.

	Mix [ $\mu\text{L}$ ]
RT Puffer	10
PCR Wasser	3
M-MuLV RNase H+ Rev. Transkriptase	2
Random Hexamer	1
Probe aus Extraktion	4

Der Ansatz wurde in PCR-Cyclern (Biometra) nach folgendem Protokoll durchgeführt:

Zyklen	Temperatur	Zeit
1	25°C	10 min
1	37°C	30 min
1	85°C	5 min
1	4°C	

Die Ansätze wurden bis zur Verwendung bei -18°C gelagert.

### 3.4.2.3 Quantitative PCR (qPCR)

Die qPCR wurde mit dem Fluoreszenzfarbstoff SYBRGreen I durchgeführt. SYBRGreen I ist ein Farbstoff, der in doppelsträngige DNA unspezifisch interkaliert und bei Anregung mit blauem Licht grünes Licht mit einer Wellenlänge von ca. 530 nm emittiert. Während die Fluoreszenz im ungebundenen Zustand niedrig ist, steigt sie mit zunehmender Amplifizierung der PCR-Produkte und somit mit der Bindung in doppelsträngige DNA proportional an.

Es wurde das SensiMix No-ROX Kit von Bioline verwendet, welches vom Gerätehersteller empfohlen wurde.

Folgender Mastermix wurde angesetzt:

Tab. 10 Mastermix der qPCR-Ansätze.

	Mix [ $\mu\text{L}$ ]
PRC Wasser	8,5
SensiMix No-ROX	12,5
Primer forward	2
Primer reverse	2
Probe	2

Die qPCR wurde im qPCR-Cycler Rotor-Gene-3000 von Corbett durchgeführt. 36 Proben können in einen Rotor eingespannt werden, welcher sich mit 500 – 1.000 rpm dreht. Dies ermöglicht ein effektives und gleichbleibendes Aufheizen und Abkühlen, sodass es zwischen den Proben nicht zu Temperaturunterschieden kommt und somit auf eine interne Kontrolle verzichtet werden kann.

Eingesetzt wurden die in Tab. 4 beschriebenen Primer mit den jeweiligen Annealing-Temperaturen.

Bei den qPCR-Läufen wurde für MS2 folgendes Protokoll eingehalten:

Zyklen	Temperatur	Zeit
1	95°C	15 min
45	94°C	15 sec
	50°C	30 sec
	72°C	30 sec
1	55°C-99°C	Melt

und für phiX174 nachstehendes Protokoll:

Zyklen	Temperatur	Zeit
1	95°C	15 min
45	94°C	20 sec
	52°C	20 sec
	72°C	20 sec
1	55°C-99°C	Melt

Die Messwerte wurden mit der Gerätesoftware Rotor-Gene 6000 Series Software 1.7 von Corbett ausgewertet.

#### 3.4.2.4 Validierung der qPCR-Läufe

Alle Proben wurden mindestens als technische Duplikate vermessen. Eine doppelte "No template control" (NTC) wurde in jedem Lauf integriert, um Puffer und eingesetzte Lösungen auf DNA-Kontaminationen zu überprüfen und Primerdimere auszuschließen. Die Standard-Stammlösungen wurden als 1:10 Verdünnungen zur Erstellung der Standardkurvenreihe eingesetzt. Die Standards wurden in jedem Lauf mitgeführt und entsprachen den in der qPCR amplifizierten DNA-Fragmenten.

Idealerweise ergibt die Verdünnungsreihe der eingesetzten Standards gleichmäßig verteilte Amplifizierungskurven mit eng zusammenliegenden technischen Replikaten (siehe Abb.

7). Gleichmäßig verteilte Kurven ergeben eine lineare Standardkurve mit dem Ziel einer 90%- 100% Reaktionseffizienz.

Der ideale Bereich des Bestimmtheitsmaßes für ein lineares Regressionsmodell liegt mathematisch bei  $1,00 < R^2 < 0,99$ . Der R oder  $R^2$ -Wert der Standardkurve gibt somit an, wie gut die experimentellen Daten der Regressionsgeraden entsprechen. Die Linearität ist ein Maß für die Variabilität zwischen Probenreplikaten und dafür, ob die Amplifikationseffizienz für verschiedene Ausgangskonzentrationen an Kopien in der Probe gleich ist.

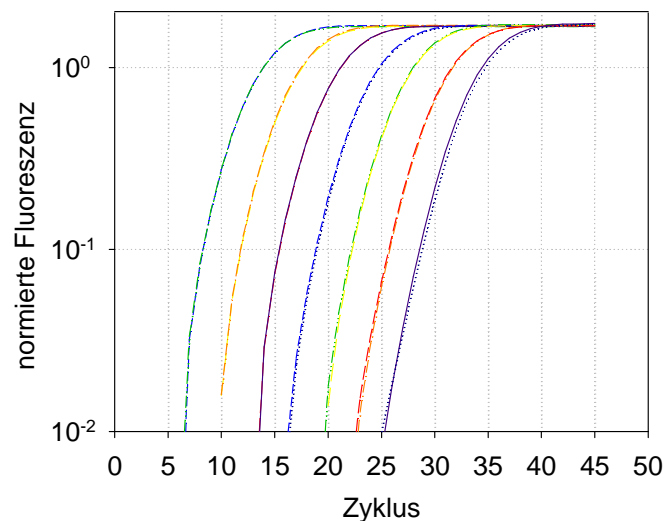


Abb. 7 Beispiel einer 1:10 Verdünnungsreihe von *phiX174* Standards, Konzentrationen in copies/reaction.

Es wurde nur Läufe ausgewertet, die entsprechend (Taylor, et al. 2010) ein Bestimmtheitsmaß von  $0,99 < R^2 < 1,01$  aufwiesen (siehe Abb. 8). Proben, die außerhalb des Standardkurvenbereichs lagen wurden nicht ausgewertet.

Die Spezifität der Reaktion wurde anhand einer PCR-Produkt-Analyse überprüft. Diese Schmelzkurvenanalyse fand am Ende jedes Laufes statt, wobei die Temperatur von 55°C auf 99°C schrittweise erhöht wurde. Es konnte damit die Spezifität der Primeranlagerung bestätigt werden. Die Schmelzkurve sollte einen einzelnen scharfen Peak aufzeigen (siehe Abb. 9).

Für Veröffentlichungen von qPCR-Ergebnissen wurde ein Standard eingeführt, um die Qualität der Veröffentlichungen zu gewährleisten und abschätzen zu können. Diese „Minimalen Informationen für die Publikation von quantitativen Real-Time PCR Experimenten (MIQE)“ sind im Anhang aufgelistet.

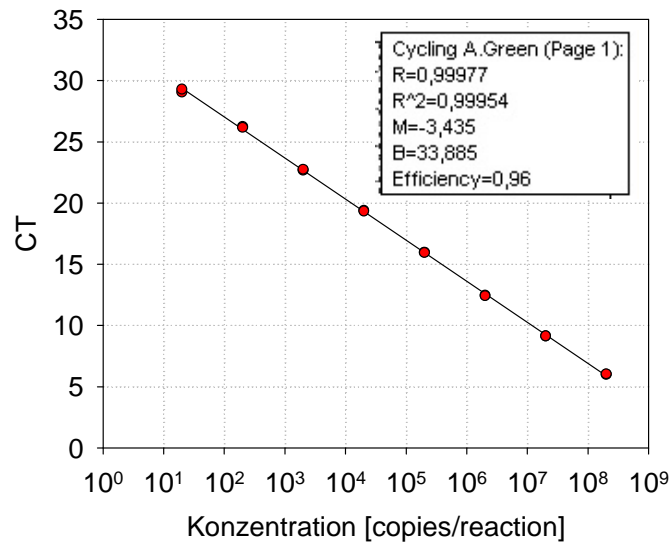


Abb. 8 Beispiel einer akzeptierten Regressionsgeraden eines q-PCR-Laufes.

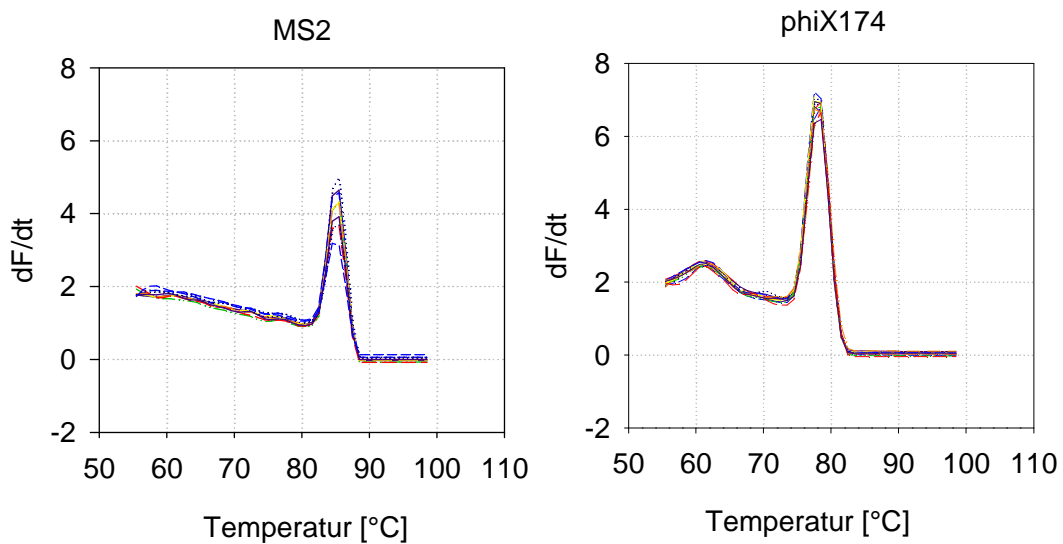


Abb. 9 Beispiele für Schmelzkurvenverläufe von qPCR-Läufen mit MS2 und phiX174.

Die Bestimmungsgrenze lag bei den Messungen bei ca. 5 copies/mL, die Nachweisgrenze bei 10 copies/mL. Daraus ergibt sich mit der Aufkonzentrierung zu Beginn der Probenaufarbeitung und den anschließenden Verdünnungseffekten bei Extraktion und cDNA-Synthese eine in der Originalprobe minimal bestimmbare Konzentration von 625 copies/mL für MS2 und 125 copies/mL für phiX174.

### 3.5 Charakterisierung der Bakteriophagen mittels dynam. Lichtstreuung

Zur Bestimmung des hydrodynamischen Radius ( $R_H$ ) und der elektroforetischen Mobilität ( $U$ ) der Bakteriophagen wurden ein Zetasizer Nano ZS von Malvern und die dazugehörigen Messküvetten verwendet. Die Partikelgröße wird durch die Messung der Brown'schen Bewegung mittels dynamischer Lichtstreuung (DLS) ermittelt. Das Zetapotential oder die elektroforetische Mobilität (Geschwindigkeit pro Einheit Feldstärke) wird über die Kombination von Elektrophorese und Laser-Doppler-Velocimetrie bestimmt. Dabei müssen Dielektrizitätskonstante und Viskosität der Probe bekannt sein. Gemessen wird die Geschwindigkeit, mit der sich ein Partikel in der Flüssigkeit bewegt, wenn ein elektrisches Feld angelegt wird.

Die Mobilität wurde mit der Smoluchowski-Gleichung berechnet, die vor allem für Partikel gilt, die größer als die Doppelschichtdicke sind ( $\kappa r \gg 1$ ) sind, mit der reziproken Doppelschichtdicke  $\kappa$  und dem Kugelradius  $r$ .

$$U = \frac{\varepsilon \xi}{\mu} \quad (12)$$

- $\varepsilon$  Dielektrizitätskonstante [As/Vm]
- $\xi$  Potential der Scherfläche [V]
- $\eta$  Viskosität [ $N \cdot s \cdot m^{-2}$ ]

Zur Herstellung einer Blindprobe wurden die Nährmedien MSB und TYGB mit den jeweiligen Wirtsbakterien jedoch ohne Bakteriophagen beimpft und entsprechend der Vorschrift inkubiert. Im Anschluss folgte wie bei der Phagenherstellung ein Chloroformextraktionsschritt. Alle verwendeten Gefäße und Geräte wurden vor der Benutzung fünfmal mit partikelfreiem Wasser gespült.

Die Aufreinigung sowohl der Stammlösungen von MS2 und phiX174 als auch der Blindproben erfolgte am Tag der Messung entsprechend dem Protokoll (siehe 3.2.2). Eluiert wurde das Retentat der letzten Filtration in partikelfreiem Reinstwasser (arium 611, Sartorius), wobei das Ausgangsvolumen beibehalten wurde. In einer Mischprobe der jeweiligen Probe wurde ggf. mit 0,1 M HCl (EMSURE® ACS, Iso, Reag. Ph Eur, 37%, Merck KGaA) der pH-Wert eingestellt und im Anschluss in sterilen 15 mL Zentrifugenröhrchen 3,5 mL der Proben mit 3,5 ml partikelfreiem Wasser versetzt. Zur Bestimmung des Einflusses von Polyaluminiumchlorid (PACl) auf die einzelnen Proben wurden diese unmittelbar vor der Messung zum Teil mit 0,037 – 0,37 mmolAl/L PACl dotiert und stark geschüttelt.

Jeweils 1 mL der Proben wurde zur Messung mit sterilen Einwegspritzen, die zuvor mit partikelfreiem Wasser gespült wurden, blasenfrei in die jeweiligen Messküvetten eingefüllt.

Eine Probe partikelfreies Wasser wurde immer mitgemessen. Jede Probe wurde als Duplikat gemessen und die Messwerte jedes Duplikats als Dreifachmessung ermittelt. Jede Messung beinhaltete 10 Messpunkte. Die Messungen wurden mit der Malvern Zetasizer Software ausgewertet. Für die Bestimmung der Partikelgröße wurden die Ergebnisse als Number Mean [nm] verwendet.

### **3.6 Nachweis von Nanopartikeln und Bakteriophagen mittels LIBD**

#### **3.6.1 Aufbau**

Die Laser-induzierte Breakdown-Detektion (LIBD) dient zur Bestimmung von kolloidal gelösten Teilchen in Flüssigkeiten und der Quantifizierung und Größencharakterisierung von partikulären Wasserinhaltsstoffen im Nanometerbereich (20 – 500 nm).

Als Laser wurde ein gepulster, blitzlichtgepumpter Nd:YAG- Festkörperlaser Quantel Ultra (Quantel USA (Big Sky Laser Technologies)) verwendet. Als Lasermedium dient hier ein Y-Al-Granat ( $Y_3Al_5O_{12}$ ), der typischerweise zu etwa 1% mit Nd dotiert ist. Die Pulsrate beträgt 20 Hz und die vom Hersteller angegebene Pulsbreite (Halbwertsbreite FWHM der Einhüllenden) ist 7,11 ns bei einer Divergenz von 1,29 mrad. Die verwendete Wellenlänge liegt bei 532 nm und als vom Laser erzeugte Leistung wurden, wie vom Hersteller angegeben (Quantel USA, Big Sky Laser Technologies), etwa 140 mW gemessen.

Nach dem Austritt aus dem Laser passiert der Laserstrahl mehrere optische Vorrichtungen. Dabei erfolgt eine Charakterisierung des räumlichen Strahlenprofils, die Energieregulierung und eine Pulsenergiemessung über einen pyroelektrischen Detektor (BFI Optilas, PE 10A-532-20). Im Anschluss wird der Hauptteil des Laserstrahles durch eine Bi-Konkav-Linse (Qioptiq, G3113-337-000) und eine Bi-Konvex-Linse (Qioptiq, G311-322-000) mit je einer Brennweite von  $f=50$  mm in einer statischen oder durchflossenen Quarzglasküvette fokussiert.

Wenn genügend Probenvolumen zur Verfügung steht, sind Durchflussmessungen zu bevorzugen, da so die Flüssigkeit im Fokusvolumen zwischen zwei Laserpulsen ausgetauscht werden kann. Durch den Austausch des Probenvolumens in der Küvette lassen sich photoneninduzierte chemische Reaktionen vermeiden. Auch Messungenauigkeiten

durch bei der Plasmaexpansion entstehende Gasblasen lassen sich so ausschließen (Walther, et al. 2002).

Zur Auswertung der LIBD-Messungen ist neben der durch den pyroelektrischen Detektor gemessenen Laserpulsenergie auch das durch die Plasmaerzeugung induzierte, akustische Signal von entscheidender Bedeutung (Abb. 10). Die bei der Plasmaerzeugung entstehenden akustischen Messsignale werden von einem Piezodetektor (Dittel) gemessen und an den Computer weitergeleitet. Das Strahlenprofil des aus der Messküvette austretenden Laserstrahls wird erneut charakterisiert. Die Auswertung der Messergebnisse erfolgt über ein *auf LabView<sup>TM</sup>* basierendes Programm. Eine genaue Beschreibung des Aufbaus ist in (Blinn 2012) gegeben. Eine Übersicht der verbauten Komponenten findet sich im Anhang (8.5).

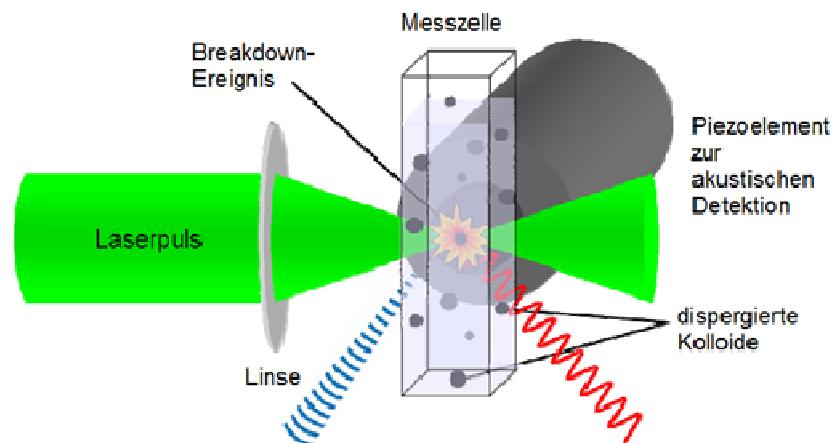


Abb. 10 Grundlegendes Prinzip der LIBD mit in der Messzelle fokussiertem Laserstrahl (T. Bundschuh 1999).

### 3.6.2 Energiekurven

Mit Hilfe der LIBD lässt sich die Breakdown-Wahrscheinlichkeit in Abhängigkeit der aufbrachten Laserpulsenergie messen. Die Energie wird hierbei schrittweise erhöht und die Breakdown-Ereignisse mittels eines Piezodetektors gemessen. Die Auftragung der Breakdown-Wahrscheinlichkeit gegen die Laserpulsenergie führt zu einem typischen sigmoidalen Kurvenverlauf, wie er in Abb. 11 dargestellt ist. Aus der sich so ergebenden sogenannten *S-curve* oder *Energiekurve* lassen sich Informationen hinsichtlich der Größe und Konzentration der in der Probe vorhandenen Kolloide gewinnen.



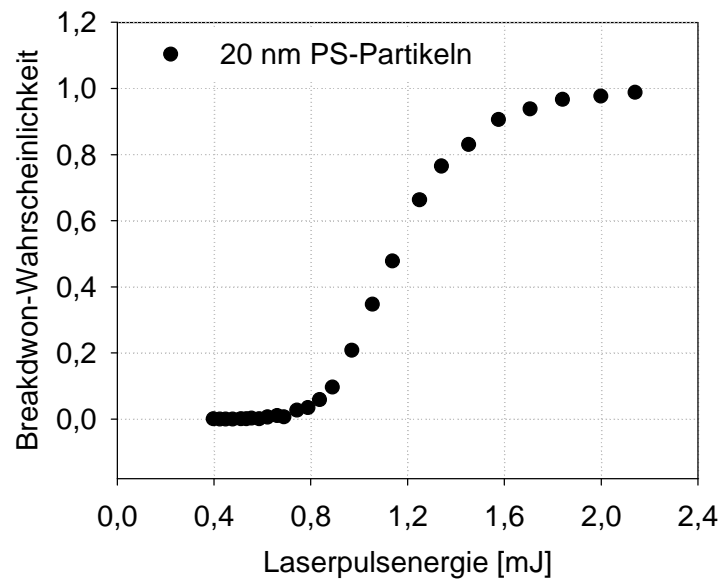


Abb. 11 Energiekurve (BDP als Funktion der Laserpulseenergie) von 20 nm Polystyrol-Partikeln.

Je nach erforderlicher Genauigkeit der Messungen wird eine unterschiedliche Anzahl von Laserschüssen (etwa 1.000 - 5.000) aufaddiert. Die Laserpulseenergie wird in vorgegebenen Schrittweiten erhöht. Die Breakdown-Wahrscheinlichkeit wird dann als Verhältnis zwischen der Anzahl der Piezosignale und der Anzahl der Laserpulse berechnet (als Funktion der mittleren Laserpulseenergie).

Je größer die Kolloide in einer Probe sind, umso deutlicher verschiebt sich die Messkurve auf der x-Achse in Richtung Ursprung, d.h. zu geringeren Energien. Der Wert, ab dem die Energiekurve zu steigen beginnt (Breakdown-Schwelle), ist in erster Näherung nur größenabhängig (solange die statistische Wahrscheinlichkeit, dass sich ein Partikel im Fokusbereich befindet, groß genug ist). Die Konzentration der in der Probe gemessenen Partikel äußert sich in der Steigung der Kurven. Diese ist sowohl größen- als auch konzentrationsabhängig. Aus dem Verlauf der Energiekurve lässt sich somit für multimodale Suspensionen eine diskrete Partikelgrößenverteilung ableiten.

### 3.6.3 Berechnung der Konzentration aus den Messwerten

Um aus den erhaltenen Messdaten die Anzahl- bzw. Massenkonzentration (bei bekannter Dichte) der sich in einer Probe befindenden Partikel zu berechnen, muss die Anlage zunächst kalibriert werden. Die Kalibrierung wurde mit Polystyrol (PS)- Referenzpartikeln unterschiedlich definierter Größen (Größenbereich 20 - 500 nm) durchgeführt. Die Ener-

giekurven für monomodale Suspensionen lassen sich durch das halb-empirische Modell (Kim 2007).

$$BDP(E) = 1 - \left\{ (1 + K(E - E_t)) - \frac{1}{2}(K(E - E_t))^2 + \frac{1}{6}(K(E - E_t))^3 \right\} \exp[-K(E - E_t)] \quad (13)$$

beschreiben. Dabei ist  $E_t$  die bestimmte, von der Konzentration unabhängige Breakdown-Schwelle der jeweiligen Partikelgröße. Die Konzentration wird durch die Konstante  $K$  beschrieben.  $BDP(E)$  bezeichnet die Breakdown-Wahrscheinlichkeit bei einer bestimmten Laserpulsenergie  $E$ . Bei Kenntnis der konstanten Breakdown-Schwelle  $E_t$  lässt sich aus den Messwerten der Breakdown-Wahrscheinlichkeiten BDP bei bestimmten Laserpulsenergien  $E$  die jeweilige Konstante  $K$  berechnen. Eine Auftragung der so ermittelten Werte  $K$  gegen die bekannten Konzentrationen der Kalibrierproben ergibt einen Kurvenverlauf wie er in Abb. 12 dargestellt ist.

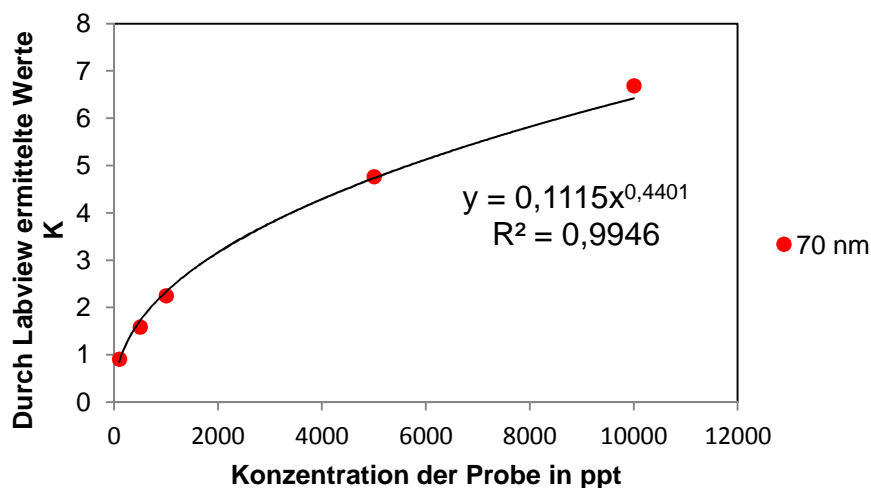


Abb. 12 Auftragung der bei Messungen mit bekannten Konzentrationen ermittelten Konstanten  $K$  gegen die bekannten Konzentrationen der jeweiligen Proben und dazugehörige Regressionskurve am Beispiel von 70 nm Polystyrol-Partikeln (Tröster 2011).

Der potentielle Kurvenverlauf der Regressionskurve stimmt für alle kalibrierten Größen überein und hat die Form:

$$K = m \cdot c^n \quad (14)$$

Die Parameter  $m$  und  $n$  sind für die jeweiligen Partikelgrößen durch die aus den Kalibrierungsmessungen erhaltenen Regressionskurven bekannt. Bei Proben unbekannter Konzentration lässt sich durch Gleichung (14) aus (Abb. 12) die Massenkonzentration  $c$  der Probe in ppt bzw. ng/L berechnen. Die Umrechnung in Anzahlkonzentrationen erfolgt über die Dichte und mit der Annahme kugelförmiger Partikeln.

Multimodale Suspensionen lassen sich analog dazu durch

$$BDP_i = 1 - \prod_{i=1}^n \left\{ \left( 1 + K^i(E - E_t^i) \right) - \frac{1}{2} \left( K^i(E - E_t^i) \right)^2 + \frac{1}{6} \left( K^i(E - E_t^i) \right)^3 \right\} \exp[-K^i(E - E_t^i)] \quad (15)$$

bestimmen (Kim 2007).

### 3.6.4 Eingesetzte Polystyrolpartikeln und Durchführung der Messungen

Bei den für LIBD-Messungen eingesetzten Partikeln handelt es sich um monodisperse, sphärische Polystyrol (PS) -Partikeln (Nanosphere™) der Firma *Duke Scientific Corporation*. Sie weisen eine Dichte von 1,05 g/mL und einen Brechungsindex von 1,5900 (bei 25°C und 589 nm) auf. Es wurden Partikeln mit 20 und 30 nm Durchmesser verwendet.

Ausgehend von einer 20 nm PS-Standardlösung der Firma *Duke Scientific Corporation* wurde eine Stammlösung von 20 nm PS-Partikeln mit einer Konzentration von 10 µg/L erstellt und dekadische Verdünnungsreihen in Reinstwasser (Arium 611, *Sartorius*) ange-setzt. Die einzelnen Verdünnungsstufen wurden mittels LIBD gemessen. Die Verdünnungen und Messungen erfolgten in Perfluoralkoxy-Polymer (PFA)-Messkolben (500 mL) der Firma *VITLAB®*. Dadurch wurde eine Adsorption der Partikeln an der Gefäßwand weitestgehend vermieden.

Zum Nachweis von Partikeln durch Laser-induzierte Breakdown-Detektion wurden verschiedene Versuche mit PS-Partikeln und Bakteriophagen durchgeführt. Die Laserpulsenergie wurde schrittweise erhöht und bei jeder Laserpulsenergie wurden die Ergebnisse von 1500 Laserschüsse aufaddiert. Vor dem Start einer Messung kann die maximale Anzahl an Messpunkten, die maximale BDP, die Anzahl an Laserschüssen pro Laserpulsenergie und die Schrittweite eingestellt werden. Nur die Schrittweite kann während einer Messung verändert werden. Die Messung wurde automatisch beendet, sobald 100 Messpunkte erreicht wurden, die Breakdown- Wahrscheinlichkeit einen Wert von  $BDP=0,99$  überschritt oder die maximale Laserpulsenergie des Lasers erreicht wurde.

### 3.7 Eingesetzte Wässer für labor- und halbertechnische Versuche

Die für die Versuche eingesetzten Wässer sind in Tab. 11 aufgelistet. Sie können in zwei verschiedene Gruppen aufgeteilt werden. Wasser 0 und Wasser 1 sind aufbereitete Grundwässer, Wasser 2 und 3 sind unbehandelte Rohwässer von Talsperren. Wasser 0 ist Grundwasser, welches über eine Enteisenung und Entmanganung mittels Belüftung und anschließender Filtration über einen Mehrschichtfilter aufbereitet wird. Trotz der vorangegangenen Aufbereitung ist dieses Wasser durch einen relativ hohen spektralen Absorptionskoeffizienten bei 254 nm (SAK-254) charakterisiert. Wasser 1 ist ebenfalls Grundwasser, welches durch Enteisenung- und Entmanganung (Belüftung und anschließender Filtration über einen Mehrschichtfilter) aufgereinigt wurde. Um die Wasserhärte zu reduzieren, wurde diesem Wasser im Verhältnis 1+1 dest. Wasser zugegeben. Der SAK-254 liegt mit 0,8 1/m deutlich unter dem Wert von Wasser 0.

Tab. 11 Für die Versuche verwendete Testwässer.

	Wasser 0 Betriebswasser (+Phagen)	Wasser 1 Modellwasser (+Phagen)	Wasser 2 Talsperre A (+Phagen)	Wasser 3 Talsperre B (+Phagen)
pH	7,46 ±0,11 (7,8 ±0,12)	7,15 ±0,11 (7,64 ±0,11)	6,85 ±0,17 (6,95 ±0,19)	7,48 ±0,17 (7,7 ±0,04)
Leitfähigkeit 25°C [mS/m]	121 ±0,5 (123 ±0,4)	38,4 ±0,2 (38,6 ±0,3)	4,9 ±0,5 (6,2 ±1,5)	15 ±0,2 (15,3 ±0,1)
Trübung [FNU]	0,07 ±0,02 (0,09 ±0,01)	0,08 ±0,02 (0,09 ±0,03)	0,27 ±0,14 (0,44 ±0,25)	0,70 ±0,28 (0,96 ±0,06)
DOC [mg/L]	2,20 ±0,15 (2,40 ±0,24)	0,61 ±0,13 (0,70 ±0,26)	1,57 ±0,32 (1,80 ±0,42)	2,28 ±0,13 (2,45 ±0,07)
SAK-254 [1/m]	4,1 ±0,1 (4,2 ±0,2)	0,8 ±0,1 (1,0 ±0,3)	6,8 ±0,3 (7,4 ±0,2)	7,0 ±0,2 (7,3 ±0,2)
SAK-436 [1/m]	<0,1 (<0,1)	<0,1 (<0,1)	0,3 ±0,1 (0,4 ±0,1)	0,4 ±0,1 (0,4 ±0,1)

Die Talsperrenwässer weisen mit einem SAK-254 von 7,0 1/m eine höhere Konzentration organischer Substanzen auf. Diese setzen sich aus verschiedenen gelösten organischen Inhaltsstoffen, Kolloiden und Huminsäuren zusammen.

### 3.8 Flockungsversuche

#### 3.8.1 Laborversuche

##### 3.8.1.1 Versuchsziel

Die Flockungsversuche im Labormaßstab sollten Erkenntnisse über den Einfluss folgender Parameter (Tab. 12) auf die Reduktion von MS2 und phiX174 durch Flockung liefern.

Tab. 12 Untersuchte Flockungsparameter.

Faktor	Parameterbereich
Polyaluminiumchlorid; Eisenchlorid	1, 5 und 10 mg/L
Flockungs-pH	pH 5 – pH 8 Für FeCl <sub>3</sub>
Wasserqualität	SAK-254: 0,8; 6,8; 7,0 Trübung: <0,1; 0,3; 0,7
Rührdauer	0 – 30 min
MS2 vs. phiX174	Einzel- und Mischversuche
Anzahl Phagen	10 <sup>4</sup> PFU/mL und 10 <sup>7</sup> - 10 <sup>8</sup> PFU/mL

### 3.8.1.2 Experimenteller Aufbau der Flockungsanlage

Die Flockungsversuche wurden mit dem Jartester Flocculator SW6 von Stuart (Abb. 13) in 1 L Bechergläsern durchgeführt. 500 mL des dotierten Testwassers wurden in ein Becherglas gegeben.



Abb. 13 Flocculator SW6 zur Durchführung der Flockungsversuche.

Das Flockungsprotokoll wurde angelehnt an das Technische Arbeitsblatt W218 (T. R. DVGW 1998) zu Flockungstestverfahren:

Phase	Rührgeschwindigkeit	Scherrate $\bar{G}$	Zeit
Rührphasen	250 rpm	550 1/sec	1 min
	50 rpm	60 1/sec	5 min
	25 rpm	30 1/sec	10 min
Sedimentation	0 rpm	0 1/sec	30 min

### 3.8.1.3 Versuchsdurchführung

Für die Flockungsversuche im Labormaßstab wurden die Bakteriophagenstammlösungen am Tag der Versuchsdurchführung aufgereinigt. Dazu wurde die Lösung zunächst über einen 0,1 mm Spritzenvorsatzfilter (Acrodisc Supor, Pall Industries) filtriert. Es folgte eine Filtration über die 1.000 und 100 kDa Zentrifugaleinheiten Roti-Spin Mini-1.000 und -100 (Carl Roth), wobei die Phagen als Retentat der letzten Filtration entsprechend dem Ausgangsvolumen der Probe in 0,95% iger NaCl-Lösung eluiert wurden.

Die jeweiligen Testwässer wurden mit den aufgereinigten Phagenstammlösungen dotiert, wobei i.d.R. 1 mL Stammlösung auf 1 L Wasser gegeben wurde. Es ergaben sich somit Konzentrationen von  $10^8$  PFU/mL für MS2 und  $10^7$  PFU/mL für phiX174.

Die Flockungsversuche wurden mit zwei verschiedenen Flockungsmitteln durchgeführt. Das eingesetzte Eisen(III)-chlorid-Hexahydrat ( $\text{FeCl}_3$ , p.a., Carl Roth GmbH + Co. KG) hatte eine Konzentration von 40 gFe/L. Das eingesetzte Polyaluminiumchlorid (PACl) (Sachtoklar 39, Sachtleben) wies die allgemeine Formel  $\text{Al}_n(\text{OH})_m\text{Cl}_{3n-m}$  auf. Bei einem Gehalt an basischem Aluminium von 20-40 % und einer Basizität von  $B=2,8$  wurde eine Konzentration von 116 mgAl/L in der Stammlösung gemessen.

Die pH-Wert Korrektur wurde mit 0,1 M HCl (EMSURE<sup>®</sup> ACS, Iso, Reag. Ph Eur, 37%, Merck KGaA) und 0,1 M NaOH (EMSURE<sup>®</sup> Iso, Merck KGaA) durchgeführt, um die in der Praxis typischen Flockungs-pH-Werte von pH 6,5 für  $\text{FeCl}_3$ , sowie pH 6,7 für PACl einzuhalten. Dabei erfolgte die Zugabe des in Vorversuchen ermittelten Säure- oder Laugenvolumens gleichzeitig mit dem Flockungsmittel und wurde während des Versuchsverlaufes überwacht und korrigiert.

Nach der Sedimentationsphase wurde mit einer 50 mL Einwegspritze eine Teilmenge des Überstandes entnommen und über einen 0,45  $\mu\text{m}$  PES Spritzenvorsatzfilter (Acrodisc Supor, Pall Industries) gefiltert. Dieser Schritt entspricht der großtechnischen Variante eines gut eingefahrenen Schnellsandfilters zur Flockenabtrennung nach der Flockung.

Bei jeder Flockung wurden in den filtrierten Proben neben der Phagenkonzentration als Begleitparameter die Trübung, SAK-254, SAK-436, sowie die Restkonzentration an Flockungsmittel gemessen, um die Güte der Flockung beurteilen zu können.

Zur Bilanzierung wurden die abgesetzten Flocken durch 5 minütiges Rühren bei 250 rpm mechanisch zerstört und aus dieser Suspension eine weitere Probe zur Bestimmung der Phagenkonzentration entnommen. Vor der Bestimmung der Phagenkonzentration mittels Kulturverfahren wurde die Probe erneut stark aufgeschüttelt. Bei der Bestimmung der Phagenkonzentration durch qPCR wurde die Probe für 10 min im Ultraschallbad behandelt und im Anschluss in einer Verdünnung von 1:10 und 1:100 in die Extraktion eingesetzt. Dadurch wäre eine mögliche Inhibierung der qPCR-Methode durch das vorhandene Flockungsmittel zu erkennen.

Die Ergebnisse der Flockungsversuche wurden, wenn nicht anders angegeben, als Rückhalt (log removal value (*LRV*)) aufgetragen, welcher wie folgt berechnet wurde:

$$LRV = -\log_{10}\left(\frac{c}{c_0}\right) = \log_{10}\left(\frac{c_0}{c}\right) \quad (16)$$

$c$  Phagenkonzentration im filtrierten Überstand des Flockungsansatzes

$c_0$  Dosierte Phagenkonzentration vor dem Flockungsversuch

Der Verlust an Bakteriophagen durch Inaktivierung aufgrund von Versuchsparametern wurde durch Bilanzierung erfasst:

$c_0 = c + c_{Fl}$  mit  $c_{Fl}$  als Phagenkonzentration in Flockensuspension

Der Verlust wurde ebenfalls logarithmisch dargestellt:

$$Verlust = -\log_{10}\left(\frac{c_{Fl}}{c_0}\right) = \log_{10}\left(\frac{c_0}{c_{Fl}}\right) \quad (17)$$

### 3.8.2 Halbtechnische Versuche

#### 3.8.2.1 Aufbau der halbtechnischen Flockungsanlagen

Die aus den Laborversuchen gewonnenen Erkenntnisse wurden in einem nächsten Schritt an halbtechnischen Anlagen überprüft. Um die Übertragbarkeit der Annahmen von labor-

auf halbtechnischen Maßstab zu zeigen, wurden ausgewählte Parametereinstellungen übernommen. Es standen für die halbtechnischen Flockungsversuche zwei halbtechnische Flockungsanlagen an zwei Talsperrenwasserwerken (Talsperre A (Wasser 2) und Talsperre B (Wasser 3)) zur Verfügung (Abb. 14).

Die Anlagen unterschieden sich in Durchflussmenge und Aufbau. An Talsperre A wurde ein Durchfluss von 6,2 m<sup>3</sup>/h gefahren, um die Bedingungen an der Großanlage exakt zu simulieren. Das Wasser wurde direkt aus dem Entnahmeturm der Talsperre auf die Anlage aufgebracht. Zur Unterstützung des Flockungsmiteleintrags über eine Dosierpumpe, sowie der Flockenbildung wurden Rührwerke (20 min bei 30 U/min) eingesetzt. Der Hydroanthrazit/Quarzsand-Mehrschichtfilter (Korndurchmesser 0,7 – 1,25 mm, Filterbetthöhe von 1,7 m, Filtergeschwindigkeit 4 m/h) zur Abtrennung der Flocken wurde mit 0,3 m<sup>3</sup>/h beaufschlagt, der restliche Volumenstrom wurde in die Schlammwässerung des Wasserwerkes abgeschlagen. Die pH-Wert Korrektur wurde durch Zugabe von NaOH oder HCl mittels Dosierpumpe kurz vor der Flockungsmittelzugabe durchgeführt. Der pH-Wert wurde am Eingang des Mehrschichtfilters kontrolliert. Die Phagenstammlösung wurde mittels Dosierpumpe direkt in den Zulaufstrom der Anlage dosiert.

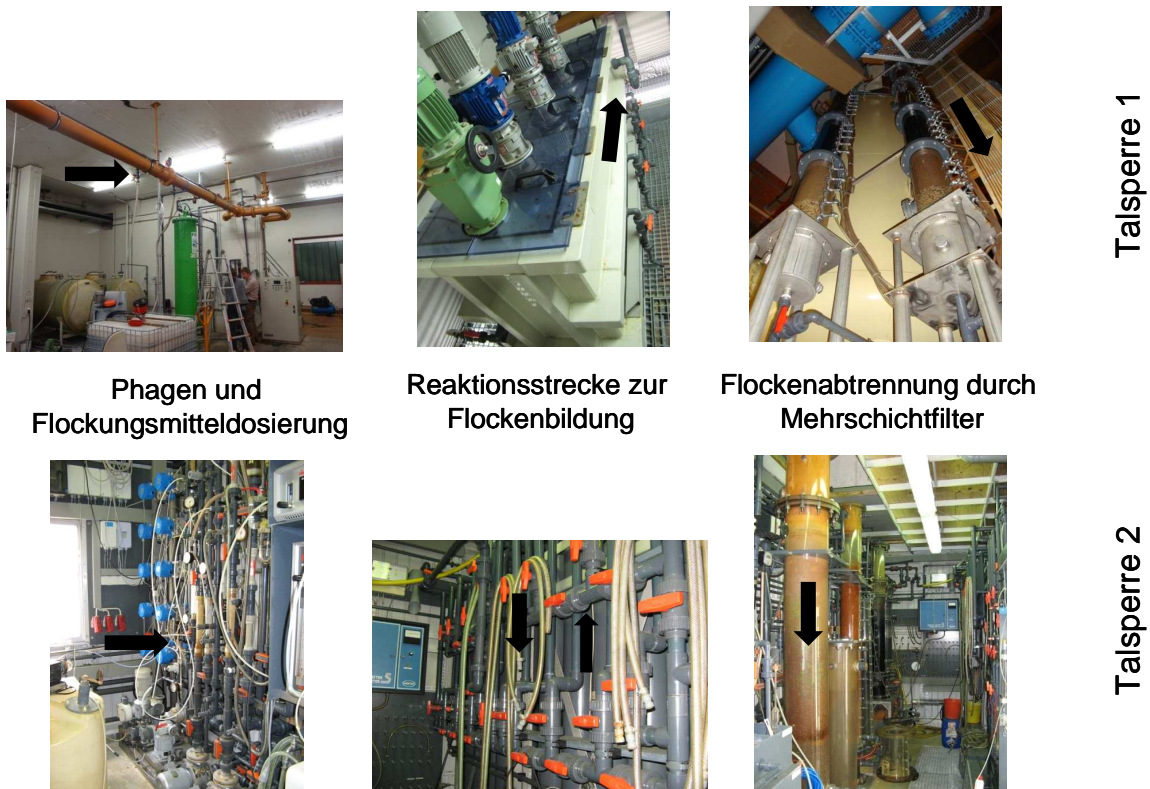


Abb. 14 Halbtechnische Flockungsanlagen an Talsperre A und Talsperre B.



An Talsperre B wurde ein Durchfluss von 1 m<sup>3</sup>/h gefahren. Das Wasser wurde im Bypass aus dem Zulauf zur großtechnischen Talsperre entnommen. Die Zugabe der Phagenstammlösung, von NaOH und HCl zur pH-Wert-Korrektur, sowie des Flockungsmittels erfolgte mittels verschiedener Dosierpumpen, die Einmischung in den Wasserstrom wurde mit statischen Mischern realisiert. Die Phagendosierung erfolgte vor der pH-Wert Korrektur und der Flockungsmittelzugabe. Der pH-Wert wurde vor dem abtrennenden Filter gemessen. Die Flockenbildung erfolgt in Reaktionsrohren mit einer Fließgeschwindigkeit von 420 m/h sodass sich eine Aufenthaltszeit von 15 min ergab. Nach der Flockenbildung wurden 720 L/h abgeschlagen und die verbleibenden 280 L/h in einen 34 m hoch gelegenen Behälter gepumpt, um den nötigen gleichbleibenden Vorlagedruck für den Mehrschichtfilter zu gewährleisten. Die Flockenabtrennung erfolgte auch hier über einen Hydroanthrazit/Quarzsand-Mehrschichtfilter (Korndurchmesser 0,7 – 1,25 mm, Filterbetthöhe von 1,6 m, Filtergeschwindigkeit 4 m/h).

### 3.8.2.2 Versuchsdurchführung an den halbtechnischen Anlagen

An jeder Talsperre wurden vor jedem Versuch die Filter mit einer Druckluft-/Wasserspülung gereinigt. Im Anschluss wurden die Flockungsmitteldosierung, sowie die pH-Wert Korrektur mit NaOH oder HCl gestartet. Wenn der pH-Wert den Soll-Wert erreichte (FeCl<sub>3</sub>: pH=6,5, PACl: pH=6,7), wurde die kontinuierliche Dosierung der Phagen gestartet. Im Zustrom zur Flockungsanlage wurde eine Phagenkonzentration von 10<sup>6</sup> PFU/mL MS2 und 10<sup>5</sup> PFU/mL phiX174 erreicht.

Um einen gut eingefahrenen Filter zu simulieren, wurde eine Einlaufzeit von drei Verweilzeiten eingehalten, nach welcher die Trübung am Ablauf des Filters unter 0,1 FNU gefallen war. Probenahmen erfolgten aus dem Zulauf, der Flockensuspension vor dem Filter und aus dem Filterablauf erst nach mind. 3 Verweilzeiten (1h) über eine Filterlaufzeit von 3 – 4 h. Der Rückhalt der Bakteriophagen wurde ebenfalls als LRV angegeben (siehe Formel 17). Als Begleitparameter wurden bei jedem halbtechnischen Versuch die Parameter Trübung, SAK-254, SAK-436, sowie die Restkonzentration an Flockungsmittel gemessen, um die Güte der Flockung beurteilen zu können. Die Bakteriophagen wurden in Konzentrationen von 10<sup>6</sup> PFU/mL für MS2 und von 10<sup>5</sup> PFU/mL für phiX174 eingesetzt.

### 3.9 Membranversuche

#### 3.9.1 Laborversuche

##### 3.9.1.1 Versuchsziel

Mit den Laborversuchen sollte in kleinem Maßstab der Einfluss der folgenden in Tab. 13 beschriebenen Parameter untersucht werden.

Tab. 13 Untersuchte Parameter bei der Ultrafiltration.

Faktor	Parameterbereich
Flächenbelastung	80 L/m <sup>2</sup> /h, 120 L/m <sup>2</sup> /h
Zeitabhängigkeit/ Membranbeladung	Deckschichtbildung Filtrationsdauer 3 h – 24 h
Wasserqualität	SAK-254: 0,8; 6,8; 7,0 [1/m] Trübung: <0,1; 0,3; 0,7 [FNU]

##### 3.9.1.2 Experimenteller Aufbau der Membrananlage

Zur Ermittlung des Rückhaltes von Viren durch Ultrafiltrationsmembranen wurde eine Laboranlage aufgebaut. Ein vereinfachtes Anlagenschema ist in Abb. 15 dargestellt. Die Anlage sollte möglichst wenig Totraum aufweisen, wenig Adsorptionsfläche bieten und dennoch über genügend Messinstrumente verfügen, um die Betriebsparameter während der Versuche korrekt erfassen zu können.

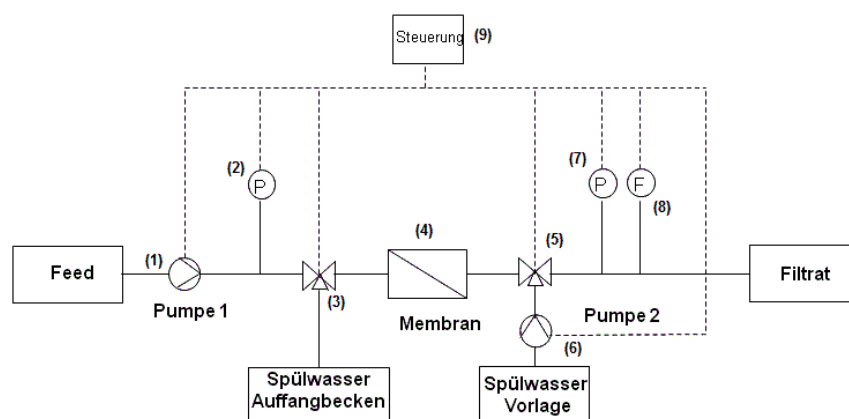




Abb. 15 Oben: Vereinfachtes Anlagenschema der Labor-Membrananlage. Unten: Laboranlage.

Das vorgelegte Wasser wurde zunächst mit Hilfe einer ersten Pumpe (Ismatec, MCP-Z Standard) (1) durch ein 3-Wege-Ventil (Bürkert, 0127) (3) zu dem eingebauten Membranmodul gepumpt. Die verbauten Teflonschläuche hatten einen inneren Durchmesser von 6 mm. Die beiden in der Anlage verbauten 3-Wege-Ventile wurden über Relais gesteuert und bestimmten die Durchflussrichtung, je nachdem ob Zulaufwasser filtriert oder die Membran zurückgespült werden sollte. Ein vor das Ventil geschalteter Druckmesser (Labom, Pascal Ci) (2) maß den Druck auf der Rohwasserseite. Nach der Membran (4) durchlief das Filtrat, analog zur Rohwasserseite, das zweite 3-Wege-Ventil (5) sowie einen weiteren Druckmesser (7), der den Druck auf der Filtratseite erfasste. Der Durchfluss wurde mittels eines Durchflussmessers (Ifm-electronic, SQ0500) (8) detektiert. Während der Versuche wurde der Durchfluss konstant gehalten. Stieg der Transmembrandruck an und verringerte sich so zunächst der aktuelle Durchfluss, wurde dieser durch das Steuerprogramm mit dem vorgegebenen Sollwert verglichen und eine Korrektur durch Erhöhung der Pumpleistung eingeleitet. Die zweite Pumpe (6) diente der Spülung von Membran und Anlage und war in Reihe zur ersten geschaltet. Die beiden Pumpen kommunizierten seriell über einen USB/ RS232- Konverter. Die Steuerung der Anlage erfolgte über ein mit der Entwicklungsumgebung ProfiLab Expert 4.0 programmiertes Steuertool (9). Dieses Steuerungstool zeichnete die Betriebsparameter Transmembrandruck (TMP) und Durchfluss sowie die Versuchszeiten in einstellbaren Intervallen (minütlich) auf. Die Temperatur wurde mit einem Thermometer im Feedwasser überwacht. Bei einem einstellbaren maximalen TMP (0,6 bar) wurde von der Steuerung automatisch eine Rückspülung eingeleitet, um eine Beschädigung des Moduls durch den

hohen TMP zu vermeiden. Wurde danach ein TMP kleiner 0,6 bar gemessen, wurde die Filtration fortgesetzt. Konnte der Druck nicht durch den Abtrag der Deckschicht reduziert werden, wurde der Versuch unterbrochen.

### 3.9.1.3 Versuchsdurchführung

Das Feedwasser, sowie Spülwasser und Filtrat wurden in 1 und 2 L Schottflaschen aufbewahrt. Vor jedem Versuch wurde die Anlage jeweils für 2 h mit partikelfreiem Reinstwasser (Arium 611, Sartorius) gespült, indem das Membranmodul durch einen Teflonschlauch ersetzt wurde. Anschließend wurde die Membran eingebaut und 30 min lang mit partikelfreiem Wasser gespült, um restliches Konservierungsmittel oder Reinigungskemikalien aus dem Modul zu spülen. Zu diesem Zeitpunkt wurde der TMP der unbenutzten Membran aufgezeichnet. Dieser Druck diente später als Integritätstest und als Nachweis für eine ausreichende Reinigung. Für jedes getestete Wasser wurde ein neues Modul verwendet. Nach jeder Ausspülphase wurde die zu messende Probe für 10 min filtriert, wobei das anfallende Filtrat verworfen wurde. Dadurch wurde eine Verdünnung von Feed und Filtrat durch in der Anlage vorhandenes partikelfreies Wasser minimiert. Im Anschluss wurde der eigentliche Filtrationsvorgang gestartet.

Als Standard wurde folgende Filtrationssequenz definiert und bei allen Versuchen eingehalten:

Phase	Zeit
Filtration	58 min
Rückspülung	2 min

Versuche mit einer Flächenbelastung von 80 L/m<sup>2</sup>/h wurden entsprechend der Membranfläche bei einem Durchfluss von (3,2±0,2) mL/min und die Rückspülung mit ca. (6,4±0,2) mL/min durchgeführt, die Versuche bei 120 L/m<sup>2</sup>/h bei einem Durchfluss von (4,8±0,2) mL/min und entsprechend einer Rückspülung bei (9,6±0,2) mL/min. Die Versuchsdauer variierte zwischen 3 und 8 h. Die Bakteriophagen wurden in Konzentrationen von 10<sup>8</sup> PFU/mL MS2 und von 10<sup>7</sup> PFU/mL phiX174 eingesetzt.

Stichproben wurden vom mit Phagen dotierten Feedwasser und dem Filtrat genommen. Aus diesen Proben wurde die Phagenkonzentration bestimmt, sowie Wasserparameter wie Trübung und SAK-254. Die Probenahme erfolgte zum ersten Mal nach 0,5 h Filtration und anschließend immer in der Mitte eines Filtrationszyklusses und kurz vor der Rückspülung.

Vor jedem Einsatz und nach jedem Versuch wurden die Module manuell chemisch gereinigt. Dazu wurden die Module mit 500 mL einer Natriumhypochlorit-Lösung (Pro analysi, Merck KGaA) mit einer Konzentration von 150 mg/L freiem Chlor und ggf. bei starker Verschmutzung zusätzlich mit 500 mL Zitronensäure-Lösung (pH= 2,6; Ph. Eur., Roth) gereinigt. Nach jedem Reinigungsschritt wurde die Membran mit 1 L partikelfreiem Wasser gespült. Der Erfolg der chemischen Reinigung wurde über den Vergleich mit dem Anfangstransmembrandruck überprüft, der zuvor am unbenutzten chemisch gereinigten Modul gemessen wurde.

#### 3.9.1.4 Verwendete Membranmodule

Zur Durchführung der Ultrafiltrationsversuche im labortechnischen Maßstab standen Labormodule eines Membranherstellers zur Verfügung.

Die Membranmodule (siehe Abb. 16) hatten eine Länge von 20 cm, einen Durchmesser von 1 cm und wurden „in-out“ angeströmt. Jedes Modul bestand aus einer einzigen Membranfaser, welche 7 Kapillare aufwies, die jeweils einen Durchmesser von 1,5 mm hatten. Das entsprach einer Membranfläche von 24 cm<sup>2</sup>. Die Fasern dieser Baureihe bestanden aus modifiziertem Polyethersulfon und hatten einen vom Hersteller angegebenen nominellen Porendurchmesser von 20 nm. Die Module wurden nicht wie die großtechnischen Module mittels eines exakten Heizprogrammes verklebt (gepottet), sondern in einem separaten Ofen.

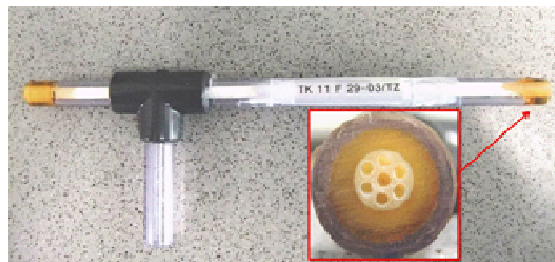


Abb. 16 Labormodul mit einer nominellen Porenweite von 20 nm (Blinn 2012).

### 3.9.2 Halbtechnische Versuche

#### 3.9.2.1 Aufbau der halbtechnischen Membrananlage

Die halbtechnische Anlage (Abb. 17, links) wurde nach Plänen eines Membranherstellers von einem Anlagenbauer in Edelstahl (3/8“ Rohrendurchmesser) ausgeführt (siehe 8.6).

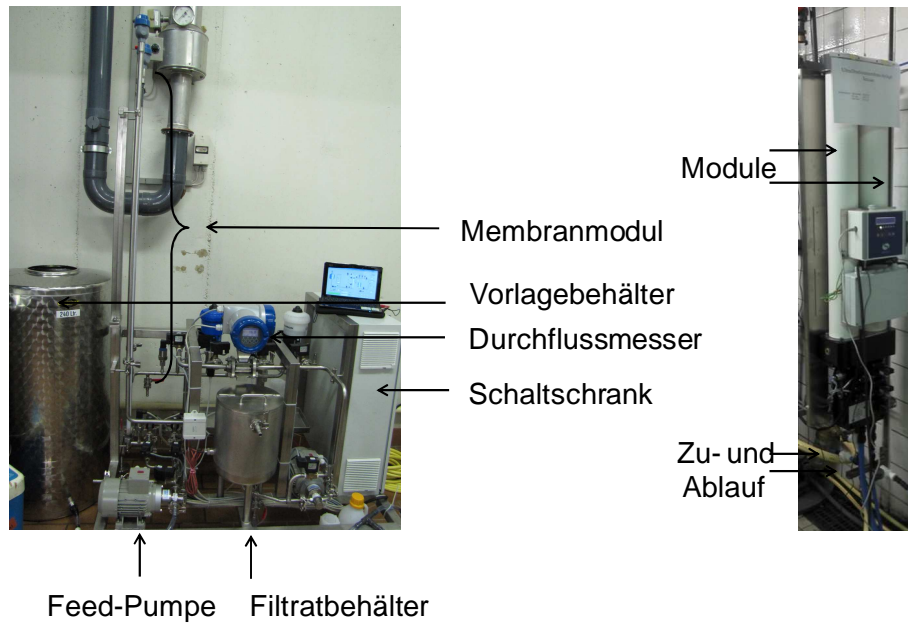


Abb. 17 Versuchsanlagen für halbtechnischen (links) und großtechnische (rechts) Membranversuche.

In einem 250 L Edelstahlvorlagebehälter wurde das Zulaufwasser mit den Phagen dotiert. Dieses wurde durch eine Zulaufpumpe (GK-N21.JF1S.6, Micropump) über verschiedene Magnetventile (Buschjost) zur Membran gepumpt. Die Membran wurde von unten angeströmt und im „in-out“-Modus betrieben. Vor und nach der Membran waren Drucksensoren (Cerbar T TMC 131, Endress und Hauser) verbaut, um den Transmembrandruck zu erfassen. Im Filtratstrom wurde der Durchfluss (Optiflux 5300, Krohne) gemessen und das Filtrat in einem 20 L Filtratbehälter mit Überlauf aus Edelstahl aufgefangen. Aus diesem Behälter wurde für die Rückspülung das Spülwasser mit einer Pumpe (GJ-N23.JF1S.6, Micropump) gegen die Filtrationsrichtung im „out-in“-Betrieb durch die Membran gepumpt. Das Steuerprogramm wurde vom Membranhersteller in LabView realisiert und regelte einen konstanten Durchfluss auch bei ansteigendem TMP. Die Betriebsparameter wurden aufgezeichnet.

### 3.9.2.2 Aufbau der großtechnischen Membrananlage

Die großtechnische Anlage wurde von einem anderen Hersteller geliefert (Abb. 17, rechts). Sie bestand aus zwei miteinander kommunizierenden Membranmodulen mit einer Gesamtmembranfläche von 16 m<sup>2</sup>. Eine Vorlagepumpe pumpte das Wasser von einem Vorlagebehälter, der im Durchfluss genutzt wurde, zur Membran. Bei ausreichendem Vordruck von 2,5 bar wurde die Anlage ohne Pumpe betrieben. Das Zulaufwasser wurde über einen 125 µm Vorfilter gefiltert, um eine Schädigung der Membran durch partikuläre Wasserinhaltsstoffe zu vermeiden. Durch Ventile wurde das Wasser von unten nach oben

durch die Membran im „in-out“-Betrieb geleitet. Das Filtrat wurde im freien Auslauf in die Schlammwässerung des Wasserwerks entsorgt. Bei Rückspülung wurde das Filtrat eines Moduls als Rückspülwasser für das andere Modul verwendet und so die Module im Wechsel gereinigt. Durch eine weitere Ventilschaltung wurde vor jedem Rückspülereignis ein „Forward-Flush“ eingeleitet, bei dem die Membranmodule rohwasserseitig im Crossflow gespült wurden, um die reversible Deckschicht zu entfernen. Das Steuerprogramm erlaubte die Ansteuerung der Pumpe und der Ventile, sowie die Erstellung von Filtrationsprogrammen, die automatisch durchlaufen wurden. Im Gegensatz zu der Labor- und halbtechnischen Anlage konnte hier der Durchfluss nicht konstant gehalten werden. Er nahm während der Filtrationszyklen mit ansteigendem TMP leicht ab.

### 3.9.2.3 Versuchsdurchführung an der halbtechnischen Anlage

Vor jedem Versuch wurde das Membranmodul über 1 h mit dest. Wasser gespült. Zu diesem Zeitpunkt wurde der Transmembrandruck der unbenutzten Membran aufgezeichnet. Es wurde mit Druckluft ein externer Integritätstest an den Modulen vorgenommen, indem ein Druckhaltetest bei einem Druck von 1,5 bar über 20 min durchgeführt wurde. Ein Druckabfall  $<0,08$  bar wurde toleriert. Für jedes getestete Wasser wurde ein neues Modul eingesetzt. Die Bakteriophagen wurden in Konzentrationen von  $10^6$  PFU/mL MS2 und von  $10^5$  PFU/mL phiX174 eingesetzt.

Das Zulaufwasser wurde im Rohwasserbehälter vorgelegt und mit der Phagenstammlösung dotiert. Im Anschluss wurde der Versuch gestartet und die Filtration mit 16 bzw. 23 L/h (80 bzw. 120 L/m<sup>2</sup>/h) gefahren.

Auch bei den halbtechnischen Versuchen wurde das Protokoll der labortechnischen Versuche eingehalten.

Phase	Zeit
Filtration	58 min
Rückspülung	2 min

Die Rückspülung wurde mit 32 bzw. 46 L/h durchgeführt. Stichproben wurden an den vorgesehenen Probenahmehähen in Zulauf und Filtrat entnommen. Aus diesen Proben wurde die Phagenkonzentration bestimmt, sowie Wasserparameter wie Trübung und SAK-254. Die Probenahme erfolgte zum ersten Mal nach 0,5 h Filtration und anschließend immer in der Mitte eines Filtrationszyklusses und kurz vor der Rückspülung.

Vor jedem Einsatz und nach jedem Versuch wurden die Module manuell chemisch gereinigt. Dazu wurden die Module mit 2 L einer Natriumhydroxid-Lösung (pH=12; Pro analysi,

Merck KGaA) und mit 2 L HCl (pH= 2,6; Ph. Eur., Roth) gespült. Nach jedem Reinigungsschritt wurde die Membran mit 5 L partikelfreiem Reinstwasser (Arium 611, Sartorius) gespült. Der Erfolg der chemischen Reinigung wurde über den Vergleich mit dem Anfangstransmembrandruck überprüft, der zuvor am unbenutzten chemisch gereinigten Modul gemessen wurde.

#### 3.9.2.4 Versuchsdurchführung an der großtechnischen Anlage

Die Membranmodule wurden wie bei der halbtechnischen Anlage mit dem jeweiligen Testwasser gespült und der Transmembrandruck aufgezeichnet. Entsprechend der halbtechnischen Anlage wurde auch hier mit einem eingebauten Kompressor ein Integritätstest durchgeführt. Für jedes getestete Wasser wurde ein neues Modul eingesetzt. Das Zulaufwasser wurde über eine Dosierpumpe mit der Phagenstammlösung dotiert. Im Anschluss wurde der Versuch gestartet und die Filtration mit 1,3 bzw. 1,9 m<sup>3</sup>/h (80 bzw. 120 L/m<sup>2</sup>/h) gefahren. Die Bakteriophagen wurden in Konzentrationen von 10<sup>6</sup> PFU/mL für MS2 und von 10<sup>5</sup> PFU/mL für phiX174 eingesetzt.

Auch hier wurde das Protokoll der labortechnischen Versuche eingehalten. Zusätzlich wurde noch der anlagenspezifische Forward-Flush mit eingefügt.

Phase	Zeit
Filtration	58 min
Forward-Flush	1,5 min
Rückspülung	2 min

Die Rückspülung wurde mit 2,3 bzw. 1,9 L/min auf einem Modul durchgeführt. Stichproben wurden in Zulauf und Filtrat entnommen. Probenahmestellen und -zeiten wurden entsprechend der halbtechnischen Anlage eingehalten.

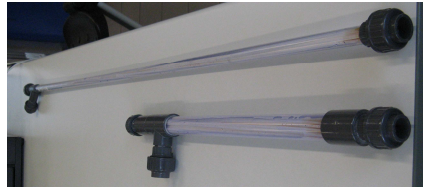
Vor jedem Einsatz und nach jedem Versuch wurden die Module chemisch gereinigt. Dazu wurden die Module mit 150 L einer Natriumhypochlorit-Lösung (150 mg/L freies Chlor; Pro analysi, Merck KGaA) bei starker Verschmutzung mit einer NaOH-Lösung (pH= 12; Ph. Eur., Roth) gereinigt. Nach jedem Reinigungsschritt wurde die Membran mit Testwasser gespült. Der Erfolg der chemischen Reinigung wurde ebenfalls über den Vergleich mit dem Anfangstransmembrandruck überprüft, der zuvor am unbenutzten chemisch gereinigten Modul gemessen wurde.

#### 3.9.2.5 Verwendete Membranmodule

Die halbtechnische Membrananlage wurde mit Kapillarrohr-Membranmodulen (Abb. 18) (hydrophilisiertes Polyethersulfon, 20 nm Porenweite, 0,2 m<sup>2</sup> Membranfläche) betrieben.



Diese halbtechnischen Module entsprachen vom Membranmaterial her den labortechnischen Modulen.



*Abb. 18 Halbtechnische Membranmodule.*

Die großtechnische Anlage wurde mit den mitgelieferten Membranmodulen betrieben. Diese bestanden ebenfalls aus hydrophilisierten Polyethersulfon-Kapillarrohr-Membranen mit einer Porenweite von 20 nm und wiesen eine Filtrationsfläche von 16 m<sup>2</sup> auf. Der Hersteller war ein anderer als der der labor- und halbtechnischen Module.

## 4 Ergebnisse und Diskussion

### 4.1 Rückhalt von Bakteriophagen in großtechnische Oberflächenwasserwerken

Zur Beurteilung der Viruselimination durch die partikelabtrennende Stufe in der Praxis in Wasserwerken wurden Untersuchungen des Rohwasser und des Ablaufes dieser Stufe durchgeführt. Als Parameter wurden die natürlich vorkommenden somatischen und F-spezifischen Bakteriophagen im Wasser herangezogen, wodurch ein späterer Vergleich mit Labor- und halbtechnischen Versuchen möglich war.

Um eine möglichst hohe Ausgangskonzentration an Bakteriophagen im Rohwasser vorzufinden, wurden für die Untersuchungen Oberflächenwasserwerke (Talsperren und Flusswasser) ausgewählt. Im Vergleich zu Grundwässern ist in den Oberflächenwässern eine deutlichere Belastung mit Viren anzunehmen. Neun verschiedene Talsperren und ein Flusswasserwerk wurden in einem Zeitraum von drei Jahren beprobt (Tab. 14). Die partikelabtrennende Stufe war in der überwiegenden Anzahl der Fälle eine Flockungsfiltration, in einem Fall konnte eine Ultrafiltration beprobt werden.

Es zeigte sich, dass alle Talsperren nur sehr geringe Bakteriophagengehalte aufwiesen. Die für F-spezifische Coliphagen gemessenen Konzentrationen im Rohwasser und nach der partikelabtrennenden Stufe lagen überwiegend bei  $<1$  PFU/100mL. Lediglich bei einem Hochwasserereignis an Talsperre H wurden 2 PFU/mL im Rohwasser gemessen. Somatische Coliphagen in den Rohwässern wurden häufiger und in höheren Konzentrationen gefunden. Die unter Normalbedingungen maximal gemessene Konzentration lag bei 11 PFU/100mL, bei dem Hochwasserereignis an Talsperre H wurden 21 PFU/100mL detektiert. Nach der partikelabtrennenden Stufe zeigte keine Probe einen positiven Befund.

Zusätzlich zu den nur gering belasteten Talsperren wurde auch ein Flusswasserwerk beprobt. Es handelte sich dabei um ein Spitzenlastwasserwerk, welches in den Sommermonaten zur Grundwasseranreicherung betrieben wurde. Die partikelabtrennende Stufe war eine Flockungsfiltration unter Einsatz von 7 mgFe/L. Die Konzentrationen an F-spezifischen Coliphagen im Rohwasser waren sehr gering und lagen maximal bei 3 PFU/100mL. Nach der partikelabtrennenden Stufe konnten keine F-spezifischen Phagen nachgewiesen werden. Die Konzentrationen an somatischen Coliphagen lagen deutlich höher und schwankten im Rohwasser zwischen 60 und 792 PFU/100mL (siehe Abb. 19). Auch nach der Flockungsfiltration waren somatische Coliphagen messbar, sodass eine mittlere Eliminationsleistung der großtechnischen Flockung von  $1,8 \pm 0,2$  log-Stufen ermittelt wurde.

Tab. 14 Konzentration [PFU/100mL] an somatischen Coliphagen im Rohwasser und nach der partikelabtrennenden Stufe des Wasserwerkes.

Talsperre	Datum	Rohwasser	Nach Aufbereitung
Talsperre A	Nov. 09	0	0
Talsperre B	Jun. 09	0	0
	Jul. 10	0	0
Talsperre C	Dez. 09	0	0
	Okt. 09	0	0
	Nov. 09	0	0
Talsperre D	Okt. 09	0	-
	Feb. 10	0	0
Talsperre E	Nov. 10	0	0
Talsperre F	Okt. 09	1	0
	Dez. 09	0	0
Talsperre G	Mai. 10	6	0
	Okt. 10	6	0
Talsperre H	Nov. 10	7	-
	Jan. 11	0	-
Talsperre I	Nov. 09	11	0
	Feb. 10	3	0
<b>Hochwasser</b>			
Talsperre E	Jan. 11	4	0
Talsperre H	Jan. 11	21	0

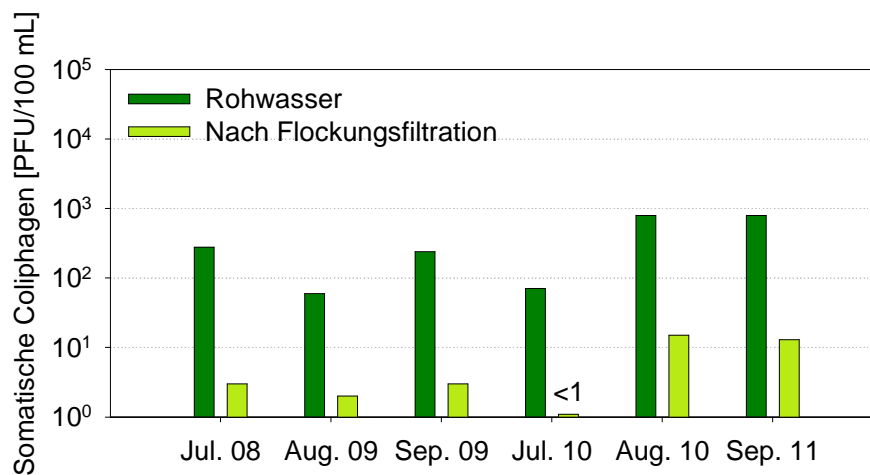


Abb. 19 Konzentration an somatischen Coliphagen im Rohwasser und nach der Flockungsfiltration des Flusswasserwerkes.

Parallel war es möglich in diesem Wasserwerk im Herbst und Winter, als die Flockungsfiltration nicht betrieben wurde, das Grundwasser zu beproben, welches zu dieser Jahreszeit lediglich die Uferfiltrationspassage durchlief. Die im Rohwasser und im Grundwasser nach

Uferfiltration gemessenen Konzentrationen an somatischen Coliphagen sind in Abb. 20 dargestellt.

Die Konzentration der somatischen Coliphagen im Rohwasser wurde durch die Uferfiltration sehr deutlich reduziert, sodass in 100 mL keine Bakteriophagen mehr nachweisbar waren. Es konnte somit eine durchschnittliche Eliminationsleistung von  $>3,6$  log-Stufen aufgezeigt werden.

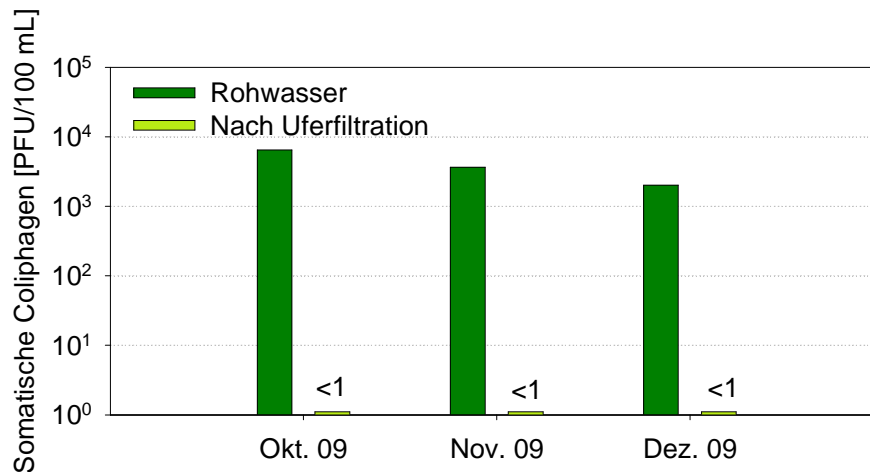


Abb. 20 Konzentration an somatischen Coliphagen im Flusswasser und nach der Uferfiltration.

Aus der Summe der Ergebnisse der einzelnen Talsperren wird deutlich, dass aufgrund der geringen messbaren Ausgangskonzentrationen an Bakteriophagen keine Schlussfolgerungen zur Aufbereitungswirksamkeit getroffen werden können, da eine eindeutig messbare Konzentration im Filtrat vorhanden sein muss, um die Eliminationsleistung exakt bestimmen zu können. Lediglich für das Flusswasserwerk konnte für somatische Bakteriophagen eine konkrete Wirksamkeit ermittelt werden. Diese Ergebnisse unterstreichen die Notwendigkeit von experimentellen Ansätzen zur Bestimmung der Eliminationsleistung einzelner Aufbereitungsstufen, wie Labor- oder halbtechnische Versuche mit zudosierten erhöhten Bakteriophagenkonzentrationen.

## 4.2 Flockungsfiltration

### 4.2.1 Einfluss der Flockungsbedingungen auf Bakteriophagen

#### 4.2.1.1 Flockungs-pH-Wert

Wie in 4.1 dargelegt, ergeben sich aufgrund der häufig niedrigen Viruskonzentrationen in den Rohwässern von Trinkwasseraufbereitungen Schwierigkeiten bei der Bestimmung der

Viruselimination im Wasserwerk. Laborversuche bieten den Vorteil, die Viruskonzentration durch Zudosierung angezüchteter Viren künstlich zu erhöhen und somit eine genaue Bestimmung der Eliminationsleistung zu ermöglichen. Insbesondere im Labormaßstab lassen sich dabei zudem Wirkmechanismen, Wechselwirkungen und Zusammenhänge beobachten und charakterisieren, wie es in großtechnischen Versuchen nur schwerlich möglich wäre. Mögliche Nebeneffekte, die über die rein mechanische Abtrennung der Viren hinausgehen, können beschrieben werden und so die Mechanismen beim Rückhalt der Bakteriophagen durch Flockung besser verstanden werden. Insbesondere die Empfindlichkeit der Testphagen bei Dosierversuchen gegenüber den experimentellen Rahmenbedingungen, wie pH-Wert oder Flockungsmittel muss hierbei jedoch bekannt sein, um Fehlinterpretationen der Ergebnisse zu vermeiden (Matsui, et al. 2003) (Matsushita, Matsui und Shirasaki 2006) .

Durch die Zugabe des leicht sauren Flockungsmittels wird der pH-Wert des Wassers bei der Flockung abgesenkt. Um einen geeigneten Flockungs-pH-Wert einzustellen, wird mit Säure und Lauge gegentitriert. Der Einfluss des pH-Wertes bzw. der lokalen pH-Sprünge beim Eintrag von Säure oder Lauge auf die Testphagen MS2 und phiX174 wurde untersucht.

Dazu wurde der pH-Wert von Wasser 1 mit 0,1 M HCl (EMSURE<sup>®</sup> ACS, Iso, Reag. Ph Eur, 37%, Merck KGaA) und 0,1 M NaOH (EMSURE<sup>®</sup> Iso, Merck KGaA) auf verschiedene pH-Werte im Bereich zwischen 2 und 11 eingestellt. Aufgereinigte Phagenstammlösung wurde zugegeben und eine Konzentration der Phagen von  $10^7 - 10^8$  PFU/mL eingestellt. Die Phagen wurden 0,5 h und 12 h bei den jeweiligen pH-Werten inkubiert. Im Anschluss wurde der pH-Wert neutralisiert, die Konzentration der infektiösen Phagen mit dem Kulturverfahren bestimmt und als Überlebensrate ( $c/c_0$ ) aufgetragen (Abb. 21).

Es zeigt sich, dass MS2 einen stabilen Bereich zwischen pH 4,5 und 8,5 aufwies, in welchem die Überlebensrate  $1 \cdot 10^0 \pm 4 \cdot 10^{-1}$  betrug und somit nahezu 100% der eingesetzten Bakteriophagen detektiert wurden. Außerhalb des Bereiches kam es zu einer Reduktion der MS2-Konzentration, wobei die verlängerte Inkubationszeit von 12 h diesen Effekt verstärkte und die Überlebensrate auf  $1 \cdot 10^{-4}$  für pH 11 absank, was einer Reduktion um 4 log-Stufen entsprach. phiX174 dagegen erwies sich bei einer Inkubationszeit von 0,5 h mit einer Überlebensrate von  $1 \cdot 10^0 \pm 1 \cdot 10^{-1}$  als sehr stabil über den gesamten untersuchten pH-Bereich. Lediglich bei einer Inkubationszeit von 12 h bei pH-Werten  $< 2$  war eine Reduktion des infektiösen Anteils der Phagenkonzentration auf  $1 \cdot 10^{-3}$  (entspricht 3 log-Stufen) zu beobachten.

Aus den Ergebnissen wird deutlich, dass die kurzen pH-Wert-Schwankungen während der Flockung nicht zu einer Inaktivierung der Phagen beitragen sollten und eine Beeinflussung des Flockungsergebnisses nicht anzunehmen ist.

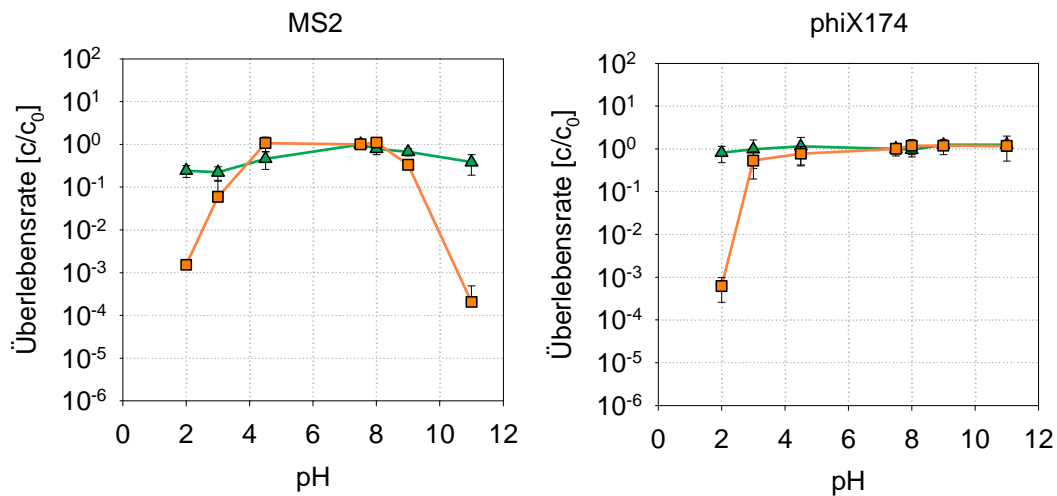


Abb. 21 Überlebensrate von MS2 und phiX174 in Wasser 1 bei verschiedenen pH-Werten und Inkubationszeiten (grün entspricht 0,5 h, orange entspricht 12 h) (ermittelt durch Kulturverfahren).

#### 4.2.1.2 Flockungsmittelart

Das Flockungsmittel wird bei der Flockung in verschiedenen Konzentrationen ins Wasser gegeben und interagiert während der Flockenbildung mit den Bakteriophagen. Um eine mögliche Beeinflussung der Ergebnisse durch Wechselwirkungen von Bakteriophagen und Flockungsmittel zu ermitteln, wurden im Labor Wiederfindungsversuche mit den Flockungsmitteln FeCl<sub>3</sub> und PACl durchgeführt. Dabei wurden MS2 und phiX174 in Ausgangskonzentrationen ( $c_0$ ) von  $10^7 - 10^8$  PFU/mL in Wasser 1 dosiert und die Flockungsmittel jeweils in Konzentrationen von 0 bis 10 mg/L eingesetzt. Der Flockungsprozess wurde gemäß dem Protokoll nach 3.8.1 simuliert. Nach der Flockenbildung wurde der Ansatz bei 250 rpm für 1 min stark aufgerührt und aus dieser Flockensuspension eine Probe entnommen. Da die Flocken somit nicht entfernt wurden, konnte davon ausgegangen werden, dass in dieser Probe die Ausgangsphagenkonzentration  $c=c_0$  messbar ist. Bei einer verminderten Wiederfindung von  $c/c_0 < 1 \cdot 10^0$  kann von einer Beeinflussung oder Inaktivierung der Bakteriophagen ausgegangen werden.

Die Konzentration der infektiösen Phagen in diesen Wiederfindungsproben wurde mittels Kulturverfahren bestimmt (Abb. 22).

Es wird ersichtlich, dass eine starke Reduktion der Überlebensrate von MS2 mit zunehmender PACl-Konzentration eintrat und bei 10 mgAl/L PACl ein Wert von

$5 \cdot 10^{-3} \pm 1,2 \cdot 10^{-3}$  erreicht wurde, was einer Reduktion der detektierbaren Konzentration um 3,5 log-Stufen entsprach. In der  $\text{FeCl}_3$ -Flockensuspension blieb die MS2-Konzentration nahezu konstant auf dem Ausgangswert  $c_0$ .

Aufgrund dieser beobachteten Inaktivierung von MS2 durch PACI wurde der Flockungsprozess genauer betrachtet und die Flockungsschritte einzeln untersucht. Dabei wurde zwischen dem Einfluss der Einmischung des gelösten Flockungsmittels auf die MS2-Inaktivierung, dem Einfluss der Koagulation/Flockenbildung und dem Einfluss der fertigen Metallhydroxidflocken in der Lösung unterschieden.

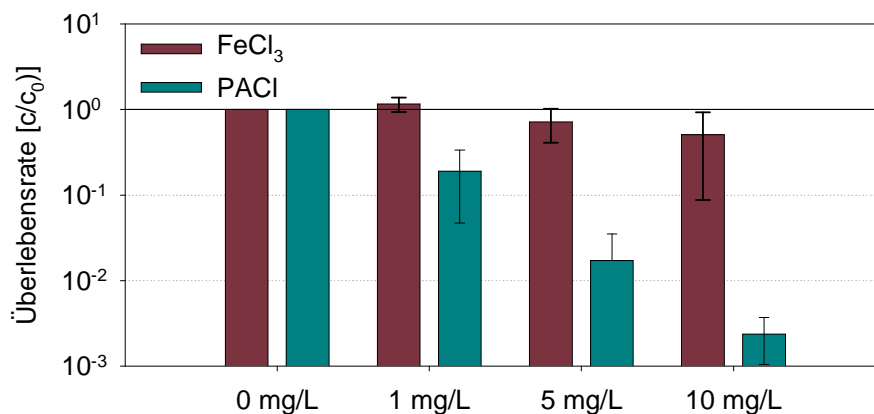


Abb. 22 Überlebensrate von MS2 in der Flockenprobe bei Flockungsversuchen mit PACI und  $\text{FeCl}_3$  (ermittelt durch Kulturverfahren).

Die Inaktivierungsexperimente wurden in Triplikat im Jartester durchgeführt. Dazu wurden 500 mL Wasser 1 mit aufgereinigter Phagenstammlösung dotiert und somit eine Konzentration von  $10^7 - 10^8$  PFU/mL eingestellt. Das PACI wurde in Konzentrationen von 1 – 10 mgAl/L eingesetzt. Es wurde immer das gleiche Rührprotokoll nach W218 (T. R. DVGW 1998) eingehalten, um eine vergleichbare Inkubationszeit von MS2-Phagen und PACI zu gewährleisten. Im Anschluss an die Standphase folgte eine Rührphase von 1 min bei 250 rpm, um eine Probe der Gesamtphagenkonzentration (mit  $c=c_0$ , wenn keine Inaktivierung auftrat) in der Wasserprobe zu erhalten. Die Konzentration an infektiösen Phagen wurde mittels Kulturverfahren untersucht.

Um den Einfluss des gelösten PACI zu untersuchen, wurde der pH-Wert des Wassers auf 4,5 eingestellt und die Phagen sowie das PACI erst im Anschluss dosiert. Nach einer Studie (Liu, et al. 2009) liegt PACI bei einem pH-Wert  $< 5,5$  gelöst als hochreaktive Al-Spezies ( $\text{Al}_{13}$ ) vor. Es bilden sich somit keine Aluminiumhydroxidpräzipitate.

Bei der Untersuchung der Flockenbildung wurde der pH-Wert auf 6,7 eingestellt, Phagen und PACI dosiert und das Flockungsprotokoll befolgt. Die so entstehenden Flocken wurden durch mechanische Zerstörung aufgelöst und Proben aus der Flockensuspension entnommen.

Um die mögliche Inaktivierung der MS2-Phagen durch irreversible Adsorption an Aluminiumhydroxidflocken zu untersuchen, wurden solche in 500 mL Wasser 1 generiert und im Anschluss die Phagenstammlösung zugegeben. Der Ansatz wurde 25 min bei 25 rpm inkubiert und die Flocken dann über 1 min bei 250 rpm zerstört.

Die Ergebnisse der Versuche sind in Abb. 23 dargestellt. Es ist erkennbar, dass durch die Anwesenheit von Aluminiumhydroxidflocken aus PACI die Überlebensrate kaum reduziert wurde. Durch Koagulation und Flockenbildung wurde die infektiöse Menge an MS2-Phagen im Ansatz mit zunehmender PACI-Konzentration verringert. Die stärkste Reduktion erfolgte in den Ansätzen mit gelöstem PACI. Schon bei 1 mgAl/L lag die Überlebensrate nur noch bei  $5,0 \cdot 10^{-5}$ , was einer Reduktion um 5,5 log-Stufen entsprach.

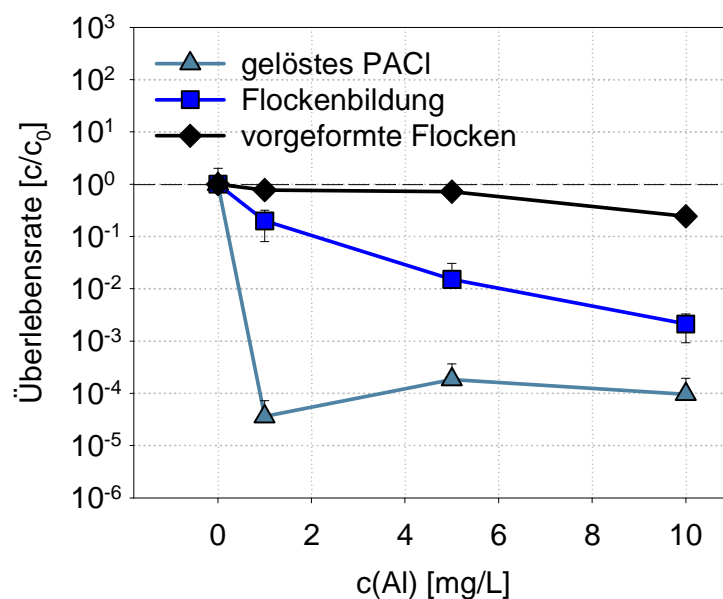


Abb. 23 Überlebensrate von MS2 in Wasser 1 in Anwesenheit vorgeformter PACI-Flocken, während der Flockenbildung und in Anwesenheit von gelöstem PACI bei pH 4,5 (ermittelt durch Kulturverfahren).

Es ist anzunehmen, dass die Inaktivierung von MS2 bei normalen Flockungsversuchen (vergleiche Abb. 22) durch die Anwesenheit des gelösten PACI und somit durch hochkationische Al-Spezies induziert wurde. Obwohl die Koagulation der basischen Aluminiumkationen ( $Al_{13}$ ) schnell erfolgt, schien die Lebensdauer dieses Kations lang genug zu sein,



um eine Inaktivierung von MS2 zu induzieren. Wurden die polymerisierten Al-Spezies durch einen niedrigen pH-Wert stabilisiert, wurde der Einfluss auf MS2 verstärkt.

Der Effekt des gelösten PACI auf den somatischen Coliphagen phiX174 und den F-spezifischen Coliphagen Q $\beta$  wurde ebenfalls untersucht (Abb. 24). Es war ersichtlich, dass der Effekt auf beide F-spezifischen Phagen vergleichbar war, wohingegen der somatische Coliphage phiX174 nicht beeinflusst wurde.

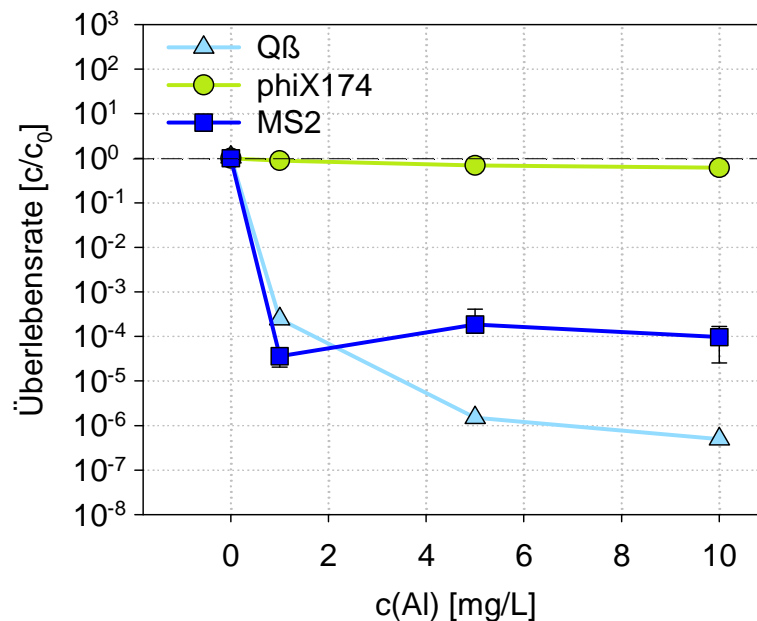


Abb. 24 Überlebensrate von phiX174, MS2 und Q $\beta$  in Wasser 1 in Anwesenheit von gelöstem PACI bei pH 4,5 (ermittelt durch Kulturverfahren).

#### 4.2.1.3 Andere Aluminiumverbindungen

Die vorherigen Experimente zeigten eine starke Inaktivierung von MS2 durch gelöstes PACI. Eine genauere Betrachtung sollte Aufschluss geben, inwieweit Faktoren wie Al<sup>3+</sup>-Konzentration und Cl<sup>-</sup>-Konzentration ebenfalls eine Inaktivierung hervorrufen. Dazu wurden die Versuche bei pH 4,5 mit den Aluminiumverbindungen Al(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>, AlCl<sub>3</sub> und Al<sub>2</sub>(SO<sub>4</sub>)<sub>3</sub> (0,2 mgAl/L – 1 mgAl/L) durchgeführt und die Ergebnisse wieder als Überlebensrate (c/c<sub>0</sub>) aufgetragen.

Die Bestimmung von Aluminium zeigte, dass bei pH 4,5 kein Koagulationsverhalten bei PACI und AlCl<sub>3</sub> zu beobachten ist (Van Benschoten und Edzwald 1990) (Wang, et al. 2004). In Abb. 25 wird ersichtlich, dass weder Al(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub> noch AlCl<sub>3</sub> und Al<sub>2</sub>(SO<sub>4</sub>)<sub>3</sub> eine Inaktivierung verursachten. Die ermittelte Überlebensrate für nichtpolymerisiertes AlCl<sub>3</sub> lag nicht unter 1,0\*10<sup>-1</sup>. Zusätzlich konnte eine mögliche Reaktion des Chloridions mit dem MS2-Phagen ausgeschlossen werden. Auch für Al(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub> und Al<sub>2</sub>(SO<sub>4</sub>)<sub>3</sub> konnte keine

schwerwiegende Inaktivierung bestimmt werden. Es kann also davon ausgegangen werden, dass das  $\text{Al}^{3+}$ -Ion nicht für die beobachtete Inaktivierung von MS2 während der Flockung verantwortlich war. Das gelöste PACI dagegen reduzierte die Überlebensrate von MS2 schon bei 0,2 mgAl/L PACI auf  $5,0 \cdot 10^{-4}$  (entspricht einer Reduktion um 4,5 log-Stufen).

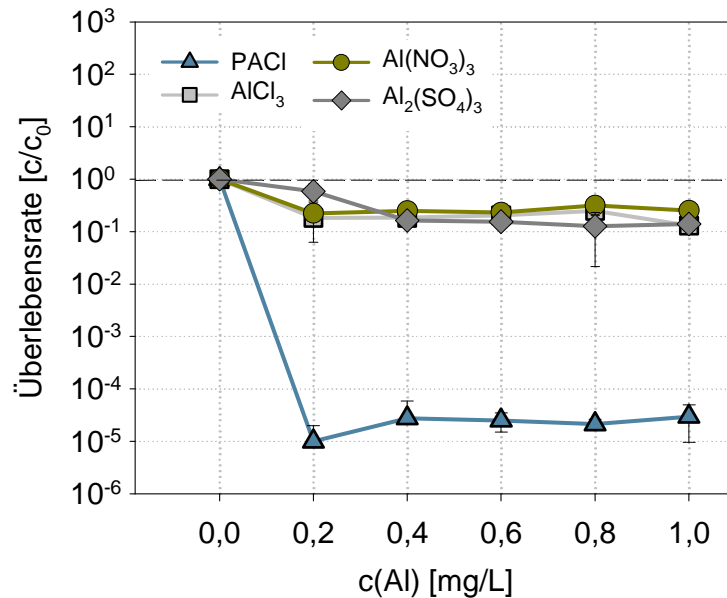
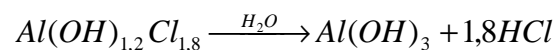


Abb. 25 Überlebensrate von MS2 in Wasser 0 bei pH 4,5 in Anwesenheit von gelöstem PACI,  $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ ,  $\text{AlCl}_3$  und  $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$  (ermittelt durch Kulturverfahren).

PACI ist ein anorganisches Koagulant, welches in Wasser zu Aluminiumhydroxid reagiert:



PACI setzt sich hauptsächlich aus drei Al-Spezies zusammen, welche sich in ihrer Reaktionskinetik mit Ferron (Van Benschoten und Edzwald 1990) unterscheiden: Monomere Al-Spezies ( $\text{Al}_a$ ), welche die reaktive Spezies von  $\text{AlCl}_3$  sind (Yan, et al. 2008), halbpolymerisierte Al-Spezies ( $\text{Al}_b$ ), reaktive Spezies von PACI (Yan, et al. 2008) (Xu, et al. 2011) und Spezies kolloidalen oder festen Aluminiums ( $\text{Al}_c$ ).

$\text{Al}_b$  ist ein kondensiertes basisches Ion mit einer Basizität von  $B=2,8$  (mit  $B=\text{OH}/\text{Al}$ ), das  $\text{AlO}_4\text{Al}_{12}(\text{OH})_{24}^{7+}$ -Kation, auch als  $\text{Al}_{13}$  bezeichnet.  $\text{Al}_{13}$  ist ein hochreaktives Molekül (Liu, et al. 2009) (Matilainen, Vepsäläinen und Sillanpää 2010), welches stark mit negativ geladenen Oberflächen reagiert.

Die Anwesenheit der verschiedenen Al-Spezies  $Al_a$ ,  $Al_b$  und  $Al_c$  ist pH-Wert abhängig. (Liu, et al. 2009) fanden heraus, dass  $Al_b$  bis zu einem pH-Wert  $<5,5$  stabil ist. Ab pH-Werten  $>5,5$  nimmt die Fraktion von  $Al_b$  ab und es tritt eine Aluminiumpräzipitatbildung ein.

#### 4.2.1.4 Wirkmechanismen

Die Konzentration von MS2 in Anwesenheit von gelöstem PACI wurde zusätzlich auch mittels qPCR vermessen. Die so bestimmte detektierbare Fraktion der MS2-Phagen ist die Summe aus infektiösen und nicht infektiösen Viruspartikeln. Die Ergebnisse sind in Abb. 26 im Vergleich zu der mittels Kulturverfahren bestimmten Konzentration an infektiösen Phagen dargestellt. Der Vergleich der dargestellten mit qPCR detektierbaren Fraktionen  $c/c_0$  mit  $c_0$  als Anfangskonzentration und  $c$  als Konzentration nach der Zugabe von gelöstem PACI zeigt, dass MS2 weiterhin intakt als nicht infektiöser Phage in der Lösung vorlag. Somit liegt die Vermutung nahe, dass die geringe detektierbare infektiöse Fraktion durch eine Inhibierung des Infektionsweges verursacht wurde.

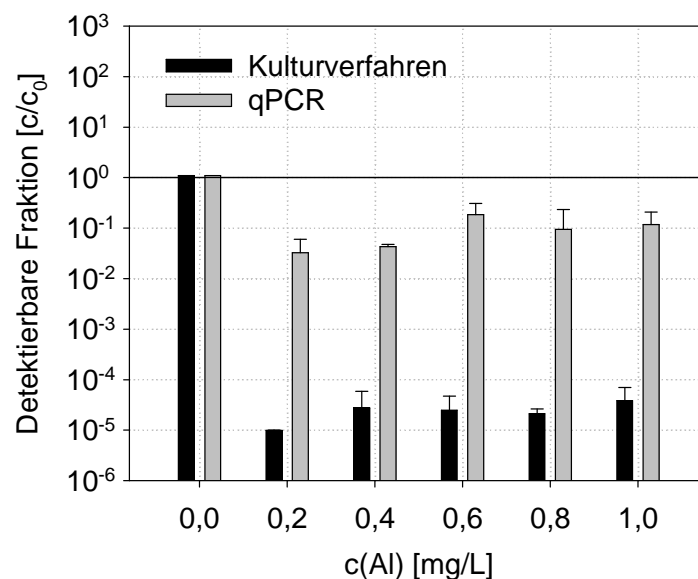


Abb. 26 Detektierbare MS2 Fraktion in Anwesenheit von gelöstem PACI gemessen mit Kulturverfahren und qPCR.

Die Inaktivierung von MS2 trat bereits bei geringen Konzentrationen von  $7 \mu\text{mol Al/L}$  gelöstem PACI ein und konnte zusätzlich auch bei dem F-spezifischen Phagen Q $\beta$  beobachtet werden. Somit kann angenommen werden, dass bereits kleine Mengen an polymerisierten Al-Kationen ausreichen, um die Überlebensrate von MS2 zu reduzieren. Dies unterstützt mit Hinblick auf die vergleichbare Wirkung auf Q $\beta$  die Annahme, dass der Infekti-

onsweg der F-spezifischen Phagen gestört wurde. Der Infektionsweg ist abhängig von der Funktionalität des Reifungsproteins A, welches in geringer Kopienzahl ( $n=1$ ) auf der Oberfläche der F-spezifischen Phagen vorhanden ist (Curtiss und Krueger 1974). Dieses Protein ist, neben der RNA-Packung, dafür verantwortlich, dass der Phage an den F-Pili des Wirtsbakteriums anlagert (Golmohammadi, et al. 1993) (Stavis und August 1970).

Während der Injektion der Phagen-RNA wird das Protein hydrolysiert und in zwei Teile aufgespalten. Ein Teil verbleibt am RNA-Molekül, der andere wird in das umgebende Medium entlassen. Ein nicht funktionierendes Reifungsprotein A würde die Phagenadsorption verhindern.

Eine genauere Betrachtung der Interaktion zwischen MS2 und kationischen Al-Polymeren bei pH 4,5 wurde mittels dynamischer Lichtstreuung (DLS) durchgeführt und die Verteilung des hydrodynamischen Durchmessers ( $R_H$ ), sowie der elektrophoretischen Mobilität bei steigender PACI-Konzentration vermessen (Abb. 27). Die Durchführung der Messungen ist in 3.5 beschrieben.

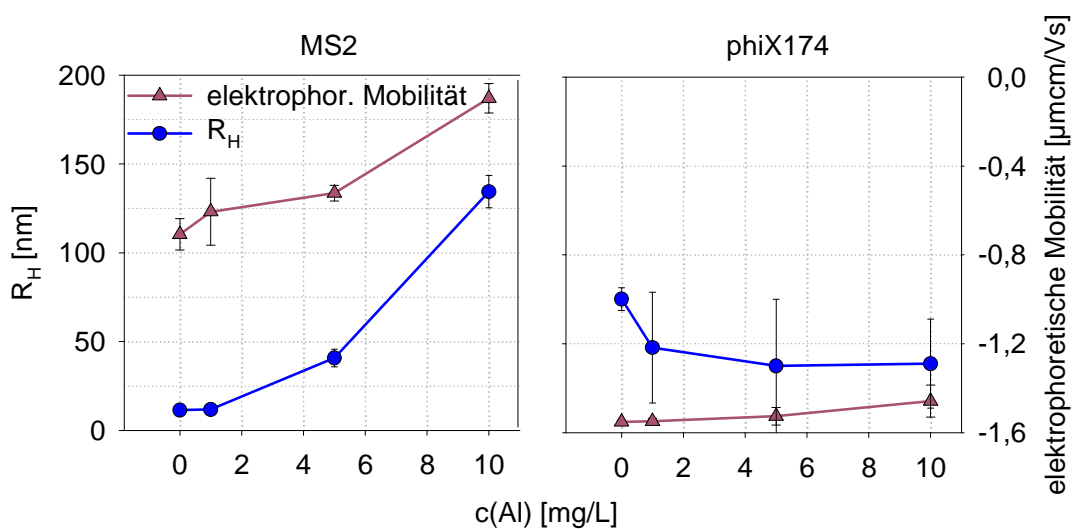


Abb. 27 Verteilung von  $R_H$  und elektrophoretischer Mobilität von MS2 und phiX174 über der eingesetzten PACI-Konzentration.

Der Partikeldurchmesser vergrößerte sich mit zunehmender Konzentration an gelösten kationischen Al-Polymeren. Beide Phagen zeigten eine negative elektrophoretische Mobilität gemäß ihrer negativen Oberflächenladung (Kreißel, Bösl, et al. 2012). Parallel zur Vergrößerung des Partikeldurchmessers verringerte sich die elektrophoretische Mobilität von MS2 und erreichte nahezu 0  $\mu\text{mcm/Vs}$  bei 1 mgAl/L.

phiX174 auf der anderen Seite zeigte ein anderes Verhalten. Der Partikeldurchmesser vergrößerte sich nur wenig und die elektrophoretische Mobilität blieb stabil. Obwohl sich

die elektrophoretische Mobilität bei der geringen Konzentration an polymerisierten Al-Kationen von 0,037 mmolAl/L kaum veränderte, zeigt doch der starke Einfluss des PACI auf MS2 bei hohen Al-Konzentrationen, dass die Oberfläche des Phagen durch das gelöste PACI beeinflusst wurde und somit eine Adsorption von Al<sub>13</sub> auch bei geringen Konzentrationen möglich war, bei welchen aber noch keine Veränderung der elektrophoretischen Mobilität eintrat.

Zusätzlich weist die Größenverteilung darauf hin, dass die geringe Anzahl infektiöser MS2-Phagen bei PACI-Konzentrationen von 0,037 mmolAl/L nicht von einer irreversiblen Agglomeration der Phagen herrühren konnte, da der Partikeldurchmesser in der Probe konstant bei (11±2) nm lag. Erst bei höheren PACI-Konzentrationen war ein Agglomerationsverhalten zu beobachten, in Übereinstimmung mit einer geringer werdenden Oberflächenladung und damit auch reduzierten elektrostatischen Abstoßungskräften zwischen gleichgeladenen Partikeln. phiX174 dagegen wies keine messbare Modifikation der Oberfläche auf, sowohl Partikeldurchmesser als auch elektrophoretische Mobilität blieben im untersuchten PACI-Konzentrationsbereich konstant.

phiX174 zeigte bei diesen Messungen eine negative Oberflächenladung auf, entgegen der Literaturangaben (Dowd, et al. 1998) (Michen und Graule 2010), die einen IEP von 6,6 und somit eine positive Oberflächenladung für einen pH-Wert von 4,5 angeben. Andere berichten jedoch ebenfalls von einem niedrigeren IEP für phiX174 (Attinti, et al. 2010) (Aronino, et al. 2009). Eine mögliche Erklärung wäre eine Umhüllung des Phagen durch organisches Material des Anzuchtmediums, welches einen extrem hohen DOC von 34 mg/L, im Vergleich zu 9 mg/L des MS2-Anzuchtmediums, aufweist. Dieser Effekt des Mediums wird auch von (Mesquita, et al. 2010) diskutiert. Durch die Anlagerung von organischem Material kann die Scherfläche der diffusen Doppelschicht um die Oberfläche nach außen verschoben werden und somit die eigentlich positive Ladung des Phagen maskieren. Dieses Phänomen ist für Nanopartikel in aquatischer Umgebung beschrieben (Christian, et al. 2008) und kann zusätzlich zu einer sterischen Stabilisation der Nanopartikel führen (Jekel 1985) (Zhang, et al. 2009) (Baalousha 2009). Weiterhin kann die Hülle als zusätzlicher Schutz des Phagen dienen, indem Al<sub>13</sub> Polymere keine Modifikation der Phagenoberfläche herbeiführen können.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass der Infektionsweg F-spezifischer Phagen durch die bei der PACI-Flockung vorkommenden gelösten kationischen Al-Polymere wie das Al<sub>13</sub> inhibiert wird. Für den somatischen Phagen ist ein solcher Effekt nicht zu beobachten, sodass bei ihm keine Beeinflussung der Flockungsergebnisse durch Inaktivierungserscheinungen zu erwarten ist.

## 4.2.2 Labor- und halbtechnische Flockungsversuche

### 4.2.2.1 Auswirkungen der Phagenkonzentration auf das Flockungsergebnis

Die Bestimmung des Virenrückhaltes durch Spiking-Tests im Labor bedingt einige Versuchsbedingungen, die so nicht im großtechnischen Aufbereitungsprozess vorkommen. Die künstlich erhöhte Konzentration an Bakteriophagen im Zulauf zählt ebenso dazu wie unterschiedliche Aufbauten und Prozessbedingungen. Während im Labor in Batchversuchen im Becherglas geflockt wird und mit einem Plattenrührer gerührt wird, liegen im großtechnischen Prozess eine kontinuierliche Durchströmung der einzelnen Prozessschritte, unterschiedliche Rührergeometrien und natürlich andere räumliche Dimensionen mit veränderten Randeffecten (Wandreibung, Scherkräfte, etc.) vor.

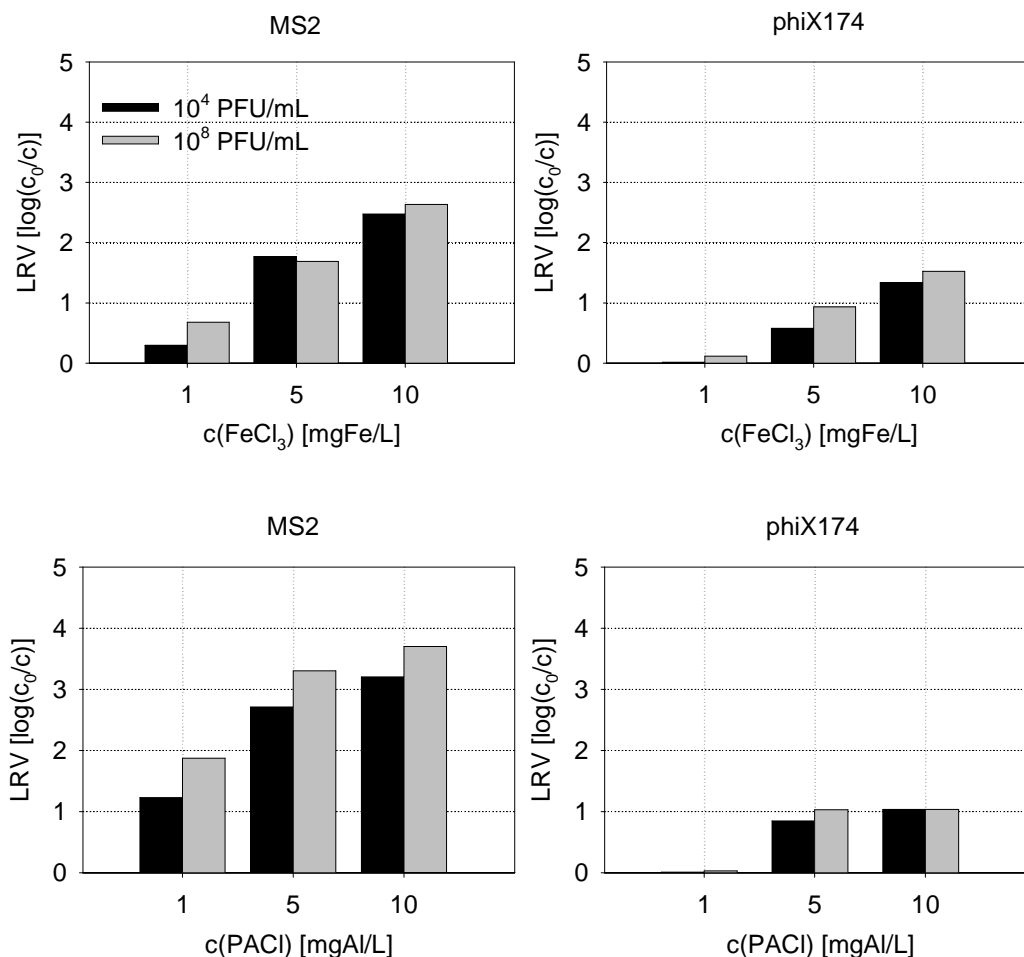


Abb. 28 Rückhalt von MS2 und phiX174 in verschiedenen Ausgangskonzentrationen in Flockungsversuchen mit FeCl<sub>3</sub> und PACl in Wasser 1 im Labormaßstab (ermittelt durch Kulturverfahren).

Zur Bewertung der Übertragbarkeit der Laborversuche auf großtechnische Prozesse wurde der Einfluss der oben genannten Bedingungen überprüft. Um den Praxisbezug solcher Tests sicherzustellen, ist es wichtig, dass die bestimmten Rückhaltewerte auch für niedri-

gere Virenkonzentrationen (z.B. Flusswasser) Gültigkeit haben. Bei sehr geringen Konzentrationen von Viren, wie sie z.B. im Rohwasser von Talsperren vorkommen, überwiegen jedoch statistische Effekte, die eine größere Schwankungsbreite hervorbringen.

In Abb. 28 sind Rückhalteergebnisse von Flockungsversuchen im Labormaßstab dargestellt, bei welchen das mit Bakteriophagen gespikte Modellwasser mit  $\text{FeCl}_3$ , bzw. PACl geflockt wurde. MS2 und phiX174 wurden in den Ausgangskonzentrationen von  $10^4$  und  $10^8$  PFU/mL dosiert.

Der Rückhalt (log removal value) beider Phagen zeigte sich für die eingesetzten Flockungsmittelarten und –konzentrationen von der untersuchten Ausgangskonzentration von MS2 und phiX174 unabhängig. Die ermittelten Rückhalte sind für die Ausgangskonzentration von  $10^8$  und  $10^4$  PFU/mL vergleichbar.

#### 4.2.2.2 Einfluss von Flockungsmittelart und –konzentration

Wie bereits in 4.2.1 beschrieben, wurde eine Inaktivierung des F-spezifischen Bakteriophagen MS2 bei der Flockung mit dem Flockungsmittel PACl beobachtet. Die mit Kulturverfahren (KV) und qPCR bestimmten Rückhalte (3.8 Flockungsversuche) für MS2 bei PACl- und  $\text{FeCl}_3$ -Flockungen in Wasser 1, sowie der aus der Bilanzierung der Phagenmenge in der Flockensuspension bestimmte Verlust an Bakteriophagen durch Inaktivierung während der Flockung im Labormaßstab sind in Abb. 29 dargestellt.

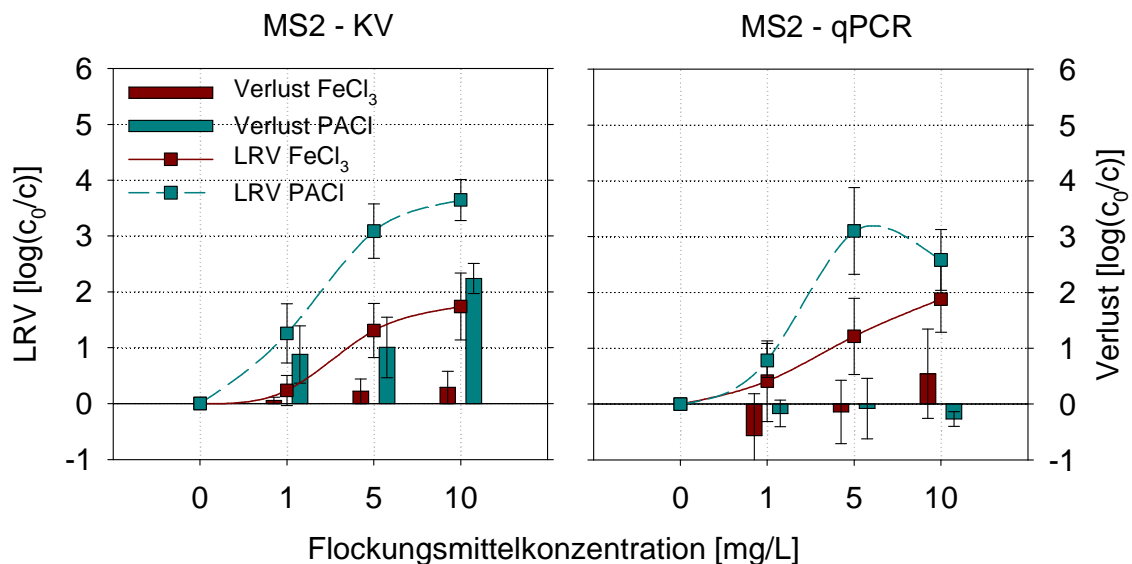


Abb. 29 Einfluss von Flockungsmittelart und –konzentration auf den mittels Kulturverfahren und qPCR ermittelten Rückhalt bzw. Verlust von MS2 in Flockungsversuchen im Labormaßstab.

Durch die Inaktivierung wurden im Labor für MS2 mit dem Kulturverfahren sehr hohe scheinbare Rückhalte von bis zu 4 log-Stufen in den Flockungsversuchen mit PACI gemessen. Diese Rückhalte können als Summe aus mechanischer Abtrennung und Inaktivierung betrachtet werden. Der Anteil der Bakteriophagen, welcher durch Inaktivierung nicht zu detektieren war wurde als Verlust bestimmt (3.4.1.4) und lag für die untersuchten Flockungsmittelkonzentrationen bei 1 – 2 log-Stufen. Die Messungen der MS2-Konzentration mittels qPCR ergaben für Wasser 1 geringere Rückhalte von maximal 3 log-Stufen. Die Bilanzierung der Bakteriophagen zeigte, dass der mit qPCR ermittelte Verlust vernachlässigbar war und der so erhaltene Rückhalt allein auf die mechanische Abtrennung zurückzuführen war. Für das Flockungsmittel  $\text{FeCl}_3$  war sowohl der durch KV als auch durch qPCR ermittelte Verlust gering.

Für den somatischen Coliphagen phiX174 konnte bei der Bestimmung der Konzentration über das Kulturverfahren keine starke Inaktivierung beobachtet werden (Abb. 30).

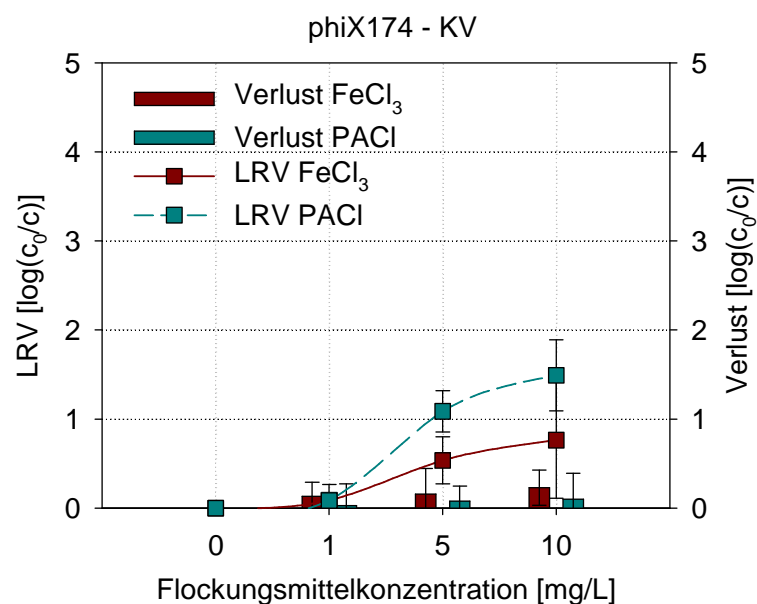


Abb. 30 Einfluss von Flockungsmittelart und -konzentration auf den mittels ermittelten Rückhalt von phiX174 in Flockungsversuchen im Labormaßstab.

Bei 1 mg(Fe, bzw. Al)/L war der allgemeine Rückhalt relativ gering. Für beide Phagen war ein erhöhter Rückhalt mittels PACI-Flockung zu erkennen, der ab einer PACI-Dosierung >1 mgAl/L deutlich hervortrat. Mittels  $\text{FeCl}_3$ -Flockung wurde für beide Bakteriophagen ein eindeutig geringerer Rückhalt erzielt. Der Unterschied zur PACI Flockung betrug 0,5 – 2,0 log-Stufen für MS2 und 0,1 – 1,0 log-Stufen für phiX174.

Bei Flockungs-pH-Werten von 6,5 bzw. 6,7 wurde, entsprechend dem Stabilitätsdiagramm von Eisen und Aluminium, die Flockung der Bakteriophagen hauptsächlich durch Ein-



schluss bei Schwarmflockung erreicht. Dabei kommt es an der Teilchenoberfläche durch die schnelle Bildung von  $\text{Me}(\text{OH})_3$  zu einer Erhöhung der Volumenfraktion der Feststoffe, die Fällung an der Teilchengrenzfläche beginnt und es kommt zur Einhüllung in die Flockenstruktur führt. Durch die Flockungsmittelart, die Oberflächeneigenschaften der Teilchen und den herrschenden Flockungs-pH-Wert wird diese Anlagerung an der Teilchengrenzfläche beeinflusst. Die Mechanismen werden in 4.3.2 genauer betrachtet.

Wie bereits diskutiert, liegen durch die Vorpolymerisierung von PACI in der Flockungsmittelstammllösung hoch kationische hydrolysierte Al-Polymere vor, die eine hohe Adsorptionsneigung aufweisen. Dabei ist bekannt, dass besonders bei hydrophoben Kolloiden die Adsorption hydrolysierter Metallkationen um einiges bereitwilliger abläuft, als die Adsorption freier Aquo-Metallionen. Je höher der Hydrolysegrad, umso besser und schneller die Anlagerung (Bratby 2006).

Die Mechanismen, die hinter diesem Phänomen stehen, sind bisher nicht ausreichend verstanden. Es scheint jedoch so zu sein, dass die Anwesenheit von Hydroxylionen in der Koordinationshülle (Hydrathülle um das Aluminiumkation) dafür verantwortlich ist. Warum jedoch gerade Hydroxylionen die Adsorption von Gegenionen fördern, muss noch geklärt werden. Eine Erklärung ist eine möglicherweise erhöhte Hydrophobizität der Metallhydroxidkomplexe durch den Austausch von Wasser in der Koordinationshülle gegen ein Hydroxylion (Bratby 2006).

Die erhöhte Anlagerung von hydrolysierten Flockungsmittelspezies an hydrophobe Kolloidoberflächen erklärt zusätzlich zum verbesserten Rückhalt beider Phagen durch PACI die unterschiedlichen Rückhaltewerte für MS2 und phiX174. Neben einer negativeren Oberflächenladung haben Kontaktwinkelmessungen und andere Methoden ergeben, dass MS2 deutlich hydrophobere Eigenschaften aufweist als phiX174 (Schijven und Hassanizadeh 2000) (Attinti, et al. 2010). Die Anlagerung der Flockungsmittelspezies an MS2 und damit auch die Flockenbildung an den Bakteriophagen ist somit deutlich begünstigt, sodass mit einem erhöhten Rückhalt zu rechnen ist.

Je höher die eingesetzte Flockungsmittelmenge, umso besser war zunächst der Rückhalt beider Phagen. Mit zunehmender Menge an hydrolysierten Flockungsmittelspezies kommt es zu einer deutlicheren Schwarmflockung und somit zum Einschluss der Bakteriophagen in die sich bildenden Hydroxidpräzipitate. Die Kurven, die die Rückhaltewerte beschreiben, scheinen einem Plateau zuzustreben, da die Erhöhung der Flockungsmittelmenge von 5 auf 10 mg(Al bzw. Fe)/L nur noch eine verminderte Verbesserung des Rückhaltes bewirkt. Dies deutet auf eine einsetzende Umladung der Partikel durch ein Überangebot

an hydrolysierten Flockungsmittelspezies hin. Dieser Effekt ist besonders für das stärker adsorbierende PACI zu beobachten.

#### 4.2.2.3 Einfluss der Wasserqualität

Die Flockung von Bakteriophagen in natürlichen Talsperrenwässern unterscheidet sich von der Flockung in Wasser 1 durch die Anwesenheit zusätzlicher Fraktionen an Teilchen und Organik. Zum Vergleich wurden für diese Arbeit zwei aufbereitete Grundwässer und zwei Talsperrenroh wässer herangezogen. In Laborversuchen wurden diese Wässer entsprechend dem Flockungsprotokoll mit MS2- und phiX174-Bakteriophagen gespiked und mit 0 – 10 mg(Fe bzw. Al)/L geflockt. Die Rückhaltewerte, die sich für MS2 und phiX174 ergaben, sind in Abb. 31 dargestellt. Die Messungen wurden mittels qPCR durchgeführt, um die Inaktivierung von MS2 auszuschließen.

Der zuvor beobachtete Trend, dass MS2 besser als phiX174 zurückgehalten wurde und die Flockung mit dem vorhydrolysierten PACI höhere Rückhalte lieferte als mit  $\text{FeCl}_3$ , waren auch in den natürlichen Wässern zu beobachten.

Zusätzlich ist erkennbar, dass eine Unterscheidung der aufbereiteten Grundwässer und der Rohwässer vorgenommen werden kann. In den Rohwässern wurden die beiden Phagen tendenziell besser zurückgehalten als in den aufbereiteten Wässern.

Während z.B. für MS2 mit  $\text{FeCl}_3$  maximale Rückhalte von  $3,5 \pm 0,9$  log-Stufen in Wasser 2, bzw.  $3,8 \pm 1,4$  log-Stufen für Wasser 3 erreicht wurden, wurden in den aufbereiteten Grundwässern, Wasser 0 und Wasser 1, nur Rückhalte von  $0,5 \pm 1,0$  und  $1,9 \pm 0,6$  log-Stufen gemessen.

Die Rohwässer unterschieden sich zu den aufbereiteten Grundwässern in ihrer Partikel- und Organikkonzentration. Das natürliche organische Material (NOM) setzte sich aus verschiedenen echt gelösten und kolloidalen Makromolekülen zusammen, die bei der Zersetzung organischen Materials entstehen. Ein Maß dafür ist der SAK-254. Die Fulvinsäuren sind echt gelöste hydrophile Moleküle, der Huminsäureanteil dagegen weist kolloidale hydrophobe Eigenschaften mit einer negativen Ladung auf. Eine Charakterisierung des Quotienten SAK-254/DOC als Summenparameter wurde von (Edzwald und Tobiason 1999) vorgenommen und ist in Tab. 15 dargestellt.

Bei der Betrachtung der Wasserparameter (Tab. 16) wird deutlich, dass die Rohwässer mit einem SAK-254/DOC-Quotienten von  $3,1 \pm 0,1$  bis  $4,5 \pm 1,0$  eine deutlich kolloidaleren Huminsäurefraktion aufwiesen als die aufbereiteten Grundwässer mit Werten von  $1,3 \pm 0,2$  – 1,9. In den Wässern mit kolloidal vorliegendem NOM wurden die Phagen tendenziell

besser zurückgehalten als in den Wässern mit Huminstoffen von geringerer molarer Masse.

Tab. 15 Unterteilung der im Wasser vorhandenen Organik anhand des Quotienten SAK-254/DOC und dessen Einfluss auf den Flockungsprozess (Edzwald und Tobiason 1999).

SAK(254)/DOC	Zusammensetzung	Flockung
>4	Überwiegend aquatische Huminstoffe, hohe Hydrophobizität, hohe molarer Masse	NOM kontrolliert
2 – 4	Mischung aus aquatischen Huminstoffen und anderen NOMs, Mischung aus hydrophilen und -phoben NOMs, verschiedene molare Massen	NOM beeinflusst
<2	Meist keine Huminstoffe, geringe Hydrophobizität, geringe molare Masse	unabhängig von NOM

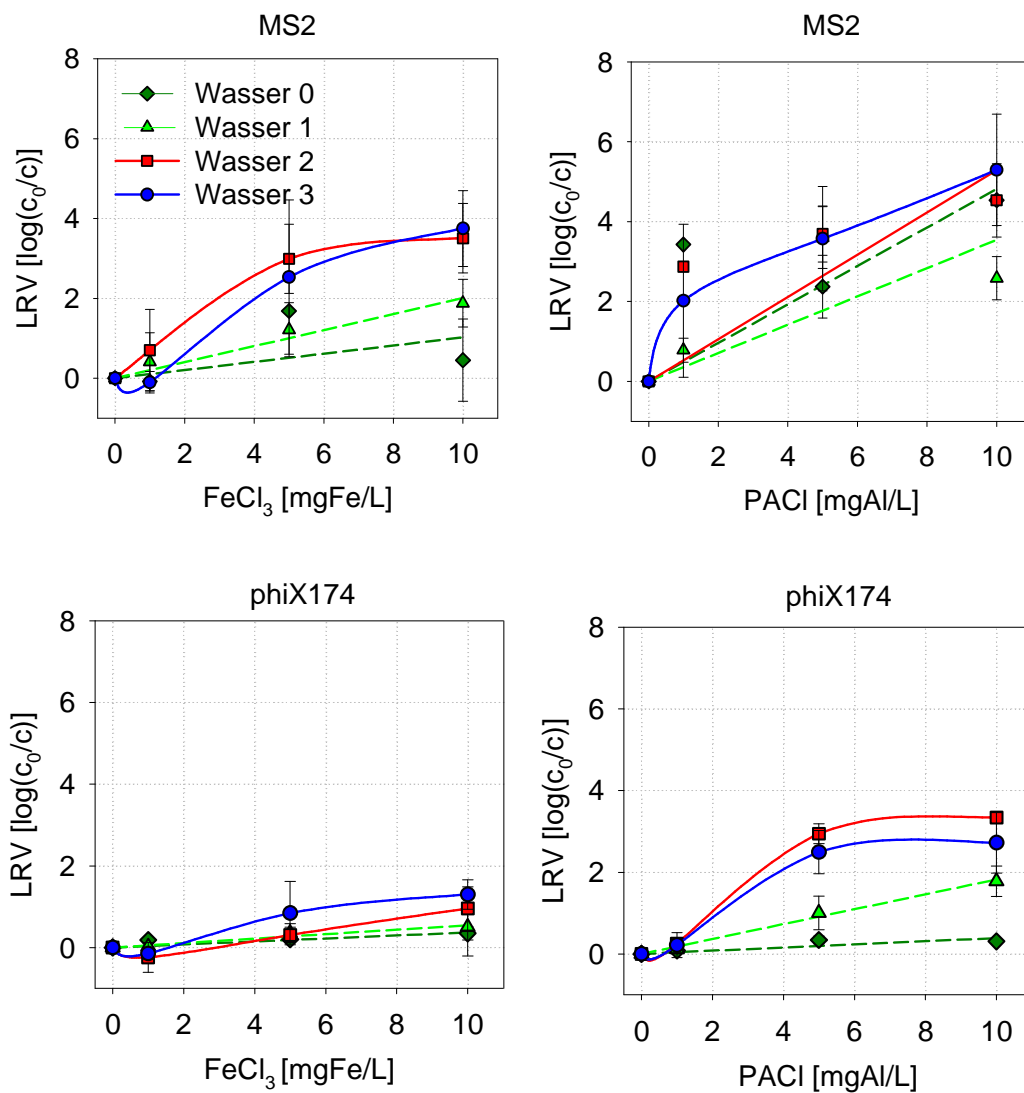


Abb. 31 Rückhalt von MS2 und phiX174 durch Flockung mit 0 – 10 mg(Al bzw. Fe)/L PACI und FeCl<sub>3</sub> in vier verschiedenen Testwässern (ermittelt mit qPCR).

Ein Vergleich der Wässer anhand der im Wasser befindlichen Partikel mit der Größe  $>1 \mu\text{m}$  zeigte allerdings auch eine um ca. eine log-Stufe höhere Konzentration an Partikeln in den unbehandelten Oberflächenwässern gegenüber den aufbereiteten Grundwässern. Es wäre anzunehmen, dass die Einbettung eines erhöhten Partikelanteils in die entstehende Flocke eine vernetztere Flockenstruktur und mehr Adsorptionsplätze bedingt und somit zu einem verbesserten Rückhalt der Bakteriophagen führt.

Tab. 16 Partikel- und Organikkonzentration der untersuchten Wässer.

Wasser	SAK-254 [1/m]	DOC [mg/L]	SAK-254/ DOC	Partikel $>1$ $\mu\text{m}$ [1/mL]
0	$4,1 \pm 0,3$	$2,2 \pm 0,3$	$1,9 \pm 0,0$	500
1	$0,8 \pm 0,1$	$0,5 \pm 0,1$	$1,3 \pm 0,2$	500
2 gefiltert	$6,8 \pm 0,3$	$1,6 \pm 0,3$	$4,5 \pm 1,0$	750
2 ungefiltert	$6,9 \pm 0,4$	$1,7 \pm 0,3$	$4,1 \pm 1,2$	3.000
3	$7,0 \pm 0,2$	$2,3 \pm 0,1$	$3,1 \pm 0,1$	5.000

Um dies zu prüfen, wurde Wasser 2 einmal als Rohwasser unfiltriert (3.000 Partikel/mL) und einmal nach Filtration über einen Schnellsandfilter (750 Partikel/mL) für Flockungsversuche im Labormaßstab eingesetzt. Die im Wasser befindliche Organik wurde durch diesen Aufbereitungsschritt nicht wesentlich beeinflusst, sodass sich die Wässer einzig in ihrer Partikelkonzentration unterschieden. In Abb. 32 sind die Ergebnisse der Flockungen mit  $\text{FeCl}_3$  und PACl dargestellt.

Es wird deutlich, dass bei diesen Versuchen durch die erhöhte Partikelkonzentration, im Gegensatz zur Annahme, keine verbesserte Phagenelimination beobachtet werden konnte. Sowohl für MS2 als auch für phiX174 ist erkennbar, dass bei der Flockung mit  $\text{FeCl}_3$  die Ergebnisse für beide Wässer vergleichbar waren. Für das vorhydrolysierte PACl wurde sogar ein um 1 bis 1,5 log-Stufen besserer Rückhalt der Phagen bei geringerer Partikelkonzentration beobachtet.

Wie bereits angesprochen ist der Hauptflockungsmechanismus bei pH 6,5 und pH 6,7 die Schwarmflockung, bei welcher es an der Partikeloberfläche zu einer Ausfällung des Flockungsmittels als  $\text{Me}(\text{OH})_3$  kommt. Dabei zeichnet sich das hydrolysierte PACl durch eine deutlich höhere Adsorptionsneigung als  $\text{FeCl}_3$  aus, welches bei neutralen pH-Werten als wenig hydrolysierte Flockungsspezies vorliegt. Durch die erhöhte Partikeloberfläche, die in dem ungefilterten Rohwasser vorlag, schien sich die für die Phagen zur Verfügung stehende Flockungsmittelmenge zu verringern, da es an den Partikeln  $>1 \mu\text{m}$  zu einer vermehrten Flockenbildung kam, die weniger Bakteriophagen mit einschloss.

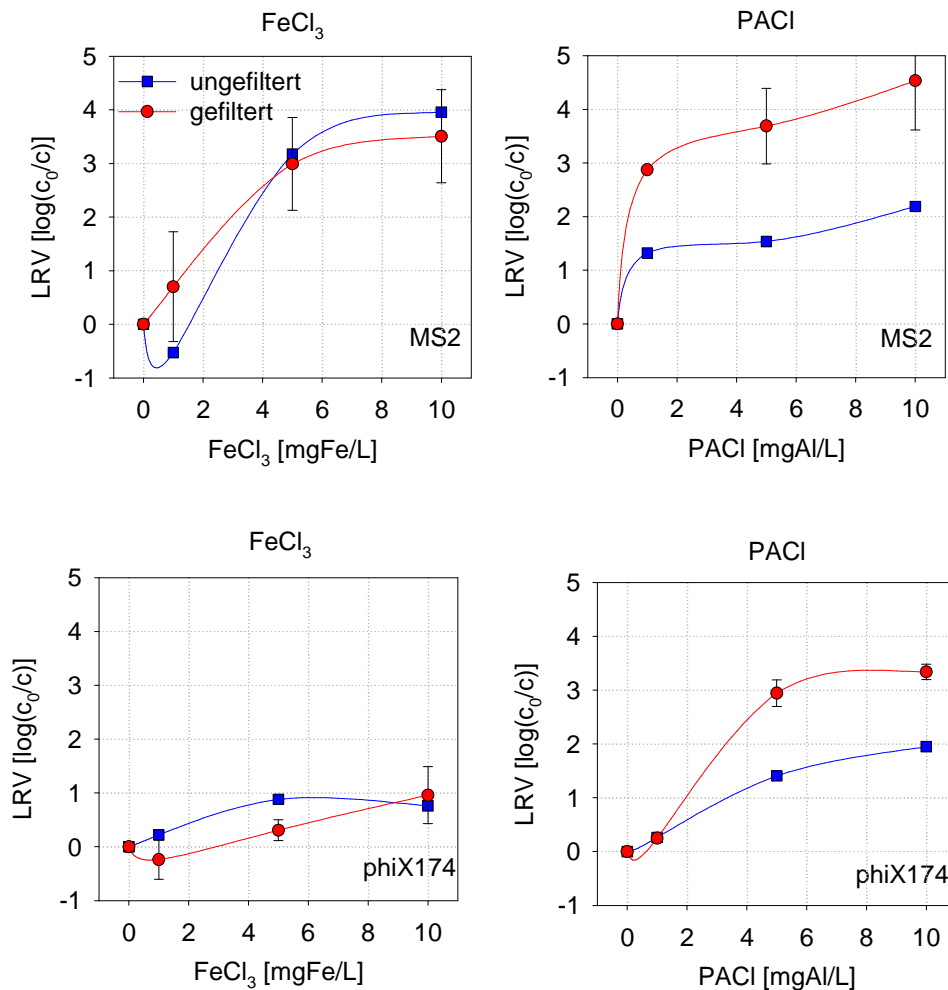


Abb. 32 Einfluss der Partikelkonzentration in Wasser 2 auf das Flockungsergebnis mit FeCl<sub>3</sub> und PACI für MS2 und phiX174 (ermittelt mit qPCR).

Die Ergebnisse aus Abb. 31 und Abb. 32 lassen folgende Schlüsse zu. Ein hoher NOM-Anteil mit kolloidalen Eigenschaften beeinflusste die Einschussflockung der Phagen positiv. NOM konnte diesen Mechanismus durch Brückenbildung zwischen Metallhydroxiden und Bakteriophagen unterstützen. Eine hohe Partikelkonzentration dagegen schien bei stark adsorbierenden Flockungsmitteln wie PACI zu einer Reduktion der für die Flockenbildung an den Bakteriophagen zur Verfügung stehenden Flockungsmittelspezies zu führen und wirkte sich eher negativ auf den Rückhalt der Bakteriophagen MS2 und phiX174 aus.

#### 4.2.2.4 Vergleich von labor- und halbtechnischen Versuchen

Nach der Beschreibung der Flockungseffekte, die in den Laborversuchen ermittelt werden konnten, steht noch die Frage der Übertragbarkeit auf praxisrelevante großtechnische Prozesse aus. Die unterschiedlichen Prozessbedingungen, wie kontinuierliche Fahrweise im großtechnischen Prozess gegenüber den Batchversuchen im Labormaßstab, unter-

schiedliche Rührergeometrien und die verschiedenen räumlichen Dimensionen mit ihren potentiellen Einflüssen wie Wandreibung und Scherkäften könnten eine Übertragbarkeit verhindern. Zur Überprüfung wurden Scale-up-Versuche durchgeführt und der Maßstab von labortechnischen Volumina (0,5 L) auf halbtechnische Anlagen erhöht. In diesen Anlagen wurden großtechnische kontinuierliche Prozesse mit einem Durchsatz von 1 m<sup>3</sup>/h bis 6,2 m<sup>3</sup>/h mit den unbehandelten Oberflächenwässern Wasser 2 und Wasser 3 simuliert (siehe 3.9.2). Zusätzlich zu der Bestimmung der Rückhalteleistung der konventionell an den großtechnischen Anlagen der jeweiligen Talsperren eingesetzten Flockungsparameter, wurden auch die in den Laborversuchen untersuchten 1–10 mg(Al bzw. Fe)/L PACl und FeCl<sub>3</sub> eingesetzt. An jeder Anlage wurde ein erster Versuchsbetrieb mit PACl und beiden Bakteriophagen durchgeführt, um die PACl-Inaktivierung von MS2 zu überprüfen. Da sich ein Verlust an MS2-Phagen an jeder Anlage einstellte, wurde im Folgenden auf die Dosierung von MS2 während der PACl-Flockung verzichtet.

Vor den Flockungsversuchen an Talsperre A mit Wasser 2 wurden Nullversuche (Tab. 17) durchgeführt, bei denen das Adsorptionsverhalten der Phagen, sowie die Rückhalteleistung des Mehrschicht-Schnellsandfilters ermittelt wurden. Zusätzlich gaben diese Versuche Aufschluss über die Verweilzeiten in der halbtechnischen Anlage.

Es zeigte sich, dass spätestens nach 90 min die Konzentration der Phagen im Ablauf des Mehrschichtfilters in der Größenordnung der Zugabekonzentration lag. Somit konnte keine messbare Rückhalteleistung des Filters, sowie kein Verlust an Phagen durch Adsorption an die Anlagenwandungen ermittelt werden.

Tab. 17 Ermittelte Phagenkonzentrationen [PFU/mL] in Wasser 2 im Ablauf des Mehrschicht-Schnellsandfilters ohne Flockungsmitteldosierung.

Phage	Probe	1. Versuch	2. Versuch
MS2	Zudosierung	8,8*10 <sup>5</sup>	5,0*10 <sup>5</sup>
	Ablauf Filter 60 min	6,8*10 <sup>5</sup>	1,4*10 <sup>4</sup>
	Ablauf Filter 90 min	7,1*10 <sup>5</sup>	-
	Ablauf Filter 120 min	8,3*10 <sup>5</sup>	2,9*10 <sup>5</sup>
phiX174	Zudosierung	5,0*10 <sup>5</sup>	7,1*10 <sup>4</sup>
	Ablauf Filter 60 min	6,4*10 <sup>5</sup>	1,2*10 <sup>4</sup>
	Ablauf Filter 90 min	7,9*10 <sup>5</sup>	-
	Ablauf Filter 120 min	6,9*10 <sup>5</sup>	7,0*10 <sup>4</sup>

Für die in der großtechnischen Anlage gefahrenen Flockungsbedingungen (0,7 mgAl/L PACl, pH 6,7) wurde an der halbtechnischen Anlage der Phagenrückhalt sowie der Verlust nach Flockungsmitteldosierung bestimmt (Tab. 18). Zur Ermittlung des Verlustes wur-

de nach der Flockungsmitteldosierung und nach dem Flockungsbecken eine Mischprobe der Flockensuspension entnommen und die Phagenkonzentration nach mechanischer Zerstörung der Flocken vermessen.

Tab. 18 Ermittelte Phagenkonzentrationen an der halbtechnischen Anlage mit Wasser 2 unter großtechnischen Flockungsbedingungen.

Phage	Probe	Konz. [PFU/mL]	Rückhalt [log-Stufen]	Verlust [log-Stufen]
MS2	Zudosierung	$3,4 \cdot 10^5$		
	Ablauf Filter 60 min	$1,5 \cdot 10^2$	3,3	
	Ablauf Filter 90 min	$9,5 \cdot 10^1$	3,6	
	Ablauf Filter 120 min	$5,9 \cdot 10^1$	3,8	
	Flockensuspension 90 min	$3,7 \cdot 10^2$		3,0
phiX174	Zudosierung	$5,4 \cdot 10^4$		
	Ablauf Filter 60 min	$1,6 \cdot 10^4$	0,5	
	Ablauf Filter 90 min	$1,7 \cdot 10^4$	0,5	
	Ablauf Filter 120 min	$2,4 \cdot 10^4$	0,3	
	Flockensuspension 90 min	$7,3 \cdot 10^4$		-0,1

Für MS2 war eine starke Inaktivierung von 3,0 log-Stufen zu beobachten. Für phiX174 wurde kein Verlust ermittelt, die Konzentration in der Suspension war mit der Ausgangskonzentration vergleichbar. Es wurde für phiX174 ein Rückhalt von  $0,5 \pm 0,1$  log-Stufen ermittelt.

Die Ergebnisse der Vergleichsversuche sind für Wasser 2 in Abb. 33 und Abb. 34 dargestellt. In Abb. 33 sind die erzielten Rückhalte von MS2 und phiX174 für die unterschiedlichen Flockungsmittelarten und -mengen aufgetragen.

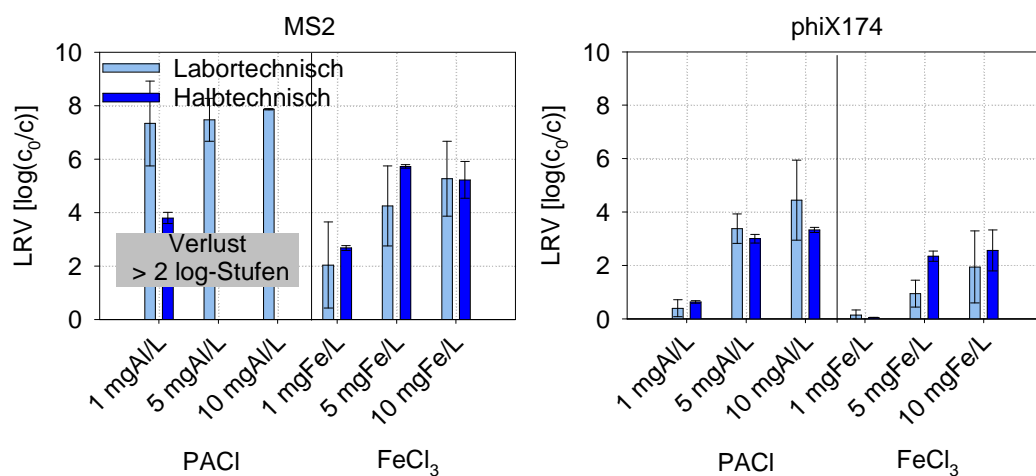


Abb. 33 Vergleich von halbtechnischen Versuchen und Laborversuchen mit Wasser 2, Rückhalt von MS2 und phiX174.

Es wird deutlich, dass die Ergebnisse an der halbtechnischen Anlage mit 6,5 m<sup>3</sup>/h mit den Ergebnissen der Laborversuche im Rahmen der Schwankungsbreite übereinstimmen. Für MS2 wurden mit der FeCl<sub>3</sub>-Flockung Rückhalte zwischen 1,0 und 5,0 log-Stufen (bei maximal 0,18 mmolFe/L) erreicht. Für phiX174 lagen die Werte zwischen 0,5 und 4,0 log-Stufen für PACl und zwischen 0,2 bis 2,5 log-Stufen für FeCl<sub>3</sub>. In Abb. 34 sind die Messungen der Begleitparameter gegenüber gestellt.

Es zeigt sich hier eine höhere Schwankungsbreite als bei den Ergebnissen der Bakteriophagenrückhalte, jedoch sind auch hier die Tendenzen miteinander vergleichbar. Insbesondere fällt für die Flockung mit 1 mgFe/L auf, dass die Ergebnisse der Laborversuche und der halbtechnischen Versuche voneinander abwichen. Während für die Laborflockung ein Rückhalt von Trübung und SAK-254 von je um die 40 % ermittelt werden konnte, wurde mit der halbtechnischen Flockung kein positives Flockungsergebnis erzielt. Beim Vergleich der Resteisenengehalte zeigte sich, dass mit 0,9 mgFe/L Resteisen die Flockung im halbtechnischen Maßstab nicht funktionierte. Aber auch bei der Laborflockung konnte mit 0,7 mgFe/L Resteisen keine vollständige Flockung erreicht werden, ein geringer Flockungseffekt wurde jedoch erzielt.

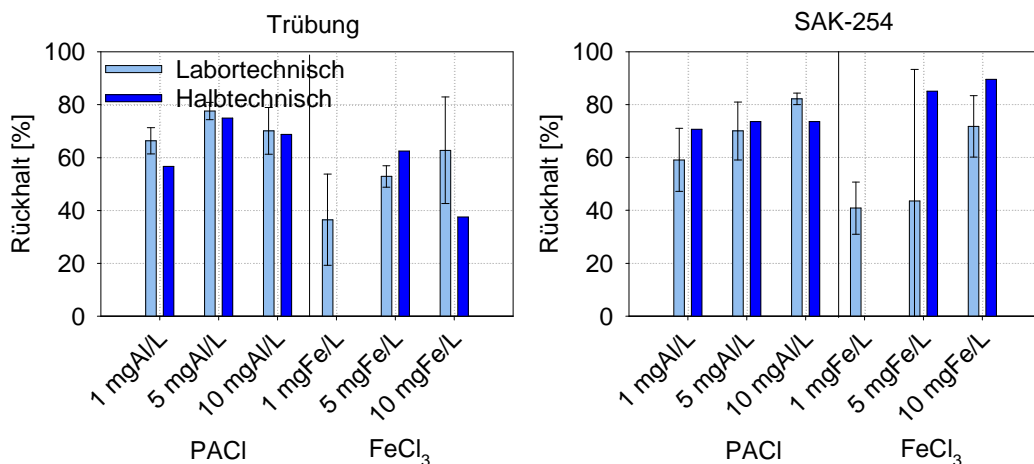


Abb. 34 Vergleich von halbtechnischen Versuchen und Laborversuchen mit Wasser 2, Rückhalt von SAK-254 und Trübung.

An Talsperre B mit Wasser 3 wurden ebenfalls vergleichende Versuche durchgeführt. In Übereinstimmung mit den Laborergebnissen und den Ergebnissen mit Wasser 2 wurde ebenfalls eine starke Inaktivierung von MS2 über 3 log-Stufen beobachtet, sodass weiterführende Versuche mit PACl nur mit phiX174-Phagen durchgeführt wurden (8.8). Der Rückhalt der Phagen an der halbtechnischen Anlage bei großtechnischen Bedingungen (1,3 mgAl/L Al(SO<sub>4</sub>)<sub>3</sub>, pH 6,7) betrug für phiX174 0,5 log-Stufen (8.8). Es wurde ebenfalls



kein messbarer Rückhalt durch den eingesetzten Mehrschicht-Schnellsandfilter beobachtet. Die Ergebnisse der Vergleichsversuche sind in Abb. 35 dargestellt.

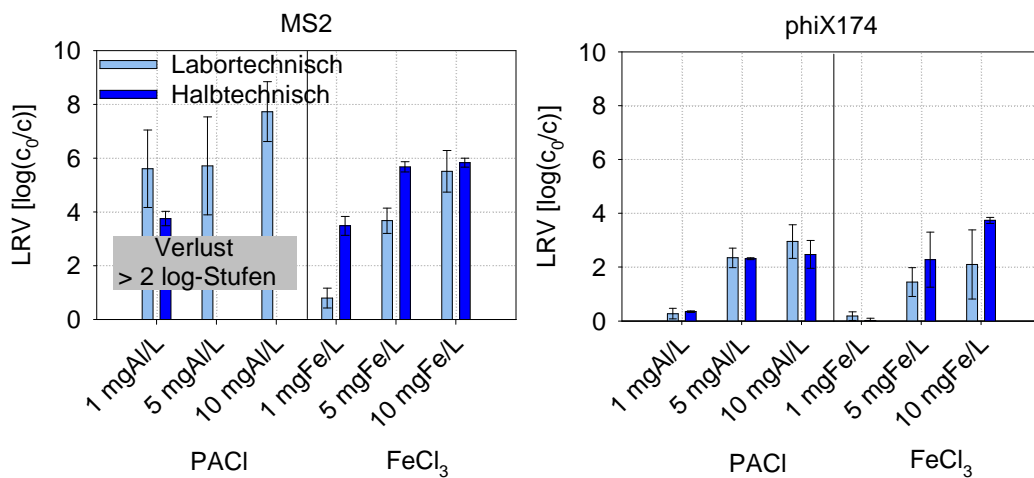


Abb. 35 Vergleich von halbertechnischen Versuchen und Laborversuchen mit Wasser 3, Rückhalt von MS2 und phiX174.

Auch mit Wasser 3 wurde eine Übereinstimmung der Ergebnisse aus Labor und halbertechnischer Anlage erzielt. Ausnahme bildet wiederum die Flockung bei 1 mg Fe/L, welche mit diesem Wasser in der halbertechnischen Flockung besser funktionierte und somit hier ein höherer MS2-Rückhalt als auch ein höherer Rückhalt des SAK-254 (Abb. 36) beobachtet werden konnte.

Auch bei der Betrachtung der Elimination der Begleitparameter (Abb. 36) wird deutlich, dass insbesondere bei den niedrigen Flockungsmittelmengen ein stabilerer Betrieb mit der halbertechnischen Flockung und somit auch ein verbesserter Rückhalt erreicht wurde.

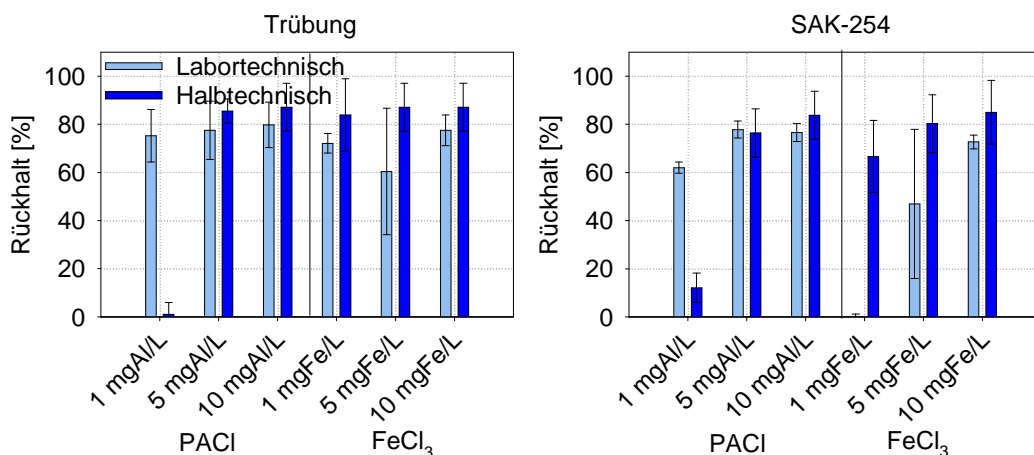


Abb. 36 Vergleich von halbertechnischen Versuchen und Laborversuchen mit Wasser 3, Rückhalt von SAK-254 und Trübung.

(Abbaszadegan, Mayer, et al. 2007) untersuchte den Rückhalt von Bakteriophagen ebenfalls im labor- und halbtechnischen Maßstab für eine Mischung aus Oberflächen- und Grundwasser. Bei einer Dosierung von 40 mgFe/L  $\text{FeCl}_3$  und einem Flockungs-pH-Wert von 5 – 6 wurden für MS2 im Labor (1,5 L im Jartester) 1,8 log-Stufen Rückhalt erreicht. Halbtechnisch (114 L/h) erhöhte sich der Rückhalt auf 3,9 – 4,3 log-Stufen. Für den ebenfalls F-spezifischen Bakteriophagen PRD1 wurden vergleichbare Werte ermittelt. Für phiX174 wurden im Labor 2,5, halbtechnisch max. 3,5 log-Stufen festgestellt. Es zeigt sich bei diesen Versuchen eine tendenziell bessere Rückhaltung im vergrößerten Maßstab. Dies ist auch bei den Versuchen dieser Studie zu beobachten, wobei der Unterschied der Ergebnisse nicht so stark war. Aufgrund der starken Unterschiede der Versuchsbedingungen sind die Ergebnisse verschiedener Studien nur schwer miteinander vergleichbar. Es zeigt sich jedoch, dass die meisten Versuche mit optimalen Flockungsbedingungen für das jeweilige Testwasser einen MS2-Rückhalt kleiner 3,5 log-Stufen lieferten (Gerba, et al. 2003)(Abbaszadegan, Monteiro, et al. 2008) (Nasser, et al. 1995) (Mayer, Ryu und Abbaszadegan 2008). Für phiX174 liegen die Ergebnisse in ähnlichen Größenordnungen von 2,5 – 3,5 log-Stufen (Abbaszadegan, Mayer, et al. 2007)(Mayer, Ryu und Abbaszadegan 2008), wobei von (Teunis, et al. 2009) bei einer Flusswasserflockung auch Werte im Bereich von 1,4 – 5,8 log-Stufen ermittelt wurden.

#### 4.2.3 Flockungsmechanismen

Bei der Diskussion der verschiedenen Einflussfaktoren auf die Flockung wurden bereits einige Beobachtungen zum Flockungsmechanismus der Bakteriophagen gemacht.

Der verbesserte Rückhalt von MS2 und phiX174 durch hydrolysiertes PACl deutet auf Wechselwirkungen von Phagenpartikeln und Flockungsmittel hin, wobei es ähnlich wie bei der in der Literatur beschriebenen SAK-254-Fällung zu einer Reaktion zwischen den beiden Reaktanden an der Virenoberfläche kommt und ein Einschluss der Viren in die sich bildende Flocke stattfindet (Bratby 2006) (Matilainen, Vepsäläinen und Sillanpää 2010). Der Rückhalt nahm mit steigender Flockungsmittelmenge zu, was ebenfalls auf eine Einschlussflockung in die sich bildenden Metallhydroxide hindeutet. Kolloidal vorliegendes NOM verbessert die Einschlussflockung durch Brückeneffekte. Vorhandene Partikel beeinflussten die Flockung mit  $\text{FeCl}_3$  nicht. Die Flockung mit PACl wurde durch eine erhöhte Partikeloberfläche in der Lösung negativ beeinflusst, da weniger Flockungsmittel für die Flockung an den Viruspartikeln zur Verfügung steht. Die vermehrte Flockenbildung an Partikeln  $>1 \mu\text{m}$  schließt weniger Bakteriophagen mit ein.

Aufgrund der anzunehmenden vergleichbaren Flockungsmechanismen von kolloidalem NOM und Bakteriophagen wurde überprüft, ob auch der Rückhalt dieser beiden Parame-

ter miteinander vergleichbar war. Die Ergebnisse mehrerer Versuche an einer halbtechnischen Anlage sind in Abb. 37 zusammengefasst. Wasser 3 wurde mit 5 mgFe/L bei Flockungs-pH-Werten zwischen 4,8 und 8,9 geflockt. SAK-254-, DOC- und Trübungselimination, sowie der Rückhalt von Partikeln >1 µm und Bakteriophagen MS2 und phiX174 wurden bestimmt. Die Flockung war über den gesamten pH-Wertbereich vollständig, was die gemessenen Resteisenkonzentrationen bestätigten (Tab. 19).

Tab. 19 Resteisengehalte bei unterschiedlichen Flockungs-pH-Werten.

pH-Wert Soll	pH-Wert Ist	Resteisen [mgFe/L]
9,0	9,0	<0,01
8,0	8,2	0,05
8,0	8,0	0,02
7,0	7,1	<0,01
6,5	6,5	<0,01
5,5	5,8	<0,01
5,0	4,9	0,03

Der Rückhalt der Bakteriophagen war stark vom eingestellten Flockungs-pH-Wert abhängig. Bei pH-Werten über 7 konnte kein oder nur ein geringer Rückhalt festgestellt werden. Ab pH-Werten < 7 nahm der Rückhalt stark zu und erreichte ab pH-Werten von 6 sein Maximum. MS2 wurde mit einer Reduktion um 6,7 log-Stufen nahezu vollständig zurückgehalten, phiX174 erreichte eine maximale Reduktion von 2,7 log-Stufen.

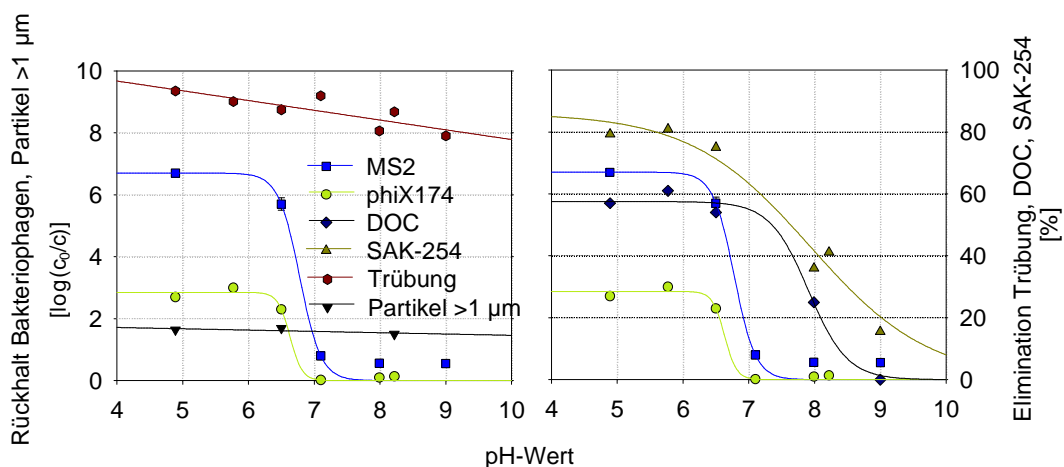


Abb. 37 Vergleich der Elimination von Begleitparametern und des Phagenrückhaltes bei unterschiedlichen Flockungs-pH-Werten (Wasser 3, Flockung mit FeCl<sub>3</sub>).

Die Elimination der Parameter Trübung und Partikel >1 µm war dagegen über den untersuchten pH-Bereich deutlich konstanter. Während bei den Partikeln >1 µm der Rückhalt

bei 1,8 log-Stufen lag, ergab eine pH-Wert-Absenkung eine leichte Verbesserung der Trübungselimination von 70 % auf 94 %.

Ein anderes Bild ergab sich bei dem Vergleich des Rückhaltes von DOC und SAK-254. Hier war für beide Parameter ein sigmoidal verlaufender Rückhalt zu beobachten. Bei niedrigen pH-Werten wurde das Eliminationsmaximum, bei hohen pH-Werten ein Minimum erreicht. Durch die vergleichbaren Eliminationsmechanismen bei kolloidalem NOM und Bakteriophagen ist somit auch eine Parallelität des Rückhaltes, bzw. der Elimination zu beobachten.

Dieser Zusammenhang wurde auch von anderen Studien (Rebhun, Meir und Laor 1998) beobachtet. Es zeigt sich, dass die NOM-Fraktion im Wasser einen entscheidenden Einfluss auf die Flockung von trübungsverursachenden Partikeln im Wasser hat. So zeigte (Edzwald 1993), dass der DOC, bzw. der Anteil an hochmolekularem NOM (mit einer hohen spez. Adsorption) entscheidend die Flockung beeinflusste und nicht die Partikelkonzentration des Wassers. Wie bei den hier beschriebenen Ergebnissen konnte (Xagorarakis und Harrington 2004) einen Zusammenhang zwischen dem Rückhalt organischer Partikeln und NOM-Entfernung erkennen. So konnte als bestimmender Flockungsschritt bei der Entfernung von *Cryptosporidium parvum* Oozysten ebenfalls die Schwarmflockung identifiziert werden. Zusätzlich fielen die Maxima der NOM-Entfernung und der Oozysten-Entfernung zusammen, was auf die wichtige Rolle des NOM bei der Flockung von Partikeln hindeutete. Eine Korrelation zwischen Viren- und NOM-Rückhalt wurde von (Bratby 2006) und (Abbaszadegan, Mayer, et al. 2007) beschrieben. Die auf NOM-Entfernung optimierten Flockungsbedingungen ergaben auch für Viren und Bakteriophagen den höchsten Rückhalt.

Einen weiteren Hinweis auf den Flockungsmechanismus ergibt sich aus der Betrachtung der Reaktionszeit. In Abb. 38 ist der Rückhalt der Bakteriophagen MS2 und phiX174 in Abhängigkeit der Reaktionszeit nach Zugabe des Flockungsmittels und 3 min Vermischungszeit bei 50 rpm aufgetragen.

Es ist zu erkennen, dass die nahezu maximale Rückhaltung und damit der hauptsächliche Einschluss in die Flocke gleich zu Beginn der Flockenbildung einsetzte und im Weiteren keine zusätzliche Adsorption an die in der Lösung gebildeten Flocken stattfand. Dies deutet ebenfalls auf die Einschlussflockung direkt bei Entstehung der Flocke an der Partikeloberfläche hin.

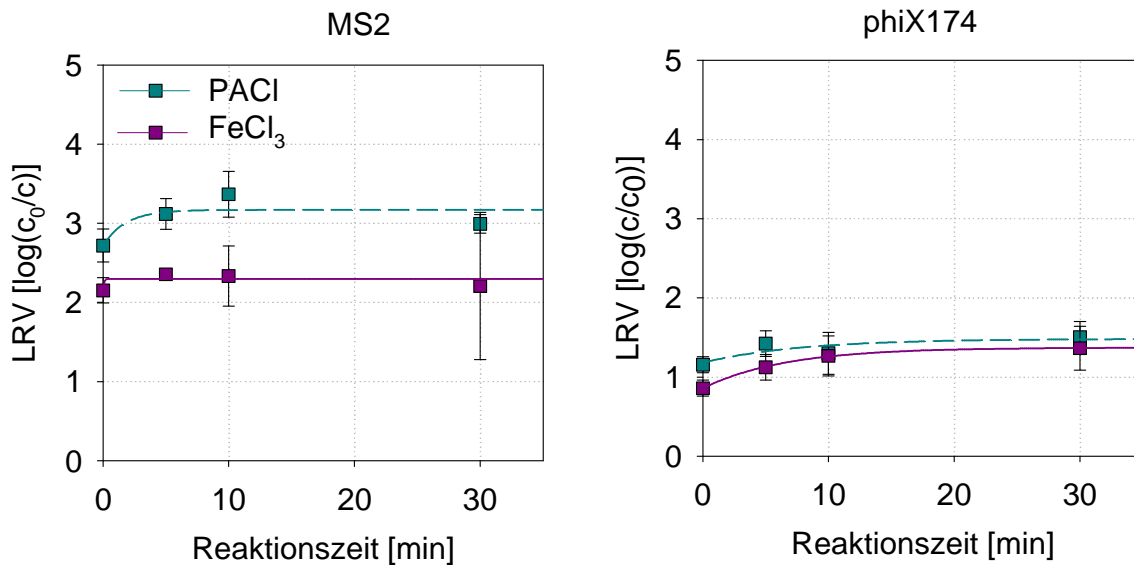


Abb. 38 Einfluss der Reaktionszeit bei der Flockung (10 mg(Al bzw. Fe)/L) auf den Rückhalt von MS2 und phiX174.

Dies wird auch von (Edzwald 1993) und (Matilainen, Vepsäläinen und Sillanpää 2010) bestätigt, die für die NOM-Flockung und damit entsprechend der Flockung von nanoskalierten Partikeln von folgenden Flockungsmechanismen ausgehen, die alle während der Flockenbildung bei der Schwarmflockung ablaufen:

3. Al-Komplexierung
4. Al-Hydrolyse mit einer Konkurrenz des anorganischen Liganden (Hydroxylgruppe) mit dem organischer Liganden
5. Direkte Präzipitation von Al-NOM Partikeln gefolgt von Komplexierung und Ladungsneutralisation
6. Adsorption von NOM, oder von komplexierten Al-NOM Spezies an amorphen  $Al(OH)_3$ -Partikeln, welche nach der Flockungsmittelzugabe ausfallen.

#### 4.2.4 Vergleich des Rückhalts von Bakteriophagen und enteraler Viren

Eine wichtige Frage bei der Bestimmung der Wirksamkeit von Aufbereitungsschritten durch Versuche mit Surrogaten ist die Übertragbarkeit der Ergebnisse auf humanpathogene enterale Viren. Obwohl die Bakteriophagen als Ersatzparameter so gewählt werden, dass sie in ihren Eigenschaften wie Größe, IEP, Erbgut, etc., möglichst ausgewählten humanpathogenen Viren ähneln, ist eine genaue Übereinstimmung der Eigenschaften oder der Eigenschaftskombinationen nicht gegeben, sodass ein abweichendes Verhalten in der Aufbereitung möglich ist.

Mit diesem Hintergrund wurden ausgewählte Flockungsversuche im Labormaßstab durchgeführt, bei welchen der Rückhalt der Bakteriophagen MS2 und phiX174 mit dem Rückhalt von Adenoviren Typ 2 (HAdV2) und muriner Noroviren (MNV) verglichen wurde. Aufgrund der Arbeiten mit humanpathogenen Viren wurden diese Versuche am Umweltbundesamt unter Mitwirkung des dortigen Labors der Abteilung Umwelthygiene durchgeführt. Als Flockungsparameter wurde eine Flockungsmittelkonzentration von 0,18 mmol(Fe bzw. Al)/L FeCl<sub>3</sub> und PACl mit den Flockungs-pH-Werten von 6,5, bzw. 6,7 gewählt. Bei diesen Einstellungen wurden in den Laborversuchen zuvor die besten Rückhalte von MS2 und phiX174 erreicht. Dosierte wurden die in Tab. 20 aufgeführten Viren.

*Tab. 20 Ausgangskonzentrationen der Viren bei den Vergleichsversuchen zur Flockung.*

<b>Virus</b>	<b>Konzentration</b>
MS2	$(8 \cdot 10^7 \pm 3 \cdot 10^7)$ PFU/mL
phiX174	$(1 \cdot 10^7 \pm 1 \cdot 10^7)$ PFU/mL
HAdV2	$(5 \cdot 10^6 \pm 1 \cdot 10^6)$ copies/mL
MNV	$(2 \cdot 10^7 \pm 1 \cdot 10^6)$ copies/mL

Die Bakteriophagen MS2 und phiX174 wurden entsprechend dem Protokoll (siehe 3.2.2) aufgereinigt und wie HAdV2 und MNV in 1 mL auf 1 L Testwasser gegeben. Der Nachweis von MS2 und phiX174 erfolgte sowohl über Kulturverfahren als auch über qPCR. HAdV2 und MNV wurden nur mittels qPCR nachgewiesen. Insgesamt wurden 48 Einzelversuche durchgeführt. Jedes der vier Testwässer (siehe 3.7) wurde mit FeCl<sub>3</sub> und PACl geflockt. Die Einzelversuche wurden insgesamt sechs Mal wiederholt, um Stabilität und Reproduzierbarkeit der Ergebnisse beurteilen zu können. Der Rückhalt wurden aus den qPCR-Ergebnissen als LRV berechnet und die arithmetischen Mittelwerte und Standardabweichungen der sechs Wiederholungen aufgetragen (Abb. 39).

Der Rückhalt von phiX174 war im Vergleich der Viren in allen vier Wässern und bei beiden Flockungsmitteln am geringsten. Der Rückhalt von MS2 war für die Flockung mit FeCl<sub>3</sub> mit dem Rückhalt von MNV vergleichbar, während bei der PACl-Flockung MS2 schlechter als MNV eliminiert wurde. Bei der FeCl<sub>3</sub>-Flockung wurde jeweils HAdV2 am besten zurückgehalten, während bei der Flockung mit PACl der Rückhalt des HAdV2 unter dem des MNV lag.

Die enteralen Viren wurden im Vergleich zu den Bakteriophagen bei allen experimentellen Bedingungen vergleichbar oder besser zurückgehalten. Wie bei den Bakteriophagen ist der Rückhalt in den Wässern mit einem hohen spezifischen Absorptionskoeffizienten (Wasser 2 und Wasser 3) am höchsten.

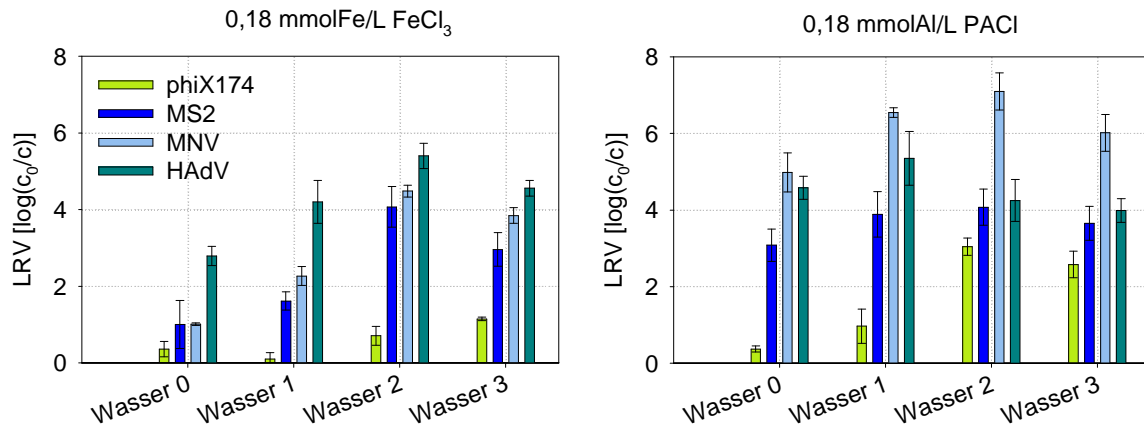


Abb. 39 Vergleich des Verhaltens von Bakteriophagen und enteralen Viren während der Flockung (0,18 mmolFe/L und 0,18 mmolAl/L).

Die spezifischen Eigenschaften der eingesetzten enteralen Viren und Bakteriophagen sind in Abb. 40 dargestellt. Es wird deutlich, dass die Viren mit einem größeren Durchmesser und damit einer größeren Oberfläche besser zurückgehalten wurden. Zusätzlich wiesen diese Viren bei den Flockungs-pH-Werten von 6,5, bzw. 6,7 eine negative Oberflächenladung auf, da MNV einen IEP von 5,9 und HAdV2 von 5,0 zeigt. phiX174, der Bakteriophage mit der kleinsten Oberfläche und einer positiven Oberflächenladung, wurde dagegen sehr schlecht zurückgehalten.

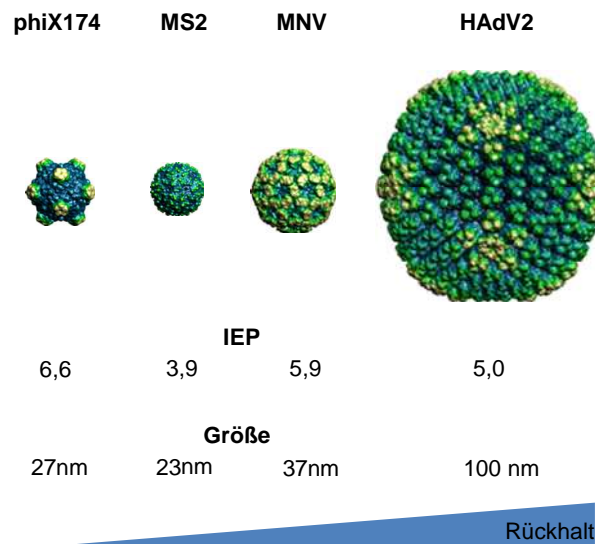


Abb. 40 Gegenüberstellung der Eigenschaften der eingesetzten enteralen Viren und Bakteriophagen (Carillo-Trip, et al. 2008) und Rückhalteergebnis.

Bei einer größeren negativ geladenen Oberfläche kommt es zu einer stärkeren Anlagerung der kurzlebigen kationischen Hydroxokomplexen und damit zu einer vermehrten

Ausfällung an Metallhydroxiden an der Oberfläche und zu einem vermehrten Einschluss in die entstehenden Flocken. Weitere Kräfte, wie hydrophobe Wechselwirkungen können bei diesen Mechanismen ebenfalls eine Rolle spielen, jedoch gibt es über die Hydrophobizität von MNV und HAdV2 keine Literaturquellen.

Wie bereits in 2.2.2 diskutiert, ist eine pauschale Aussage über das Verhalten von enteralen Viren in der Trinkwasseraufbereitung im Vergleich zu Bakteriophagen schwierig. Zu stark unterschieden sich die Versuchsbedingungen und die Eigenschaften der Viren untereinander. Wie bei den Versuchen dieser Studie konnten jedoch auch für Adenoviren und Hepatitis A Viren (Abbaszadegan, Mayer, et al. 2007), für Polioviren, Coxsackie- und Echoviren (Mayer, Ryu und Abbaszadegan 2008), für Entero- und Reoviren (Havelaar, Van Olphen und Schijven 1995) und für Polioviren (Guy, McIver und Lewis 1977) ein mit dem Rückhalt von Bakteriophagen vergleichbarer oder besserer Rückhalt bei Flockungsversuchen erreicht werden. Dabei wurden unterschiedliche Bakteriophagen als Vergleichsparameter eingesetzt. In anderen Studien (Gerba, et al. 2003), war der Rückhalt feliner Caliciviren dagegen geringer als der Rückhalt von MS2 oder PRD1. Bei einem vergleichbaren Rückhalt von MS2 und Hepatitis A Viren (1,3 – 1,8 log-Stufen), war der Rückhalt eines weiteren enteralen Virus, des Poliovirus, schlechter (0,21 log-Stufen) (Nasser, et al. 1995).

Diese Ergebnisse zeigen, dass sich je nach Versuchsbedingungen der Studien u. U. unterschiedliche Effekte zeigen können. Aus den meisten Literaturstellen und den in dieser Arbeit durchgeführten Studien sind die beiden gewählten Bakteriophagen jedoch als geeignete konservative Surrogate für die im Wasserbereich u. U. relevanten Adeno- und Noroviren anzusehen. Dies bedeutet, dass die durch Bakteriophagendosierung ermittelten Rückhaltewerte als Anhaltspunkt für den Rückhalt enteraler Viren dienen können.

#### **4.2.5 Erkenntnisse und Schlussfolgerungen der Flockungsversuche**

Die Wasserbeschaffenheit zeigt einen großen Einfluss auf den Rückhalt der Bakteriophagen MS2 und phiX174 bei der Flockung. In den aufbereiteten Grundwässern waren im untersuchten Flockungsmittelkonzentrationsbereich die ermittelten Phagenrückhalte geringer als in den unbehandelten Talsperrenwässern. Es konnte gezeigt werden, dass ein größerer SAK-254/DOC-Quotient der Wässer mit einem höheren LRV korreliert. Ein hoher NOM-Anteil mit kolloidalen Eigenschaften beeinflusst die Einschlussflockung der Phagen während der Schwarmflockung positiv, da dieser eine Brückenbildung zwischen Metallhydroxiden und Bakteriophagen fördert. Die Ergebnisse der Flockungsversuche im Becherglas ließen sich mit den halbtechnischen Versuchen mit einem Volumenstrom von 1 und 6,2 m<sup>3</sup>/h gut vergleichen, so dass eine Übertragbarkeit gegeben ist. Der Vergleich



zwischen MS2 und phiX174 zeigte, dass MS2 i. d. R. besser als phiX174 zurückgehalten wird. Die Entfernungsmechanismen während der Flockung lassen sich mit Adsorptions-Neutralisation-Mechanismen zwischen Hydroxylionen der Hydroxokomplexe und Carboxylgruppen von Huminsäuren, bzw. NOM vergleichen und weisen entsprechende Flockungsmaxima auf. Ergebnisse für MS2, die mittels Kulturverfahren erzielt wurden, sind bei der Flockung mit PACl durch Inaktivierung des Phagen beeinflusst und können daher nicht als Rückhalt gewertet werden. Der Rückhalt enteraler Viren mittels Flockung lag in vergleichbaren Größenordnungen wie der Rückhalt von MS2 oder höher und lag immer höher als der Rückhalt von phiX174. Beide Phagen sind daher als geeignete konservative Surrogate für die getesteten enteralen Viren anzusehen.

### 4.3 Ultrafiltration

#### 4.3.1 Labor- und halbtechnische Membranversuche

##### 4.3.1.1 Einfluss der Flächenbelastung

Die Betriebsweise der UF-Membranen kann die Rückhalteleistung der Membran entscheidend beeinflussen. Ein wichtiger Betriebsparameter ist die Flächenbelastung. Dabei sind 80 L/m<sup>2</sup>/h für die hier eingesetzten Membranen eine eher konservative Parameter-einstellung gegenüber einer Flächenbelastung von 120 L/m<sup>2</sup>/h. Bei technischen Anwendungen im Trinkwasserbereich liegt die durchschnittliche Flächenbelastung bei 90 L/m<sup>2</sup>/h. Die vier Modellwässer wurden jeweils für 8 h bei jeder dieser zwei Flächenbelastungen über Labormodule filtriert und der TMP aufgezeichnet. Zuvor wurde gezeigt, dass der Einsatz der aufgereinigten Bakteriophagen-Stammlösungen nicht zu einem erhöhten TMP-Anstieg führte. Dazu wurden die Wässer in zwei Versuchsreihen einmal ohne und einmal mit dosierten Phagen über die Labormembran filtriert, der Transmembrandruckanstieg über 3 h Filtrationszeit aufgezeichnet und die Werte miteinander verglichen. (Tab. 21).

*Tab. 21 Transmembrandruckanstieg [mbar/h] über eine Filtrationszeit von 3 h ohne und mit (+Phagen) Phagendosierung bei einer Flächenbelastung von 80 L/m<sup>2</sup>/h.*

Wasser 1 (+Phagen)	Wasser 2 (+Phagen)	Wasser 3 (+Phagen)
1	6	2
(1)	(7)	(3)

Daraus kann abgeleitet werden, dass der bei den UF-Versuchen ermittelte TMP-Anstieg nur in geringem Maß durch die erhöhte Phagenkonzentration verursacht wird und somit

eine Folge der Wasserbeschaffenheit (Gehalt an gelösten organischen Wasserinhaltsstoffen) ist.

In Abb. 41 sind die Ergebnisse der Untersuchungen mit Wasser 1 und Wasser 3 beispielhaft für die aufbereiteten Grundwässer und die unbehandelten Rohwässer dargestellt. Der TMP wurde zur besseren Vergleichbarkeit als relativer Transmembrandruck mit  $rel. TMP = TMP(t) - TMP(t = 0)$  über der Betriebszeit [h] aufgetragen. Demnach wird bei höherer Flächenbelastung für beide Wässer ein stärkerer Anstieg des Transmembrandruckes beobachtet.

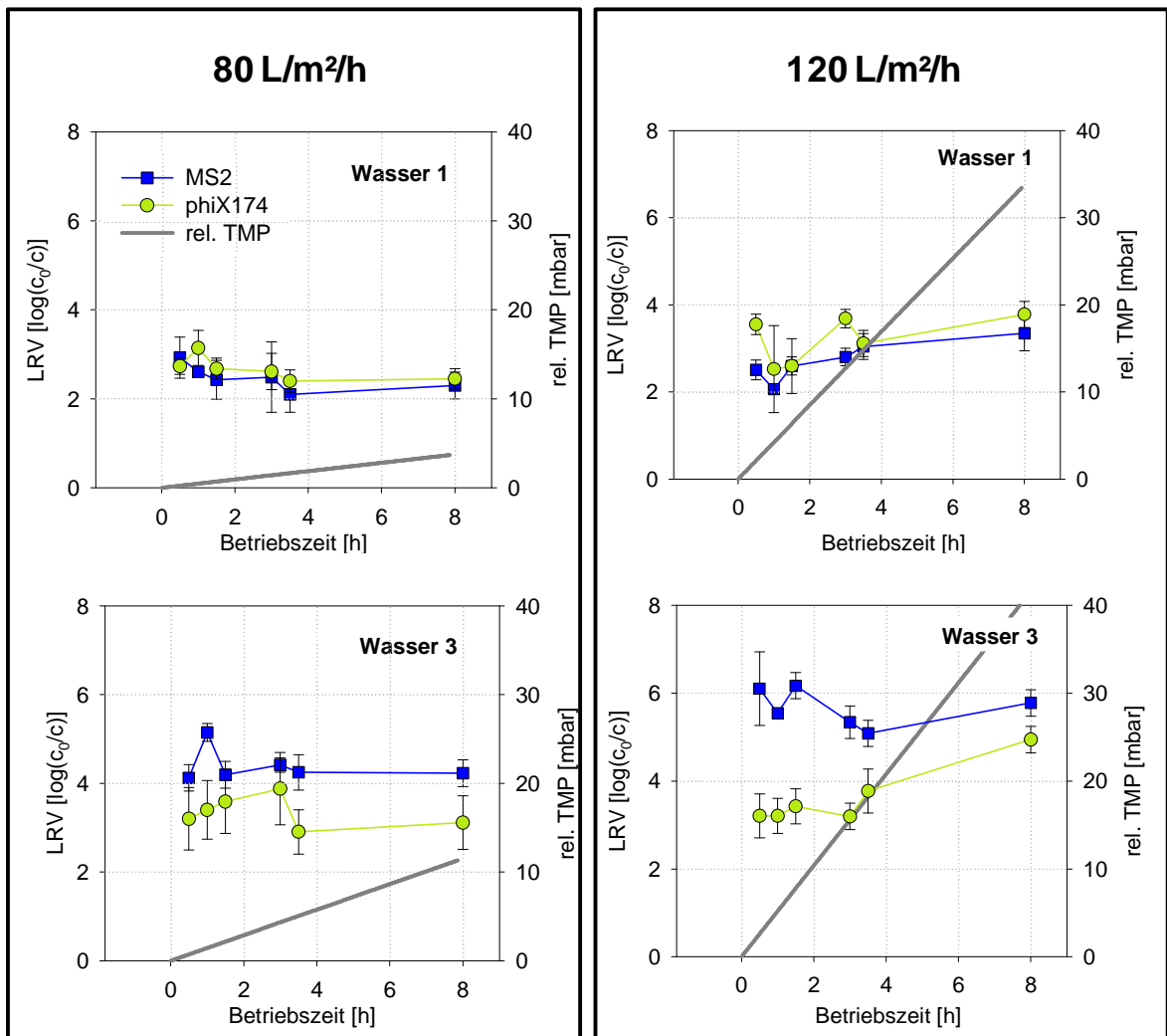


Abb. 41 Einfluss der Flächenbelastung auf den Rückhalt von MS2 und phiX174 in Laborversuchen.

Für Wasser 1 war der Einfluss der Flächenbelastung auf den MS2-Rückhalt eher gering (vergleiche Abb. 41 links und rechts oben). Der LRV von 2,5 – 3,0 log-Stufen für 80 L/m²/h blieb auch bei einem erhöhten Flux von 120 L/m²/h über die gesamte Filtrationszeit erhalten. Unterschiede konnten für Wasser 3 beobachtet werden (vergleiche Abb. 41 links und

rechts unten). Die Organik der unbehandelten Rohwässer führte zu einem höheren LRV. Der Rückhalt bei 80 L/m<sup>2</sup>/h lag gleich zu Beginn des Versuches mit 4 log-Stufen um 2 log-Stufen über dem Rückhalt in Wasser 1 bei entsprechender Flächenbelastung und blieb ebenfalls über die gesamte Filtrationszeit konstant. Bei einer Erhöhung der Flächenbelastung auf 120 L/m<sup>2</sup>/h in Wasser 3 wurde der Rückhalt von MS2 sogar von Beginn an auf 5,0 – 6,0 log-Stufen verbessert.

Der Rückhalt von phiX174 blieb in Wasser 1 wie für MS2 weitgehend konstant bei 80 und 120 L/m<sup>2</sup>/h (LRV von 2,5 – 3,0 log-Stufen) (vergleiche Abb. 41 links und rechts oben). In Wasser 3 (vergleiche Abb. 41 links und rechts unten) wurde der Rückhalt mit erhöhter Flächenbelastung verbessert, indem es mit zunehmender Filtrationszeit zu einem verbesserten Rückhalt kam (LRV von 3,5 – 4,5 log-Stufen bei 120 L/m<sup>2</sup>/h gegenüber 2,5 – 3,0 log-Stufen bei 80 L/m<sup>2</sup>/h). Trotz der Erhöhung mit zunehmender Filtrationszeit lag der Rückhalt von phiX174 jedoch eindeutig unter dem Rückhalt von MS2.

Die Ergebnisse waren für die anderen Wässer (Wasser 0 und Wasser 2) (siehe Anhang) vergleichbar. Ein Einfluss der Flächenbelastung lag somit vor allem bei Wässern mit erhöhtem Foulingpotential und damit verbunden bei einer stärkeren Deckschichtbildung vor.

#### **4.3.1.2 Einfluss der Wasserqualität**

Abb. 42 zeigt den Effekt verschiedener Wässer mit unterschiedlichem Anteil an Organik auf den Bakteriophagenrückhalt in Laborversuchen bei 80 L/m<sup>2</sup>/h. In Wasser 0 und Wasser 1, den Wässern mit einer geringeren Organikkonzentration (SAK-254 zw. 0,8 und 4,1 1/m), war der MS2-Rückhalt signifikant geringer als in den unbehandelten Oberflächenwässern (Wasser 2 und Wasser 3) (vergleiche Abb. 42 links mit Abb. 42 rechts). Es wurde sowohl in Wasser 0 als auch in Wasser 1 ein LRV von 2,5 – 3,0 log-Stufen bei 80 L/m<sup>2</sup>/h für MS2 erreicht. Im Vergleich wurde in Wasser 2 und Wasser 3 jeweils ein LRV >4,0 log-Stufen gemessen. Diese Wässer wiesen einen höheren SAK-254 von 6,9 bis 7,0 1/m auf.

Für phiX174 konnte bei 80 L/m<sup>2</sup>/h zwischen den beiden aufbereiteten Grundwässern wie für MS2 kein signifikanter Unterschied in den gemessenen Rückhalten ermittelt werden. Ein konstanter LRV von 2,5 – 3,0 log-Stufen wurde ermittelt (Abb. 42 links oben und links unten). Bei Filtration der unbehandelten Oberflächenwässer (Wasser 2 und 3) zeigten sich dagegen abweichende Ergebnisse (Abb. 42 rechts oben und rechts unten). Während der Rückhalt in Wasser 0 und Wasser 1 bei 2,5 – 3,0 log-Stufen lag, lag ab Filtrationsbeginn der Rückhalt in Wasser 2 und 3 höher. In Wasser 2 wurden 4,0 log-Stufen und in Wasser 3 ein MS2-Rückhalt von 3,5 bis zu 4,5 log-Stufen gemessen.

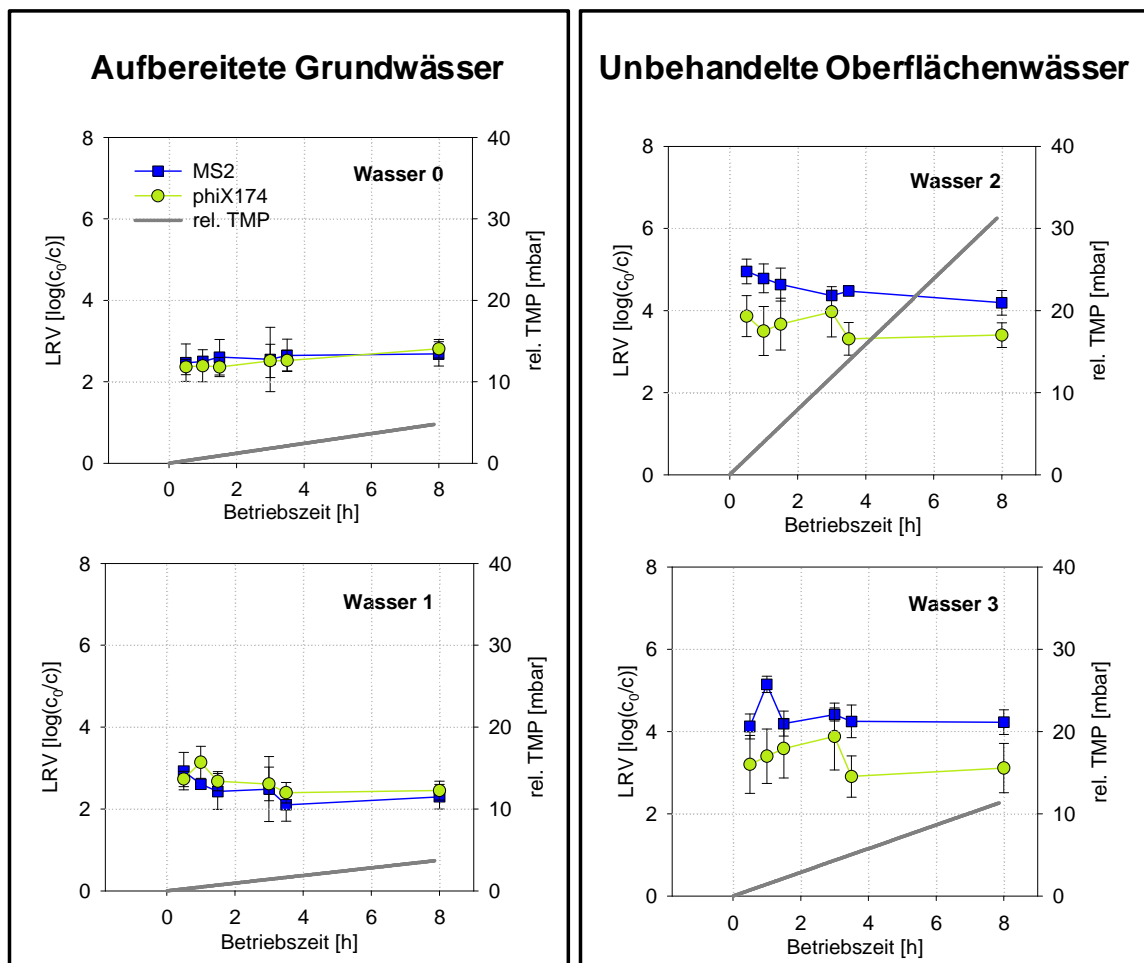


Abb. 42 Einfluss der Wasserqualität auf den Rückhalt von MS2 und phiX174 in Laborversuchen bei 80 L/m<sup>2</sup>/h.

#### 4.3.1.3 Einfluss der Modulverarbeitung auf den Bakteriophagenrückhalt

Bei der Membranfiltration haben neben der Wasserqualität auch die gewählten Prozessparameter einen wichtigen Einfluss auf die Ergebnisse von Virenrückhaltetests. Daraus ergeben sich in der Literatur verschiedene Ergebnisse, die schwer miteinander zu vergleichen sind.

Da bei den in dieser Arbeit durchgeführten Versuchen verschiedene Membranmodulgrößen eines Modulherstellers verwendet wurden, wurde neben den Parametergrößen Flux und Rohwasserqualität auch der Beitrag der Modulfabrikation auf den Bakteriophagenrückhalt untersucht (Kreißel, Bösl, et al. 2012). Dazu wurde neben der Maßstabsvergrößerung von labortechnischen Modulen auf halbertechnische Module auch die Modulverarbeitung, insbesondere die Verklebung der Membranen, betrachtet. Die Verklebung (Potting) der Membran in das Modul ist die kritische Stelle, die Rohwasserseite und Filtratseite

voneinander trennt und bei deren Beschädigung oder Undichtigkeit Kurzschlussströme und somit Kontaminationen des Filtrates auftreten können.

Es wurden neben den Labormodulen (siehe 3.9.1) verschiedene halbtechnische Module produziert, die sich in Modulfabrikation und Eigenschaften unterschieden (Tab. 22). In ihren Materialeigenschaften, Porenweiten und Filtrationsflächen glichen die halbtechnischen Module jedoch den in 3.9.2 beschriebenen Membranen. Die Module wurden anhand ihres Filtrationsverhaltens charakterisiert und können durch ihre Permeabilität (Tab. 22) in Wasser 1 unterschieden werden.

Die halbtechnischen Module A und B wurden bei zwei verschiedenen Pottingtemperaturen (Raumtemperatur und 60°C) verarbeitet. Modul C wies zudem eine modifizierte Stützschiicht auf. Die Modifikation diente der besseren Aufnahme des flüssigen Epoxidharzes und somit einer dichteren Verklebung der Membranen in die Module. Durch die Materialveränderung konnte eine geringere Permeabilität des Moduls C im Vergleich zu A und B festgestellt werden. Alle Module wiesen eine Filtrationsfläche von 0,2 m<sup>2</sup> auf.

Die Versuche mit den halbtechnischen Modulen wurden entsprechend dem in 3.9.2 beschriebenen Protokoll mit Wasser 1 durchgeführt. Der Rückhalt von MS2 und phiX174 über 2 h Filtrationszeit ist zusammen mit den jeweils gemessenen TMP in Abb. 43 beschrieben. Der Flux lag bei 80 L/m<sup>2</sup>/h. Es ist eine deutliche Zunahme des Bakteriophagenrückhaltes von Modul A bis zu Modul C zu erkennen.

Tab. 22 Verwendete Membranmodule mit unterschiedlichen Modulfabrikationen und Eigenschaften.

Modul	Verarbeitung/ Eigenschaften	Permeabilität (20°C) [L/m <sup>2</sup> /h/bar] in Wasser 1
Labormodul	$T_{Potting} = 50^{\circ}\text{C}$	340
Halbtechnisches Modul A	$T_{Potting} = \text{Raumtemperatur}$	490
Halbtechnisches Modul B	$T_{Potting} = 60^{\circ}\text{C}$	463
Halbtechnisches Modul C	$T_{Potting} = 60^{\circ}\text{C}$ , modifizierte Stützschiicht	407

Das bei Raumtemperatur gepottete Modul A mit der höchsten Permeabilität von 490 L/m<sup>2</sup>/h/bar erreichte einen Bakteriophagenrückhalt von 0,5 log-Stufen. Modul B, welches bei 60°C gepottet wurde, zeigte einen erhöhten Rückhalt beider Phagen von 1,5 log-Stufen und mit Modul C konnte ein Rückhalt von 2,0 – 2,7 log-Stufen für MS2 und 2,5 bis 3,5 log-Stufen für phiX174 erreicht werden.

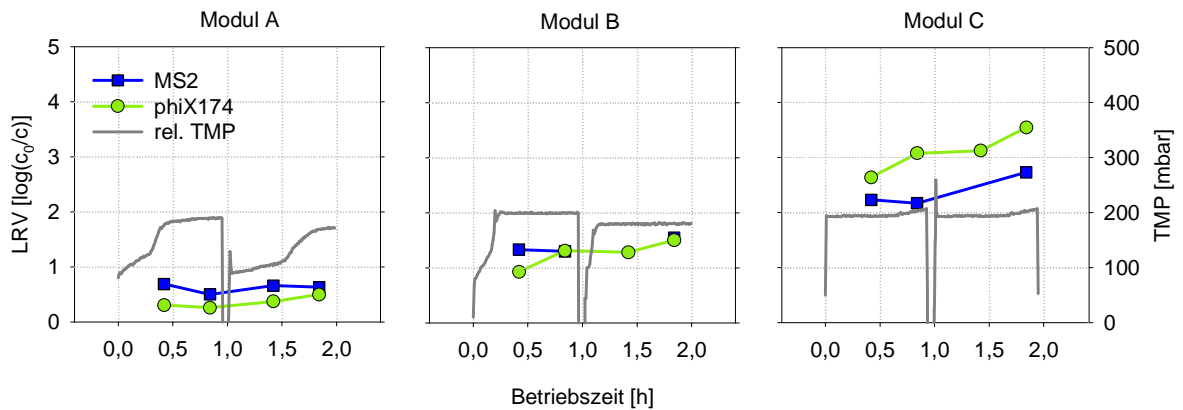


Abb. 43 Einfluss des Modulpottings der halbertechnischen Membranmodule auf den Bakteriophagenrückhalt.

Es zeigte sich, dass die Pottingtemperatur einen Einfluss auf das Rückhalteergebnis der Module hatte. Bei Raumtemperatur schien das Epoxidharz eine zu hohe Viskosität zu besitzen, die verhinderte, dass auch kleinste Poren in der Größe der Viren verschlossen wurden. Mit steigender Pottingtemperatur nahm auch die Permeabilität der Module ab, was darauf hindeutet, dass die Verklebung der kleinen Poren in der Stützschiicht gelingt. Das Modul mit der modifizierten Stützschiicht, die eine bessere Aufnahme des Epoxidharzes ermöglichte, erzielte das beste Ergebnis. Dieses Modul zeigte mit 407 L/m<sup>2</sup>/h/bar auch die niedrigste Permeabilität.

Eine theoretische Betrachtung wurde vorgenommen, um den Einfluss eines Defektstromes von ungefiltertem Rohwasser durch die Stützschiicht in das Filtrat abzuschätzen. Dazu wurde angenommen, dass die Ultrafiltrationsmembran selbst einen Rückhalt von 5 log-Stufen aufwies und eine Reduktion dieses LRV nur durch einen Defektstrom durch Pottingleakagen verursacht wurde. In Abb. 45 wurde die theoretische Abhängigkeit des LRV vom Verhältnis Defektstrom zu Rohwasserstrom dargestellt.

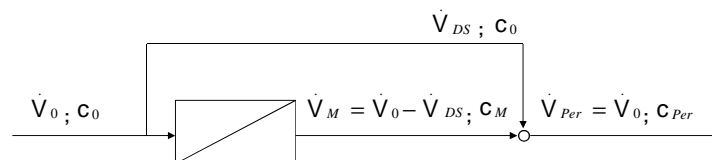


Abb. 44 Bilanzierung der Volumen- und Stoffströme um eine Membran mit Defektvolumenstrom.

$$\dot{M}_{Fil} = \dot{M}_M + \dot{M}_{DF} \quad (18)$$

$$\dot{V}_{DS}/\dot{V}_0 = (c_{Fil} - c_M)/(c_0 - c_M) \quad \text{mit } c_M = c_0/10^{LRV(M)}$$

$\dot{V}$	Volumenstrom [L/h]
$c$	Konzentration [PFU]
$\dot{M}$	Massenstrom [PFU/h]
$O$	Rohwasser
$DS$	Defektstrom
$M$	Membran
$Fil$	Filtrat

Es wird deutlich, dass eine Verminderung des LRV von 4,0 auf 3,0 log-Stufen auftritt, wenn  $\dot{V}_{DS}/\dot{V}_0$  von 0,0001 auf 0,001 ansteigt, was bedeutet, dass 0,1 % des Rohwassers ungefiltert die Membran passieren würde.

Der Einfluss der Pottingleckagen auf den Bakteriophagenrückhalt wurde zusätzlich für natürliche Wässer bestimmt. Dazu wurde das halbtechnische Modul A mit dem schlechtesten Rückhalt und dem höchsten Einfluss der Pottingleckagen im unbehandelten Rohwasser Wasser 2 eingesetzt und mit dem Labormodul verglichen. Die Versuche gingen über 8 h bei einem Flux von 80 L/m<sup>2</sup>/h. Die Ergebnisse sind in Abb. 46 im Vergleich zu den Ergebnissen in Wasser 1 dargestellt.

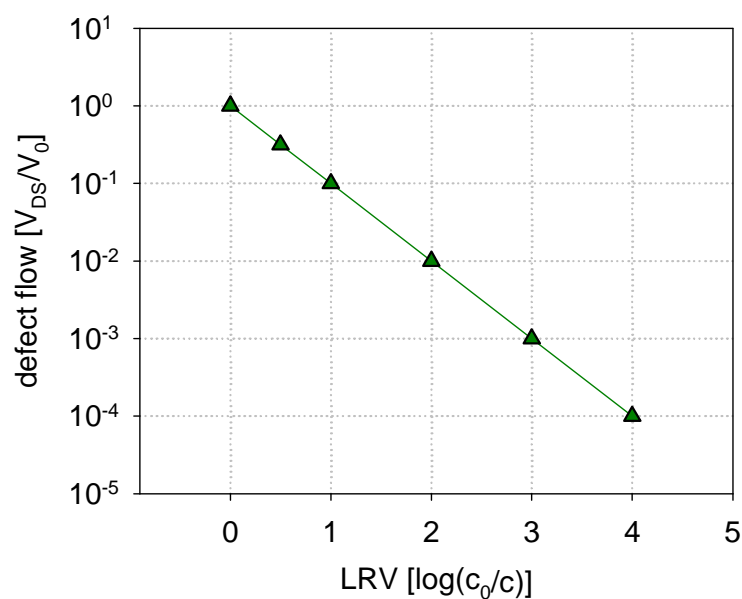


Abb. 45 Verminderung des LRV in Abhängigkeit des Defektstromes verursacht durch Pottingleckagen.

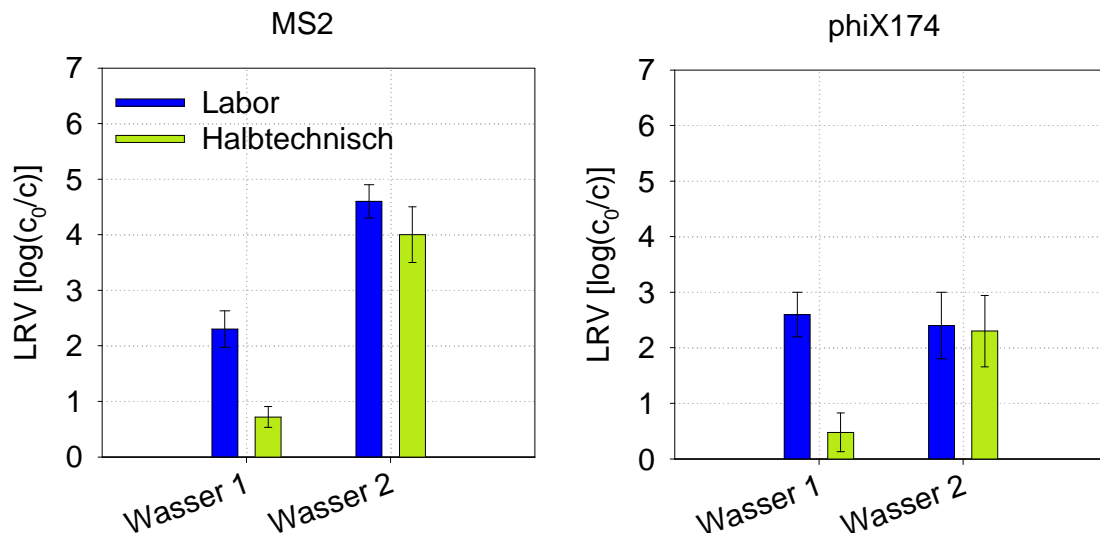


Abb. 46 Vergleich der labor- und halbtechnischen Module (Modul A) in Wasser 1 und Wasser 2.

Während der Unterschied zwischen Labor- und halbtechnischem Modul in Wasser 1 sowohl für MS2 als auch für phiX174  $>1$  log-Stufe betrug, konnte in Wasser 2 kaum ein Unterschied in den Ergebnissen festgestellt werden. Die Unzulänglichkeiten von Modul A wurden durch das Rohwasser maskiert und es wurde ein hoher Rückhalt von 4 log-Stufen für MS2 und von 2,5 log-Stufen für phiX174 erreicht. Es zeigt sich also, dass die Filtrationseigenschaften der getesteten UF-Membranen durch die Rohwasserbeschaffenheit maßgeblich beeinflusst wurden und selbst Pottingleckagen, die zu einem verminderten LRV führten, maskiert wurden. Aufgrund der übereinstimmenden Ergebnisse von Labor- und halbtechnischen Modulen in Wasser 2 kann davon ausgegangen werden, dass vor allem die Löcher in der Stützschiicht durch die Rohwassermatrix verblockt wurden und die Beeinflussung der Filtrationseigenschaften der eigentlichen Filtrationsschiicht für beide Maßstäbe vergleichbar war.

#### 4.3.1.4 Maßstabsvergrößerung

Der Einfluss der Maßstabsvergrößerung wurde anhand der in Tab. 22 beschriebenen Module untersucht. In Abb. 47 sind die Rückhalte von MS2 und phiX174 aufgetragen, die mit Modulen im labor- und halbtechnischen Maßstab erzielt wurden. Gegenübergestellt sind die Ergebnisse des Labormembranmoduls, welches bei 50°C und die des halbtechnischen Moduls B, welches bei 60 °C gepottet wurde. Es wird deutlich, dass der Rückhalt des halbtechnischen Moduls trotz höherer Pottingtemperatur ca. 1 log-Stufe unter dem Rückhalt der Labormembran liegt. Dies deutete darauf hin, dass auch weitere Faktoren, wie z.B. der Temperaturverlauf während des Pottingprozesses in die Rückhalteleistung mit einfließt. Die Maßstabsvergrößerung der Modulgeometrie, wie das Verhältnis der Pot-



tingfläche zur Gesamtfiltrationsfläche dagegen schien keinen Einfluss zu haben. Dieses Verhältnis lag für die Labormodule bei 0,0153 und für die halbtechnischen Module bei 0,0061. Bei einem kleineren Verhältnis müsste auch der Einfluss geringer sein, was allerdings nicht zu beobachten war (siehe Abb. 47).

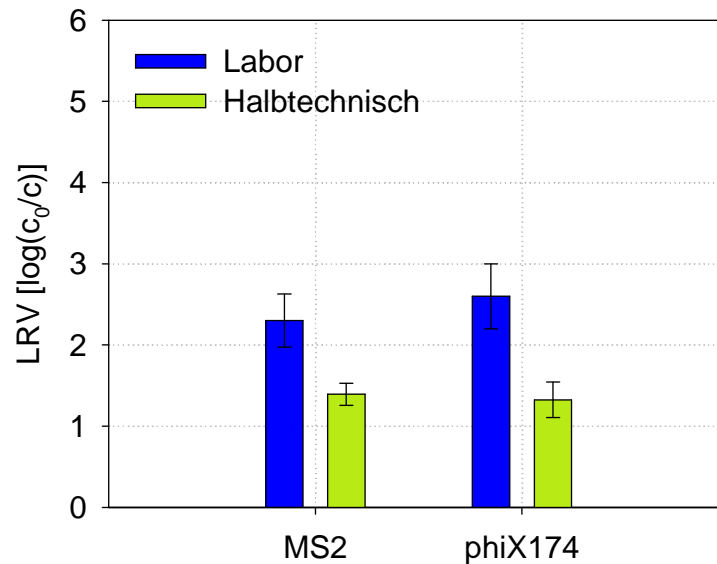


Abb. 47 Vergleich des Bakteriophagenrückhaltes mit Labor- und halbtechnischen Modulen (Modul B) in Wasser 1.

Zusätzlich wurden Versuche an einer weiteren Membrananlage im großtechnischen Maßstab (siehe 3.9.2) durchgeführt. An dieser Anlage konnte aufgrund der vom Hersteller vorgesehenen Betriebsweise die Feed-Pumpe nicht nachgeregelt werden und somit keine konstante Flächenbelastung aufrechterhalten werden. Dies führte über den Filtrationszeitraum zu einer Abnahme des Filtratstromes bei sich bildender Deckschicht und somit zunehmendem Transmembrandruck. Zum Vergleich der Membranperformance wurde daher die Permeabilität berechnet und auf 20°C normiert in den Diagrammen aufgetragen. Diese gibt den Filtratfluss durch die Membranfläche pro bar anliegendem Transmembrandruck an. Die Versuche wurden über 8 h bei einer anfänglichen Flächenbelastung von 80 und 120 L/m<sup>2</sup>/h mit Wasser 1, Wasser 2 und Wasser 3 betrieben. Für jedes Testwasser wurden neue Membranmodule verwendet.

In Abb. 48 sind die Ergebnisse zusammen mit der gemessenen Permeabilität dargestellt. Mit abnehmender Permeabilität verringerte sich auch die anliegende Flächenbelastung. Auch hier zeigt sich wieder der Unterschied zwischen den Wässern. Im organikfreien Wasser 1 liegt der Rückhalt bei lediglich 0,5 log-Stufen, während in den unbehandelten Rohwässern deutlich höhere LRV zu beobachten waren. Für MS2 wurden LRV zwischen

5 und 6 log-Stufen und für phiX174 zwischen 1 und 4 log-Stufen gemessen. In Wasser 2, in welchem die Membranen die niedrigste Permeabilität aufwiesen, ergab sich der höchste Rückhalt der Bakteriophagen.

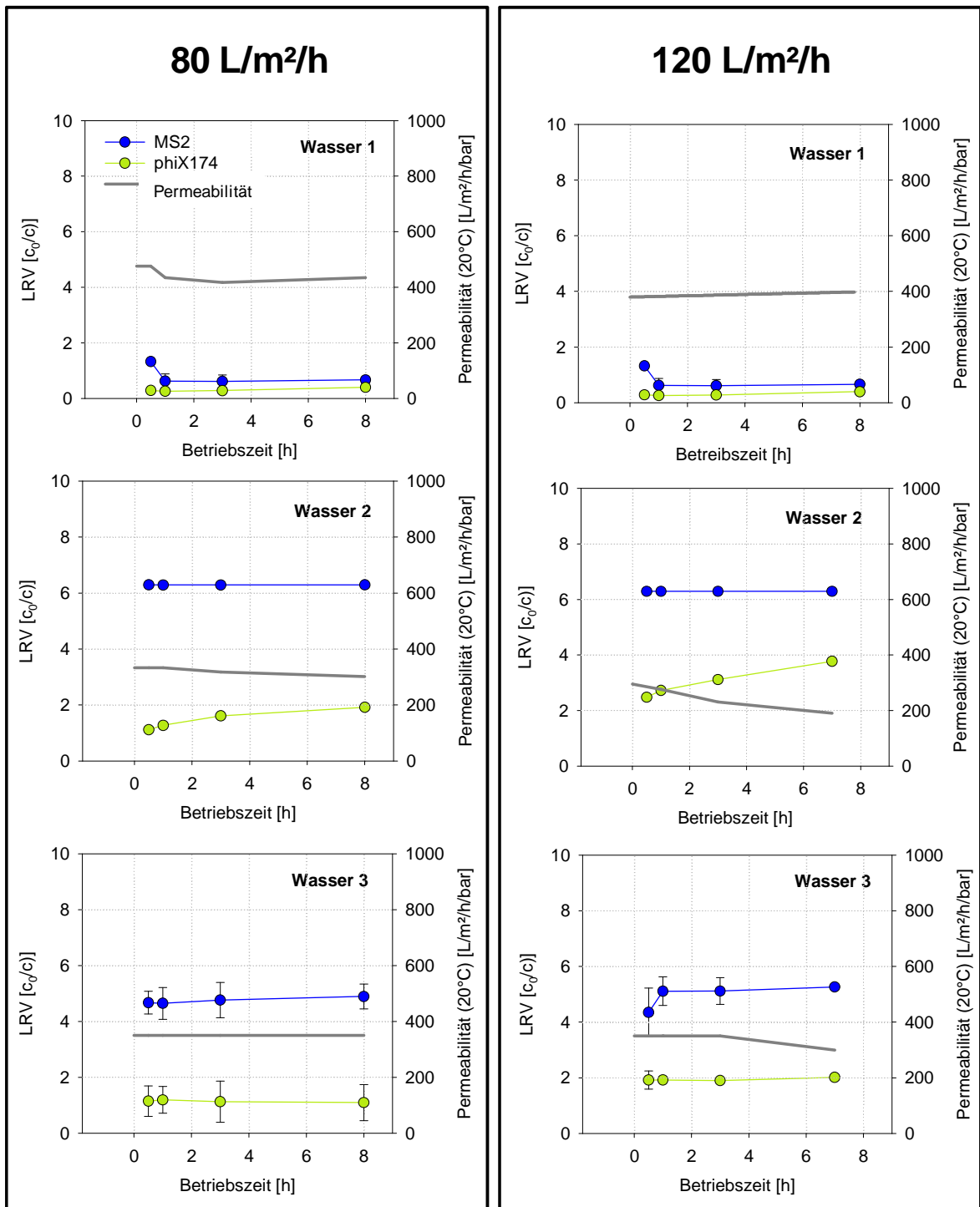


Abb. 48 Ergebnisse der UF-Versuche im technischen Maßstab.

### 4.3.2 Filtrationsmechanismen

Die Partikel- und Organikkonzentration des zu filtrierenden Wassers hatte in den durchgeführten Versuchen einen entscheidenden Einfluss auf den Rückhalt der Bakteriophagen MS2 und phiX174. Die Rückhalteeffizienz korrelierte mit dem beobachteten TMP-Anstieg (in mbar pro h). In Abb. 49 sind die Ergebnisse der Laborversuche mit verschiedenen Wässern und verschiedenen Flächenbelastungen zusammengefasst.

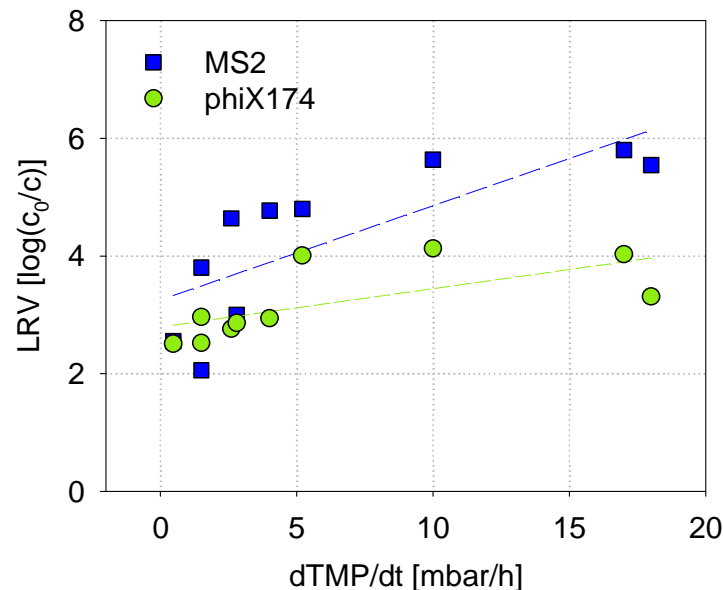


Abb. 49 LRV für MS2 und phiX174 als Funktion des Transmembrandruckanstieges pro h (Ergebnisse der Labormembranversuche).

Der LRV stieg mit Erhöhung von dTMP/dt. Während des Filtrationsprozesses werden Partikeln und Organik des Wassers an die Membranoberfläche transportiert, bilden eine Deckschicht aus und verändern so die Rückhaltecharakteristik der Membran während der Filtrationszeit. Wichtig ist hierbei somit auch die gründliche Aufreinigung der zudosierten Bakteriophagenstammlösungen. Diese enthalten einen hohen Proteinanteil und lysierte Wirtsbakterien, welche auch nach dem Zentrifugationsschritt in der Lösung verbleiben. Somit ergibt sich für die Bakterienstammlösungen vor Aufreinigung ein DOC-Gehalt von 34 g/L für das phiX174- und 9 g/L für das MS2-Kulturmedium. Es ist somit notwendig, eine Aufreinigung und evtl. zusätzliche Verdünnungsschritte in Erwägung zu ziehen, um einen Partikel- und Organikeintrag in das zu testende Wasser und damit eine Überschätzung des Bakteriophagenrückhaltes zu vermeiden.

Vergleichbare Ergebnisse wurden bei den Versuchen im technischen Maßstab (vergleiche Abb. 48) beobachtet (Abb. 50). Hier wurde aufgrund einer nicht nachregelnden Pumpe

der Permeabilitätsverlust erfasst, da mit zunehmendem Membranfouling eine Abnahme des Permeatflusses verbunden ist. Je höher der Permeabilitätsverlust während der Filtration war, umso höher war der Rückhalt der Testbakteriophagen.

Wichtig ist somit das Foulingpotential des Wassers. Es konnte für die eingesetzten Wässer folgende Abstufung festgelegt werden:

Wasser 0 = Wasser 1 < Wasser 3 < Wasser 2

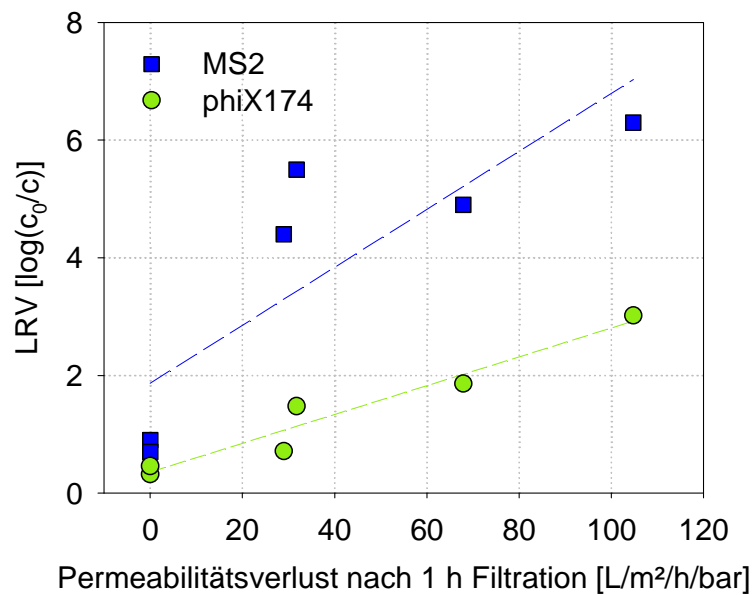


Abb. 50 LRV für MS2 und phiX174 als Funktion des Permeabilitätsverlustes nach einer Stunde Filtration (Ergebnisse der technischen Versuche).

Bei Betrachtung der jeweiligen Wassercharakteristik fällt auf, dass die Reihenfolge der Wässer mit zunehmendem Foulingpotential mit der Reihenfolge basierend auf zunehmendem SAK-254/DOC-Verhältnis übereinstimmte. Dieser Zusammenhang ist in Abb. 51 graphisch dargestellt. Es wird also deutlich, dass der Anteil an organischem Material mit hoher molarer Masse zu einem stärkeren Membranfouling beitrug, Poren verblockte und die Trenngrenze der Membranen somit herabsetzte.

In der überwiegenden Anzahl der durchgeführten Versuche wurde MS2, welcher oft als Modellvirus für Rückhaltetests verwendet wird, besser zurückgehalten als phiX174 (Abb. 52). Während der Rückhalt beider Bakteriophagen in Wasser 1 und Wasser 0 vergleichbar war, war der Unterschied in Wasser 2 und Wasser 3 signifikant. Bei einer Flächenbelastung von 80 L/m²/h war der Rückhalt von MS2 um nahezu eine log-Stufe höher als der

Rückhalt von phiX174. Für 120 L/m<sup>2</sup>/h wurde diese Diskrepanz auf 1,5 bis 2,0 log-Stufen erhöht (siehe Abb. 41, Abb. 42).

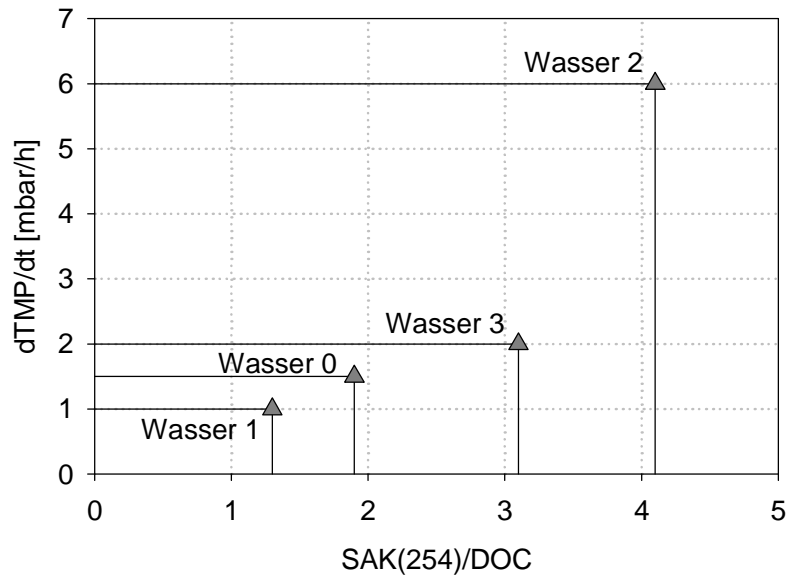


Abb. 51 Zusammenhang von Transmembrandruckanstieg (dTMP/dt [mbar/h]) bei Filtration der untersuchten Wässer und SAK(254)/DOC-Verhältnis der Wässer bei einer Flächenbelastung von 80 L/m<sup>2</sup>/h.

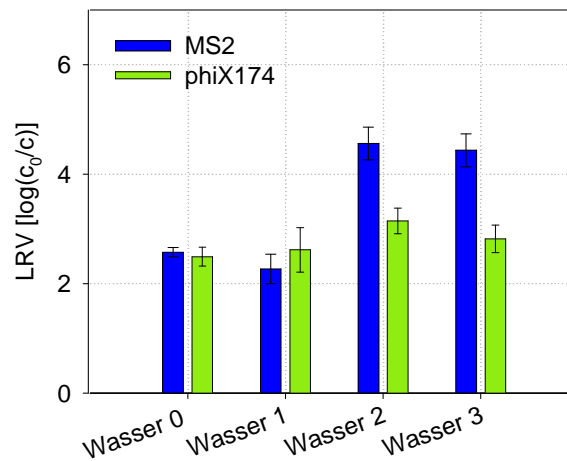


Abb. 52 Mittlerer Rückhalt von MS2 und phiX174 in den Laborversuchen mit den vier untersuchten Wässern.

Die unterschiedlichen Rückhalte von MS2 und phiX174 können durch verschiedene Faktoren hervorgerufen worden sein. Obwohl beide Bakteriophagen ungefähr dieselbe Größe aufwiesen, unterschieden sie sich in ihren Oberflächeneigenschaften, welche zu unterschiedlichen hydrophoben oder elektrostatischen Wechselwirkungen zwischen den Bakte-

riophagen, dem organischen Material und der Membranoberfläche führen könnten (Attinti, et al. 2010) (Dowd, et al. 1998) (Schijven und Hassanizadeh 2000) (Lukasik, et al. 2000). Diese könnten dann zu einem besseren Rückhalt von MS2 ( $pI = 3,9$ ) führen, während phiX174 ( $pI = 6,6$ ), welcher als weniger hydrophob angesehen wird, mit einer nahezu neutralen Oberflächenladung deutlich weniger Wechselwirkungen mit seiner Umgebung einging. Die Huminstoffe, welche in den natürlichen Wässern vorkamen, zeigten wie MS2 eine negative Oberflächenladung. Wechselwirkungen zwischen diesen Stoffen und MS2 waren somit zunächst durch elektrostatische Abstoßungskräfte unterbunden. Da MS2 jedoch zusätzlich hydrophobe Eigenschaften an seiner Oberfläche aufwies, können hydrophobe Wechselwirkungen diese Abstoßungskräfte überlagert und somit doch zu einer Anlagerung von Huminstoffen mit hoher molarer Masse beigetragen haben (Schijven und Hassanizadeh 2000). Es ist anzunehmen, dass die Adsorption dieser Huminstoffe am Membranmaterial und/oder der Phagenoberfläche zu einer vermehrten Sorption von MS2 an das Membranmaterial führte, oder die Agglomeration der Viruspartikel förderte. Letzteres würde eine Vergrößerung des hydrodynamischen Radius zur Folge haben. Eine Folge all dieser Mechanismen war ein erhöhter MS2-Rückhalt.

Zur Bestimmung weiterer Filtrationsmechanismen neben dem sterischen Rückhalt der Partikeln wurden weitere Laborversuche mit den in 3.9.1 beschriebenen Modulen durchgeführt. Dabei wurden die Bakteriophagen, sowie 20 nm Polystyrolpartikeln (PS-Partikeln) separat in Wasser 1 dosiert und der pH-Wert auf pH 5,5, pH 7 und pH 8 variiert. Zusätzlich wurde das Zetapotential der Partikeln bei diesen pH-Werten an einem Zetasizer 5000 (Malvern Instruments) bestimmt. Der Rückhalt der Bakteriophagen und der PS-Partikeln wurde nach 1 h Filtration bestimmt und der pH-Wert in den Proben sofort nach den Probenahmen neutralisiert. Die Bestimmung der 20 nm PS-Partikeln erfolgte mittels LIBD, die der Bakteriophagen mittels Kulturverfahren. Die Ergebnisse sind in Abb. 53 dargestellt.

Es wird deutlich, dass der Rückhalt bei pH 5,5 für Wasser 1 bei allen Partikeln ohne kolloidales NOM am höchsten ist. Bei diesem pH-Wert wiesen die Partikeln das am wenigsten negative Zetapotential der Messreihe auf. Es kann also davon ausgegangen werden, dass die elektrostatische Abstoßung der Partikeln untereinander und von Partikel und Membran bei neutralerem Zetapotential in Wasser 1 minimiert war und somit eine Agglomeration und Anhäufung der Partikeln auf der Membranoberfläche und in den Membranporen einen erhöhten Rückhalt begünstigte. Somit spielten neben der rein mechanischen Abtrennung auch elektrostatische Kräfte bei dem Rückhalt von Partikeln in reinem Wasser durch UF- Membranen in diesen Versuchen eine Rolle. Die Anwesenheit von kolloidalem NOM in den natürlichen Rohwässern jedoch veränderte die Oberflächenladung und Agglomerationsneigung der Bakteriophagen, sowie die Deckschichtbildung, sodass elektro-

statische Wechselwirkungen von Brücken-, Deckschichtbildung und Anlagerung der Organik überdeckt wird.

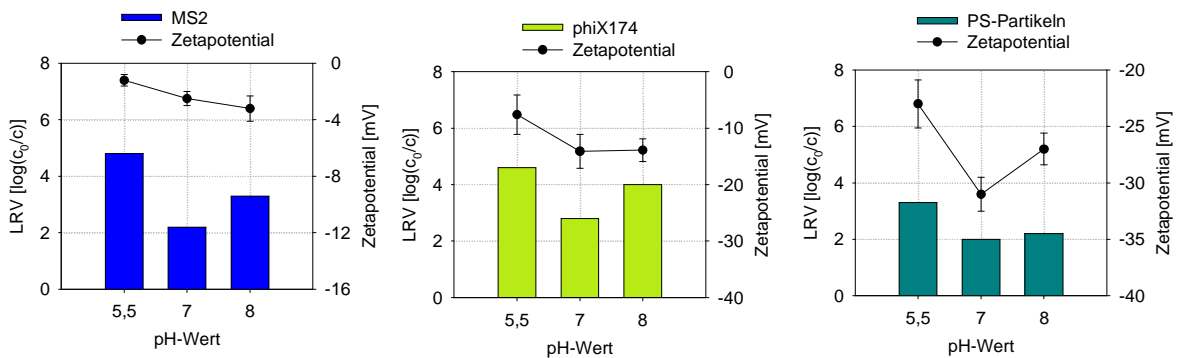


Abb. 53 Rückhalt von Bakteriophagen und PS-Partikeln (20 nm) in Wasser 1 mittels Modul B-1 in Abhängigkeit von pH-Wert und Oberflächenpotential.

### 4.3.3 Vergleich mit dem Verhalten enteraler Viren

Auch bei der Bestimmung der Rückhalteleistung verschiedener Ultrafiltrationsmembranen war die Übertragbarkeit der Ergebnisse mit den Surrogaten MS2 und phiX174 auf das Verhalten von humanpathogenen enteralen Viren eine wichtige Fragestellung.

Mit diesem Hintergrund wurden ausgewählte Membranversuche im halbtechnischen Maßstab durchgeführt. Um die notwendige Menge an nur schwer anzüchtbaren HAdV2 Viren zu erzielen, wurde Wasser 0 mit 30% Rohabwasser gespiked. MS2, phiX174, sowie der F-spezifische Bakteriophagen PRD1, sowie murine Noroviren (MNV) wurden zudoziert. PRD1 wurde zusätzlich verwendet, da er mit seinem Durchmesser von 60 nm größer als die Bakteriophagen MS2 und phiX174 und somit weitere Hinweise auf die Trenngrenze der Membran lieferte. Aufgrund der Arbeiten mit Humanpathogenen wurden diese Versuche am Umweltbundesamt unter Mitwirkung des dortigen Labors der Abteilung Umwelthygiene durchgeführt.

Die Konzentrationen der Bakteriophagen wurden mittels Kulturverfahren bestimmt, die Konzentrationen von MNV und HAdV2 mittels qPCR. Die Ergebnisse der halbtechnischen Versuche sind in Abb. 54 dargestellt.

Gestrichelt ist die Reduktion der Viruskonzentrationen im Zulauf aufgetragen. Diese liegt über dem gesamten Versuchszeitraum bei 0 LRV, sodass von einer stabilen Virusanzahl auszugehen war. Bei Betrachtung der Rückhalte fällt auf, dass der Rückhalt alleinig von der Virusgröße abhängt. HAdV2 mit einem Durchmesser von 100 nm wurde mit einem LRV von 6,5 am besten zurückgehalten. Es folgte der Bakteriophagen PRD1 (5,5 – 6,5 log-Stufen) mit 60 nm und MNV mit 37 nm (3,5 – 5,5 log-Stufen). Den Abschluss mit

einem Rückhalt von 3,0 – 4 log-Stufen bildeten die Bakteriophagen MS2 und phiX174. Der Rückhalt dieser beiden Phagen war im Vergleich zu Versuchen mit anderen aufbereiteten Grundwässern um ca. 1 – 2 log-Stufen höher. Dies lag an der durch das Abwasser eingetragenen Organik, die zu einem höheren Foulingpotential beitrug und somit eine Deckschichtbildung und damit verbesserte Rückhalteleistungen förderte.

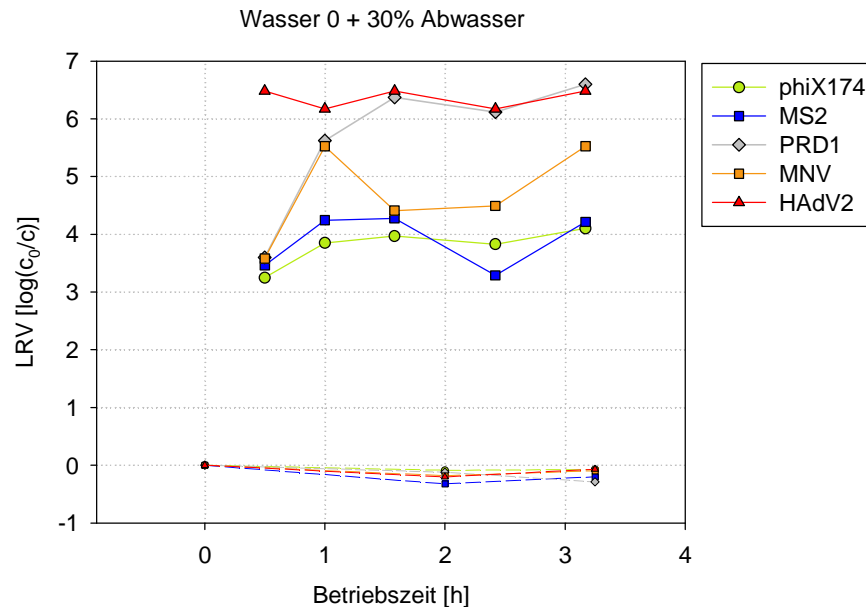


Abb. 54 Rückhalt von Bakteriophagen und enteralen Viren in einer halbtechnischen Ultrafiltrationsanlage (gestrichelte Linien: Reduktion der Viruskonzentration im Zulaufwasser der UF-Membrane).

#### 4.3.4 LIBD-Messungen als Ersatzparameter

##### 4.3.4.1 Nachweis der Polystyrolpartikeln

Der Nachweis von Bakteriophagen mittels Kulturverfahren ist aufgrund des hohen Aufwandes bei Herstellung der Medien- und Bakteriophagenstammlösung, sowie bei dem Nachweis an sich sehr zeitaufwendig und kostenintensiv. Zusätzlich können solche Do- sierversuche mit Bakteriophagen nicht als Integritätstest bei in Betrieb befindlichen Groß- anlagen durchgeführt werden.

Eine Möglichkeit, den Austritt von Partikeln im nanoskaligen Bereich aus einer Ultrafiltrati- onsmembran zu bestimmen, ist die Laser-Induzierte Breakdown-Detektion. Mit dieser Methode wäre es möglich, die Integrität von Membranen durch die Erfassung der natürli- chen Partikelkonzentration im Wasser vor und nach der Membran, die Integrität der Filtra- tionsstufe, oder auch mögliche Leckagen schnell und unkompliziert zu erfassen.

Eine weitere Möglichkeit ist der Einsatz von PS-Partikeln im Größenbereich kleiner Viren (20 - 30 nm), um die Rückhalteleistung einer Ultrafiltrationsmembran zu bestimmen.



Die Erfassung und Bestimmung der Anzahl und Größenverteilung von PS-Nanopartikeln mittels LIBD wurde in der Literatur bereits beschrieben (Bitea 2004) (Wagner 2005) (Bundschuh, Wagner, et al. 2005). Sie werden aufgrund ihrer definierten Größe (mit einer Standardabweichung unter 2%) und Form häufig zur Kalibrierung und zum Vergleich mit anderen aquatischen Kolloiden verwendet.

Eine dekadische Verdünnungsreihe von 20 nm PS-Partikeln in Reinstwasser (Arium 611, Sartorius) lieferte die in Abb. 55 aufgetragenen typischen Kurvenverläufe der LIBD-Messsignale.

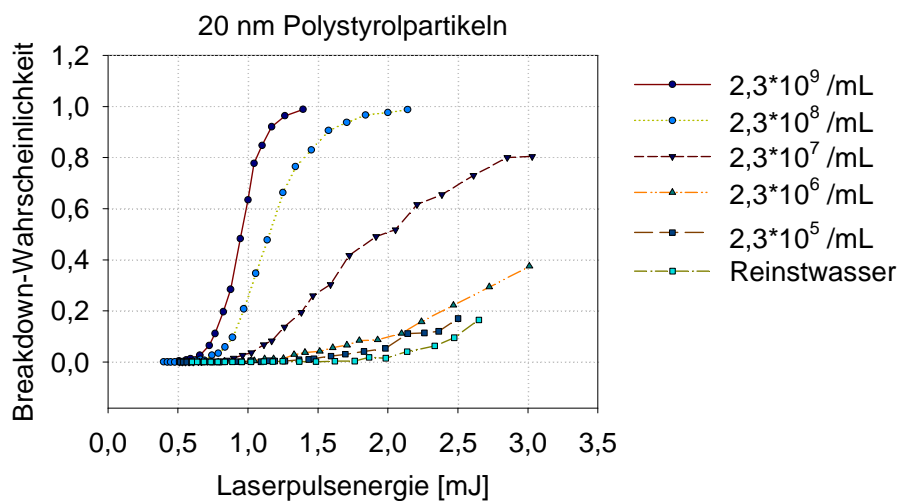


Abb. 55 LIBD-Messsignale für eine dekadische Verdünnungsreihe von 20 nm PS-Partikeln.

Die Verdünnungsstufen im Konzentrationsbereich von Mikrogramm/L wiesen den typischen sigmoidalen Kurvenverlauf auf. Mit abnehmender Konzentration nahm die Steigung der Energiekurven ab (Kim 2007), bis bei niedrigen Konzentrationen im gemessenen Laserpulsenergiebereich der typische Kurvenverlauf nicht mehr auftrat. Im Konzentrationsbereich von wenigen Nanogramm/L sind die Partikelkonzentrationen aufgrund des dominanter werdenden Reinstwassersignals nur noch mit der in 3.6.3 beschriebenen Berechnung zu unterscheiden.

Die gemessenen Konzentrationen stimmten gut mit den angenommenen Werten überein (siehe Tab. 23). Für die 20 nm PS-Partikeln ergab sich eine von der Partikelgröße abhängige Nachweisgrenze von ca.  $10^5$  Partikeln/mL.

Tab. 23 Vergleich der Konzentrationen der PS-Verdünnungsreihe mit den berechneten Konzentrationen.

Konzentration PS-Partikeln (Soll-Wert) in Partikeln/mL	Konzentration PS-Partikeln (Soll-Wert) in µg/L	Verdünnung	Gemessene Konzentration PS-Partikeln (Ist-Wert) in Partikeln/mL	Gemessene Konzentration PS-Partikeln (Ist-Wert) in µg/L
$2,3 \cdot 10^9$	10	-	$1,5 \cdot 10^9$	6,7
$2,3 \cdot 10^8$	1	1:10	$2,0 \cdot 10^8$	0,9
$2,3 \cdot 10^7$	0,1	1:100	$2,1 \cdot 10^7$	0,093
$2,3 \cdot 10^6$	0,01	1:1.000	$2,3 \cdot 10^6$	0,0103
$2,3 \cdot 10^5$	0,001	1:10.000	$6,8 \cdot 10^5$	0,003

#### 4.3.4.2 Nachweis von Bakteriophagen

Der Nachweis von Bakteriophagen mittels LIBD wird in der Literatur bezweifelt, da organische Partikeln, wie Bakteriophagen, durch ihren natürlichen Wasseranteil erst bei höheren Laserpulsenergien ein Signal erzeugen als Partikeln ohne Wasseranteil.

Zum Bakteriophagennachweis wurde ebenfalls eine dekadische Verdünnungsreihe der Phagenstammlösungen vorgenommen. Die Aufreinigung sowohl der Stammlösungen von MS2 und phiX174 als auch der Blindproben erfolgte am Tag der Messung entsprechend dem Protokoll (3.2.2). Für MS2 wurde das Retentat der letzten Reinigungsfiltration in 0,9%-iger NaCl-Lösung in partikelfreiem Reinstwasser, für phiX174 in partikelfreiem Reinstwasser (Arium 611, Sartorius) eluiert, wobei das Ausgangsvolumen beibehalten wurde.

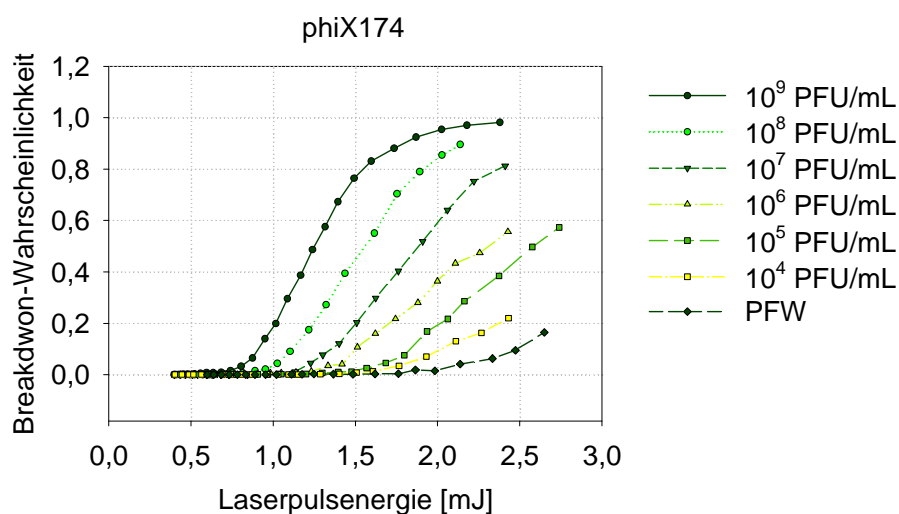


Abb. 56 LIBD-Signale einer dekadischen Verdünnungsreihe von phiX174 in Reinstwasser.

Die für phiX174 gemessenen LIBD-Signale sind in Abb. 56 dargestellt. Es war im gesamten Messbereich von  $10^9$  bis  $10^4$  PFU/mL ein deutliches vom Reinstwasser unterscheidbares Signal zu erkennen.

Das Signal der Blindprobe war jedoch ebenfalls sehr hoch, was auf einen deutlichen Eintrag von Fremdpartikeln, die aus dem Nährmedium der Phagenstammlösung herrühren, schließen ließ. In Abb. 57 sind die LIBD-Signale der phiX174-Verdünnungsreihe, sowie der Blindprobe, dem aufgereinigten Anzuchtmedium MSB, für die entsprechenden Verdünnungsstufen gegenübergestellt. Es wird deutlich, dass das Hintergrundrauschen der Blindprobe, das Messsignal für phiX174 bei einer Konzentration von  $10^9$  PFU/mL überdeckte. Mit zunehmender Verdünnung unterschieden sich jedoch die Signale, sodass das Signal der Bakteriophagen deutlich zu unterscheiden war.

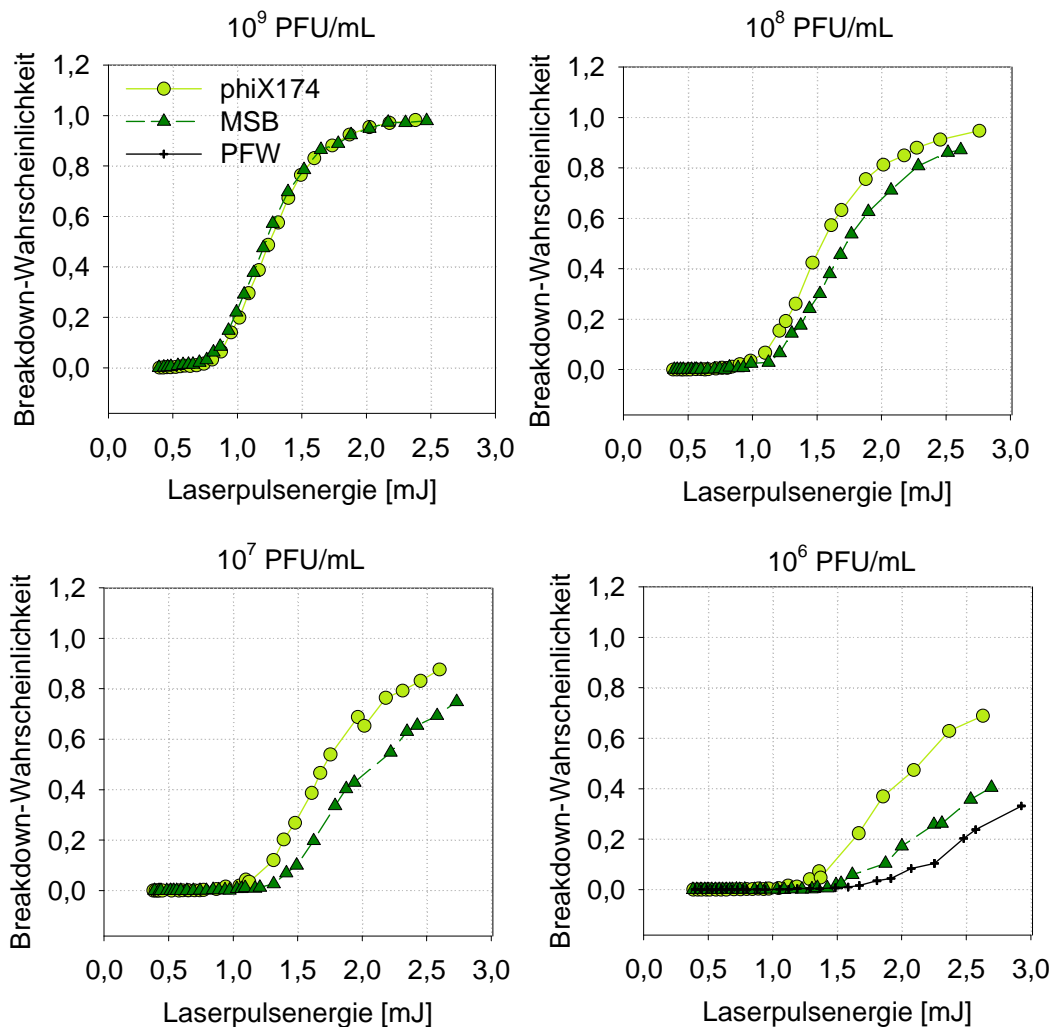


Abb. 57 LIBD-Signale von phiX174 und der Blindprobe in verschiedenen Verdünnungsstufen.

Eine Verdünnungsreihe von MS2-Bakteriophagen lieferte die in Abb. 58 beschriebenen Messsignale. Es fällt auf, dass die Nachweisgrenze recht hoch lag. Bereits bei  $10^7$  PFU/mL konnte das Messsignal nicht mehr vom 0,9%-NaCl-Verdünnungsmedium unterschieden werden. Aufgrund der hohen Nachweisgrenze wurde auf eine Differenzierung des Blindsignals des aufgereinigten Nährmediums verzichtet.

Für beide Bakteriophagen zeigte sich, dass ein Messsignal detektierbar war, welches aber, vor allem für phiX174, stark vom Hintergrundrauschen des Nährmediums beeinflusst wurde. Die Nachweisgrenzen von  $10^4$  PFU/mL für phiX174 und  $10^7$  PFU/mL MS2 lagen sehr hoch, da durch den Wasseranteil der Bakteriophagen, erst bei hohen Konzentrationen eine Unterscheidung vom Signal des Reinstwassers möglich war.

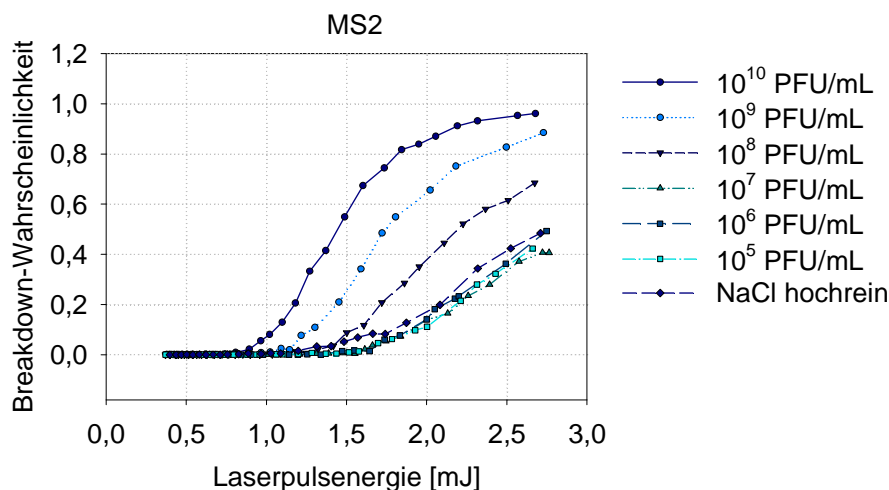


Abb. 58 LIBD-Messsignal einer dekadischen Verdünnungsreihe von MS2 in partikelfreier 0,9%-iger NaCl-Lösung.

Es wurde deutlich, dass aufgrund der angeführten Faktoren der Einsatz der LIBD zur Detektion von Bakteriophagen in UF-Rückhaltetests wenig sinnvoll war, da die Konzentrationen im Filtrat der UF-Membranen häufig unter der Nachweisgrenze der LIBD lagen.

Bei den Versuchen zeigte sich, dass die Breakdown-Schwellen von 0,78 mJ für 20 nm und 0,6 mJ für 30 nm PS-Partikeln zu einer schlechten Übereinstimmung von Messwerten und Fit-Kurve für die Bakteriophagenlösungen führten. Eine Anpassung der Breakdown-Schwelle auf den Wert 1,2 mJ, wie er aus den Messwerten herauszulesen war, erbrachte sehr gute Übereinstimmungen, sodass die Virenkonzentrationen auf diesem Wert basierend berechnet wurde. Je kleiner die Partikeln sind, umso größer ist die Breakdown-Schwelle. Die Bakteriophagen sind größer als die 20 nm PS-Partikeln, bestehen jedoch aus festen und flüssigen Bestandteilen. Es ist zu vermuten, dass der geringere detektierbare feste Anteil die Einsatzschwelle auf 1,2 mJ erhöhte.

#### 4.3.4.3 Anwendung der LIBD zur Charakterisierung von Membrantrenngrenzen

Aufgrund der guten Detektierbarkeit der PS-Partikeln war es möglich, die LIBD bei Rückhalteversuchen mit PS-Partikeln an UF-Membranen einzusetzen.

Dazu wurde zusätzlich zu dem in 3.9.1 beschriebenen Labormodul (A-1) ein weiteres Modul eines anderen Herstellers eingesetzt (B-1). Die Eigenschaften beider Module sind in Tab. 24 beschrieben.

Tab. 24 Eigenschaften der Labormembranmodule bei den Rückhalteversuchen mit PS-Partikeln.

Modul	Porengröße in nm	Werkstoff	Modifikation	Anströmung
A-1	20	PES	unbekannt	in-out
B-1	15	PES	keine	out-in

Für die Rückhalteversuche mit den PS-Partikeln wurden sowohl die Anlage als auch das Membranmodul zuvor 1 h mit partikelfreiem Wasser gespült. Der Membranzulauf und die Proben wurden in 500 mL PFA-Messkolben aufbewahrt. Die Proben aus dem Filtrat wurden aufgrund des für die dynamischen Messungen notwendigen Volumens von 500 mL als Sammelprobe über 100 min entnommen.

Die Messsignale der LIBD für die Zulaufprobe und die Filtratproben beider Membranmodule sind in Abb. 59 aufgetragen. Der Rückhaltetest wurde mit einer Ausgangskonzentration von  $2,3 \cdot 10^9$  /mL der 40 bzw. 30 nm PS-Partikeln im Zulauf durchgeführt.

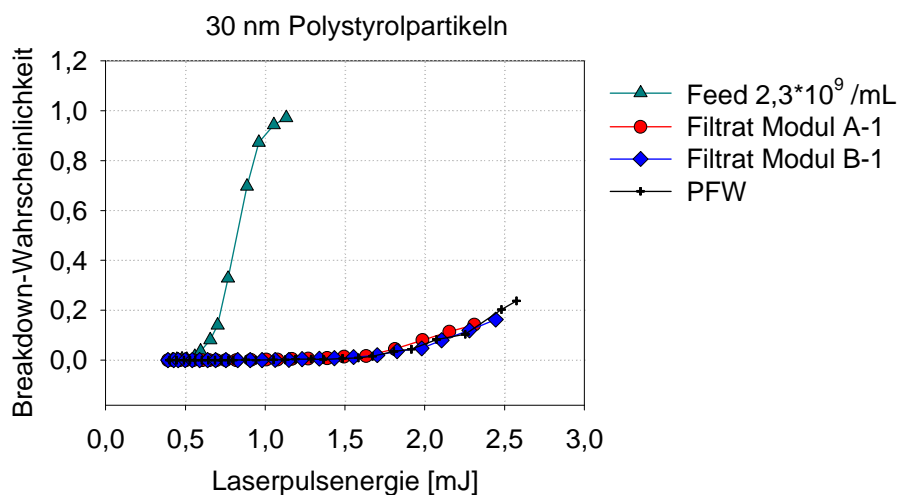


Abb. 59 LIBD-Messsignale der Zulauf- und Filtratproben der Rückhalteversuche mit 30 nm Partikeln für Modul A-1 und B-1.

Anhand der Messsignale ist zu erkennen, dass die Konzentration der 30 nm PS-Partikeln im Filtrat deutlich unterhalb der Ausgangskonzentration im Zulauf der UF-Membranmodule lag. Für beide Module wurde ein vergleichbares Konzentrationssignal detektiert, welches allerdings kaum von dem Signal des partikelfreien Wassers zu unterscheiden war und unterhalb der Nachweisgrenze lag. Eine Quantifizierung ergab eine Konzentration von  $< 10^4$  /mL und somit einen nahezu vollständigen Rückhalt ( $>5,5$  log-Stufen). Für die 40 nm PS-Partikeln wurde ein vergleichbares Ergebnis erzielt.

Bei der Dosierung von 20 nm Partikeln ergab sich dagegen ein nicht vollständiger Rückhalt der Partikeln, wie in Abb. 60 zu erkennen ist. Zum Vergleich sind zusätzlich zu den Zulauf- und Filtratproben, die Messsignale der Verdünnungsstufen der dekadischen Verdünnungsreihe mit aufgetragen. Die Messsignale der Filtratproben lagen über den Signalen für die Konzentrationen  $2,3 \cdot 10^5$  /mL und  $2,3 \cdot 10^6$  /mL. Es ergaben sich Konzentrationen von  $1,0 \cdot 10^7$  /mL für A-1 (entspricht einem Rückhalt von 2,3 logStufen) und  $5,0 \cdot 10^6$  /mL für B-1 (entspricht einem Rückhalt von 2,6 log-Stufen).

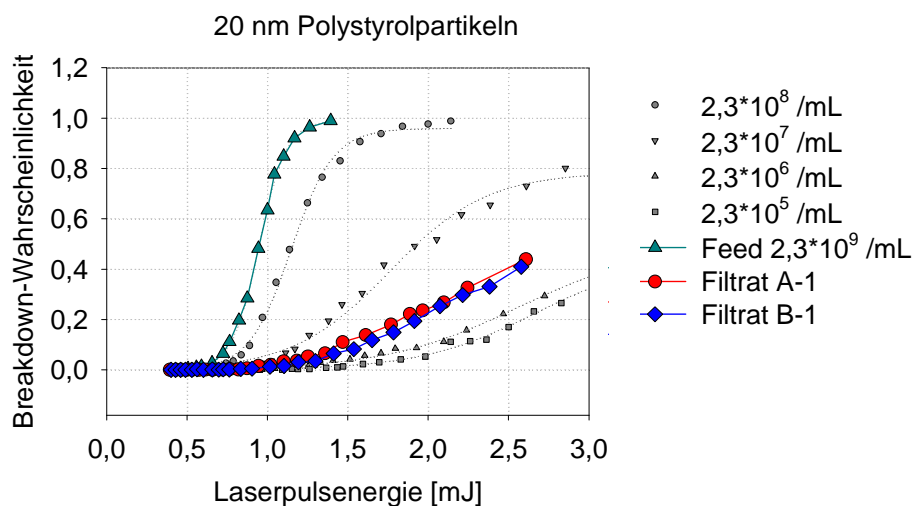


Abb. 60 LIBD-Messsignale der Zulauf- und Filtratproben der Rückhalteversuche mit 20 nm Partikeln für Modul A-1 und B-1.

Für die beiden Module wurde zusätzlich der Rückhalt der Bakteriophagen MS2 und phiX174 mittels Kulturverfahren bestimmt. Hier unterschieden sich die gemessenen Rückhalte stark. Während mit dem Modul A-1 ein Rückhalt von lediglich 1,6 log-Stufen für MS2 (25 nm) und 2,4 log-Stufen für phiX174 (27 nm) erreicht wurde, war der Rückhalt durch B-1 mit  $>6$  log-Stufen für beide Bakteriophagen nahezu vollständig.

Die Auftragung der verschiedenen gemessenen Rückhalte von PS-Partikeln und Bakteriophagen über die jeweiligen Partikelgrößen (siehe Abb. 61) ergab eine Beschreibung

der Trenngrenze der beiden Membranmodule. Dabei wurde der Rückhalt von 10 nm Partikeln aufgrund der Herstellerangabe von einer Trenngrenze von 20 nm als null angenommen. Es wird ersichtlich, dass Modul B-1 eine schärfere Trenngrenze aufwies als Modul A-1, sodass bei letzterem im kritischen Größenbereich der Bakteriophagendurchmesser ein verminderter Rückhalt zu beobachten war.

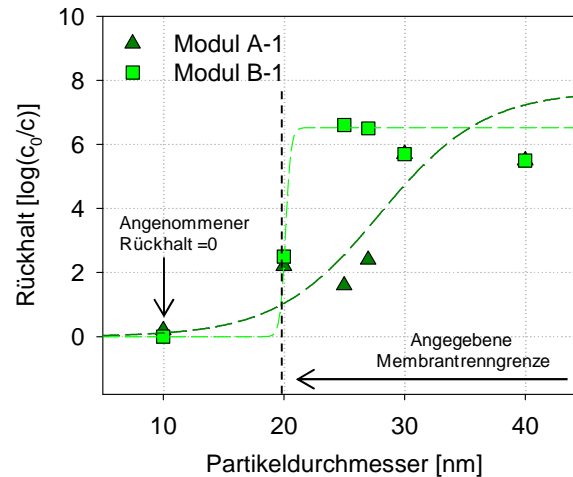


Abb. 61 Für die Labormembranmodule A-1 und B-1 ermittelte Trenngrenzen.

Durch den Einsatz von maschinell produzierten Nanopartikeln in verschiedenen stärker abgestuften Größenbereichen könnte die Porenweite von Membranen genauer charakterisiert werden. Die LIBD erwies sich hierbei als geeignete Messmethode. Allerdings sind dazu partikelfreie Bedingungen notwendig, um einen Eintrag von Fremdpartikeln und somit eine Verfälschung der Messergebnisse zu vermeiden. Die Messungen von Bakteriophagen waren nur in sehr hohen Konzentrationen möglich, wobei eine Zählung der Bakteriophagenpartikeln aufgrund des Medienhintergrundes schwierig war.

#### 4.3.5 Erkenntnisse und Schlussfolgerungen der UF-Versuche

Die Ergebnisse der Laborversuche zum Phagenrückhalt mittels UF waren stark von der jeweiligen Wasserbeschaffenheit abhängig. Wasser mit einem hohen Anteil an langkettigem NOM bilden eine Deckschicht auf der Membranoberfläche aus, wobei sich NOM sich auch auf der Oberfläche von Bakteriophagen mit niedrigem isoelektrischem Punkt anlagern kann. Dadurch verändern sich die Filtrationsbedingungen und der Rückhalt liegt in unbehandelten Rohwässern deutlich über dem Rückhalt, der in den aufbereiteten Grundwässern erzielt wurde. Für die Standardisierung eines Membrantestverfahrens ergeben sich aus diesen Erkenntnissen verschiedene Anforderungen. Während die US EPA Membrane mit Wässern testet, in welchen die Membranmodule Anwendung finden sollen,

ist bei einem solchen Vorgehen ein Vergleich der einzelnen Membranmodule nicht möglich. Für ein vergleichendes Prüfverfahren müssen somit die Randbedingungen wie Wahl des Testbakteriophagen, Variation der Wassermatrix, etc. in die Überlegungen und die weitere Forschung mit eingehen. In den durchgeführten Versuchen zum Vergleich des Rückhaltes von enteralen Viren mit dem von Bakteriophagen zeigte sich, dass der Rückhalt vom Durchmesser der Viren abhing. Je größer der Virus, umso besser war der gemessene Rückhalt.



## 5 Fazit und Ausblick

In der vorliegenden Arbeit wurde das Risiko des Vorkommens von Viren im Trinkwasser betrachtet, wobei besonders auf die Eliminationsleistung der partikelabtrennenden Stufen Flockungsfiltration und Ultrafiltration eingegangen wurde.

Zur Beurteilung der Viruselimination in der Praxis wurden Untersuchungen des Rohwasser und des Ablaufes der partikelabtrennenden Stufe durchgeführt. Als Parameter wurden die natürlich vorkommenden somatischen und F-spezifischen Bakteriophagen im Wasser herangezogen, wodurch ein späterer Vergleich mit Labor- und halbtechnischen Versuchen möglich war. Für die Untersuchungen wurden Oberflächenwässer (Talsperren- und Flusswasser) ausgewählt. In den Talsperrenwässern wurden nur sehr geringe Konzentrationen an natürlichen Bakteriophagen gemessen, sodass eine Bestimmung der Aufbereitungsleistung nicht möglich war. Im Ablauf der Stufen konnten in 100 mL keine Bakteriophagen mehr nachgewiesen werden. Eine höhere Belastung zeigte das Flusswasser. Hier konnten insbesondere somatische Coliphagen in Konzentrationen zwischen 60 und 792 PFU/100mL gemessen werden. Die Flockung mit  $\text{FeCl}_3$  erbrachte eine Reduktion um  $1,8 \pm 0,2$  log-Stufen. Es zeigte sich somit, dass die Bestimmung der Aufbereitungsleistung der großtechnischen Wasseraufbereitung in den meisten Talsperren-Wasserwerken aufgrund niedriger Ausgangskonzentrationen an Bakteriophagen schwierig ist und Alternativen wie experimentelle Dosierversuche notwendig sind.

Der Virenrückhalt durch Ultrafiltration und Flockungsfiltration wurde deshalb durch solche Dosierversuche mit den Bakteriophagen MS2 und phiX174 bestimmt. Dabei wurde der Einfluss einzelner Parametergrößen, wie Flockungsmittelkonzentration, –art und Wassertyp für die Flockung und Flächenbelastung, Membranfouling und Wassertyp für die Membranfiltration näher untersucht. Zudem wurden zusätzlich die zugrundeliegenden Wirkmechanismen der einzelnen Prozesse betrachtet. Zur Bestimmung der Übertragbarkeit der Ergebnisse aus dem Labor dienten Versuche im halbtechnischen Maßstab, zur Bestimmung der Übertragbarkeit des Rückhalts von Bakteriophagen auf den von enteralen Viren entsprechende Vergleichsversuche mit enteralen Viren im Labor- bzw. halbtechnischen Maßstab.

Für Dosierversuche werden häufig Bakteriophagen eingesetzt, insbesondere MS2 ist in der Literatur vertreten. Es konnte gezeigt werden, dass bei Flockungsversuchen MS2 durch die gelösten polymeren Spezies ( $\text{Al}_{13}$ ) des PACl eine starke Inaktivierung widerfährt. Während mittels qPCR keine Reduktion der totalen MS2-Konzentration gemessen wurde, reduzierte sich der Anteil der infektiösen Bakteriophagen, der über das Kulturver-

fahren ermittelt wurde. Die Inaktivierung rührt von einer Modifikation der Oberflächeneigenschaften des MS2-Phagen her. Die Anlagerung der kationischen Al-Spezies bedingt eine Reduktion des Zetapotentials und konnte somit nachgewiesen werden. Es ist anzunehmen, dass der Infektionsweg durch eine Veränderung oder Blockierung des Reifungsproteins, welches für die Anlagerung an das Wirtsbakterium zuständig ist, gehemmt wird. Der somatische Phage phiX174 wurde nicht beeinflusst.

Es wurde gezeigt, dass der Rückhalt von Viren durch Flockung vornehmlich auf Schwarmflockungseffekten basiert. Wechselwirkungen von Bakteriophagenpartikeln und Metallhydroxiden bilden die Grundlage für die Flockenbildung an der Oberfläche der Virenpartikeln und damit für einen verbesserten Einschluss. Somit konnte der hydrophobere und elektroneivere MS2-Phage in den durchgeführten Versuchen immer besser zurückgehalten werden als phiX174. Mit PACl wurde zusätzlich ein besserer Rückhalt als durch FeCl<sub>3</sub> durch verstärkte Wechselwirkungen an der Viroberfläche erzielt. Diese Mechanismen ähneln denen der NOM-Elimination. Der Einschluss der Bakteriophagen zu Beginn der Flockenbildung wird in natürlichen Wässern durch die Anwesenheit von kolloidalem NOM aufgrund von Brückenbildung und Anlagerungseffekten zusätzlich verbessert. Wässer mit einer hohen spezifischen Absorption (SAK-254/DOC-Verhältnis) zeigten den höchsten Phagenrückhalt. Dementsprechend ist eine Übereinstimmung von Bakteriophagen- und NOM-Elimination gegeben, d. h. dass ebenso wie beim NOM-Rückhalt bei Flockungs-pH-Werten zwischen 5 und 6 der höchste Rückhalt bei einer Eisenchlorid-Flockung erzielt wird. Die Übertragbarkeit der Versuchsergebnisse auf den halbertechnischen Maßstab ist möglich und die Eignung der Bakteriophagen als konservative Surrogate für HAdV2 und MNV konnte gezeigt werden. Der Rückhalt der enteralen Viren war vergleichbar oder höher als der Rückhalt der Bakteriophagen.

Die minimal und maximal ermittelten Rückhalte für den Bakteriophagen MS2 lagen bei 0,2 – 4,0 log-Stufen für FeCl<sub>3</sub> und bei 0,5 – 5,0 log-Stufen für PACl. Für phiX174 ergaben sich Rückhalte von 0,1 – 1,8 log-Stufen für FeCl<sub>3</sub> und 0,1 – 3,5 log-Stufen für PACl. Der Rückhalt hängt aufgrund der Elimination durch Schwarmflockung stark von der Flockungsmittelkonzentration ab. Höhere Flockungsmittelkonzentrationen ergeben einen höheren Virenrückhalt. Somit wurde deutlich, dass in für die Praxis relevanten Flockungsmittelkonzentrationen (FeCl<sub>3</sub> von 1 - 5 mgFe/L, PACl von 0,1 – 2 mgAl/L) nur Rückhalte <3 log-Stufen zu erreichen sind. In den natürlichen Wässern wurde für MS2 ein Rückhalt ≥3 log-Stufen erst ab einer Dosierung von 5 mgFe/L FeCl<sub>3</sub> und ab 1 – 5 mgAl/L PACl erreicht. Für phiX174 wurde bei der in den Versuchen höchsten Flockungsmittelkonzentration von 10 mgFe/L FeCl<sub>3</sub> ein Rückhalt von 2 log-Stufen erreicht und mittels PACl ein Rückhalt von 3 log-Stufen ab 5 - 10 mgAl/L. Für eine großtechnische Flockungsfiltration mit 7 mgFe/L

$\text{FeCl}_3$  wurde anhand der Konzentrationen an natürlich vorkommenden somatischen Coliphagen ein Rückhalt von  $1,8 \pm 0,2$  log-Stufen detektiert. Die WHO (WHO 2011) nimmt die Virenelimination durch Flockung mit einer breiten Spanne von Rückhalten an, die stark von den Flockungsbedingungen abhängt. Diese Annahme wurde durch die Versuche bestätigt, wobei Rohwasserqualität, Flockungsmittelkonzentration und pH-Wert eine entscheidende Rolle spielen.

Bei der Ultrafiltration fiel ein starker Einfluss der Modulverarbeitung auf. Die für eine Ultrafiltration geforderten 4 log-Stufen Rückhalt wurde nur bei Wässern mit erhöhtem Foulingpotential gemessen, in sauberen Wässern schwankte der Rückhalt der Bakteriophagen stark und lag oft unter einer log-Stufe. Bei einer Versuchsreihe mit unterschiedlich gepoteten Modulen wurde deutlich, dass insbesondere die Pottingtemperatur und damit die Verteilung des Pottingharzes einen starken Einfluss auf die Ergebnisse hatte. Je besser die Verteilung des Harzes in der Stützsicht war, umso bessere Rückhalte wurden ermittelt. Aufgrund dieser Unterschiede zwischen den Membranmodulen war auch eine Übertragung der Ergebnisse auf größere Maßstäbe nicht möglich. Bei hohen Transmembrandruckanstiegen über die Filtrationszeit wurde in allen Versuchen der höchste Bakteriophagenrückhalt gemessen. Dabei zeigte sich wieder der Einfluss von kolloidalem NOM. Bei Wässern mit hoher spezifischer Absorption wurde auch ein gutes Rückhalteergebnis erzielt. Die Unterschiede zu Wässern mit geringem Foulingpotential lagen bei einem um ein bis zwei log-Stufen erhöhten Rückhalt.

Zur Bestimmung des Membranrückhaltes wurde neben dem Nachweis von Bakteriophagen auch der Einsatz der Laser-induzierten Breakdown-Detektion (LIBD) überprüft. Während der Nachweis von Polystyrolpartikeln gelang, wurde für den Nachweis von kleinen (22 - 25 nm) Bakteriophagen beobachtet, dass die Bakteriophagen MS2 und phiX174 nur in sehr hohen Konzentrationen nachweisbar waren und somit die LIBD für den Virennachweis an sich ungeeignet erscheint. Der Rückhalt von Polystyrolpartikeln in Membranrückhaltetests konnte jedoch mittels LIBD erfasst werden. Aufgrund der verschiedenen vorhandenen Größen der Polystyrolpartikeln sowie der Bakteriophagen war es möglich, für zwei Membranmodule eine Trennkurve zu ermitteln. Um Membranen mit einem standardisierten Testverfahren bewerten zu können, sind die Versuchsbedingungen in weitergehenden Untersuchungen festzulegen, so dass hierfür weiterer Forschungsbedarf gegeben ist.

## 6 Literaturverzeichnis

- Abbaszadegan, M., Mayer, B., Ryu, H., Nwachuku, N., 2007. „Efficiency of removal of CCL viruses under enhanced coagulation conditions.“ *Environmental Science and Technology*, Bd. 41, 971-977.
- Abbaszadegan, M., Monteiro, P., Nwachuku, N., Alum, A., Ryu, H., 2008. „Removal of adenovirus, calicivirus, and bacteriophages by conventional drinking water treatment.“ *Journal of Environmental Science and Health, Part A*, Bd. 43, 171-177.
- Ackermann, H., 2007. „5500 Phages examined in the electron microscope.“ *Archives of Virology*, Bd. 152, 227 - 243.
- Antony, A., Blackbeard, J., Leslie, G., 2011. „Removal efficiency and integrity monitoring techniques for virus removal by membrane processes.“ *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, Bd. 42, 891 - 933.
- Armon, R., Kott, Y., 1996. „Bacteriophages as indicators of pollution.“ *Critical reviews in Environmental Science and Technology*, Bd. 26, 299-335.
- Aronino, R., Dlugy, C., Arkhangelsky, E., Shandalov, S., Oron, G., Brenner, A., Gitis, V., 2009. „Removal of viruses from surface water and secondary effluents by sand filtration.“ *Water Research*, Bd. 43, 87-96.
- Attinti, R., Wei, J., Kniel, K., Sims, J., Jin, Y., 2010. „Virus (MS2, X174, and Aichi) Attachment on Sand Measured by Atomic Force Microscopy and Their Transport through Sand Columns.“ *Environmental Science and Technology*, Bd. 44, 2426-2432.
- Baalousha, M., 2009. „Aggregation and disaggregation of iron oxide nanoparticles: Influence of particle concentration, pH and natural organic matter.“ *Science of the Total Environment*, Bd. 407, 2093-2101.
- Bales, R., Li, S., Maguire, K., Yahya, M., Gerba, C., 1993. „MS-2 and poliovirus transport in porous media: hydrophobic effects and chemical perturbations.“ *Water Resources Research*, Bd. 29, 957-963.
- Bernhardt, H., 1996. *Trinkwasseraufbereitung*. Verlag Wahnbachtalsperrenverband.

- Bitea, C. *Laser- induzierte Breakdown Detektion (LIBD): Quantifizierung der Kolloidbildung vierwertiger Actiniden und Homologen*. Forschungszentrum Karlsruhe: Wissenschaftliche Berichte FZKA 7083, 2004.
- Blinn, S. *Einsatzmöglichkeiten der Laser- induzierten Breakdown-Detektion (LIBD) zur Bestimmung des Partikel- und Virenrückhaltes bei der Ultrafiltration*. Karlsruhe: Diplomarbeit, Karlsruher Institut für Technologie (KIT)-Institut für Funktionelle Grenzflächen (IFG), Technologiezentrum Wasser (TZW), 2012.
- Botzenhart, K., 2007. „Viren im Trinkwasser.“ *Bundesgesundheitsblatt-Gesundheitsforschung-Gesundheitsschutz*, Bd. 50, 296-301.
- Botzenhart, K., Fleischer, J., 2009. „Abschätzung der Gesundheitsgefährdung durch Viren im Trinkwasser.“ *gwf Wasser Abwasser*, Bd. 3, 361 - 366.
- Boudaud, N., Machinal, C., David, F., Freval-Le Bourdonnec, A., Jossent, J., Bakanga, F., Arnal, C., Jaffrezic, M., Oberti, S., Gantzer, C., 2012. „Removal of MS2, Q $\beta$  and GA bacteriophages during drinking water treatment at pilot scale.“ *Water Research*, Bd. 46, 2651-2664.
- Bratby, J., 2006. *Coagulation and flocculation in water and wastewater treatment*. Verlag IWA Publishing.
- Bratby, J., 2006. *Coagulation and flocculation in water and wastewater treatment*. Verlag Intl Water Assn.
- Broyles, J., O'Connell, K., Korniewicz, D., 2002. „PCR-based method for detecting viral penetration of medical exam gloves.“ *Journal of Clinical Microbiology*, Bd. 40, 2725-2728.
- Bundschuh, T., Wagner, T., Eberhagen, I., Hamsch, B., Köster, R., 2005. „Detection of biocolloids in aquatic media by Nano-Particle Analyzer.“ *Spectroscopy*, Bd. 19, 69-78.
- Bundschuh, T. „Entwicklung und Anwendung der Laser- induzierten Breakdown-Detektion zur Quantifizierung aquatischer Kolloide und Actinidenkolloide.“ Dissertation, Institut für Radiochemie der Technischen Universität München, 1999.
- Buras, N., Kott, Y., 1966. „Bacteriophage as an indicator for the estimation of water pollution.“ *Israel Journal of Medical Science*, Bd. 2, 660 - 669.
- Calendar, R., 2006. *The Bacteriophages*. Verlag Oxford University Press, Inc..

- Carillo-Trip, M., Shepherd, C., Borelli, I., Vengataraman, S., Lander, G., Natarajan, P., Johnson, J., Brooks, C., Reddy, V., 2008. „VIPERdb2: an enhanced and web API enabled relational database for structural virology.“ *Nucl. Acids Res.*, Bd. 37, 436 - 442.
- Caro, L., Schnös, M., 1966. „The attachment of the male-specific bacteriophage F1 to sensitive strains of Escherichia coli.“ *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, Bd. 56, 126 - 132.
- Christian, P., Von der Kammer, F., Baalousha, M., Hofmann, T., 2008. „Nanoparticles: structure, properties, preparation and behaviour in environmental media.“ *Ecotoxicology*, Bd. 17, 326-343.
- Crabtree, K., Gerba, C., Rose, J., Haas, C., 1997. „Waterborne adenovirus: a risk assessment.“ *Water science and technology*, Bd. 35, 1-6.
- Crews, N., Wittwer, C., Gale, B., 2008. „Continuous-flow thermal gradient PCR.“ *Biomedical microdevices*, Bd. 10, 187-195.
- Curtiss, L., Krueger, R., 1974. „Localization of coliphage MS2 A-protein.“ *Journal of Virology*, Bd. 14, 503-508.
- Dowd, S., Pillai, S., Wang, S., Corapcioglu, M., 1998. „Delineating the specific influence of virus isoelectric point and size on virus adsorption and transport through sandy soils.“ *Applied and Environmental Microbiology*, Bd. 64, 405-410.
- Dreier, J., Stormer, M., Kleesiek, K., 2005. „Use of bacteriophage MS2 as an internal control in viral reverse transcription-PCR assays.“ *Journal of Clinical Microbiology*, Bd. 43, 4551 - 4557.
- Duek, A., Arkhangelsky, E., Krush, R., Brenner, A., Gitis, V., 2012. „New and conventional pore size tests in virus-removing membranes.“ *Water Research*, Bd. 46, 2505 - 2514.
- DVGW, Technische Regel. *W218 Flockung in der Wasseraufbereitung - Flockungstestverfahren*. Bonn: DVGW, 1998.
- DVGW, Technisches Komitee "Wasseraufbereitungsverfahren". *Hygienische Sicherheit von Ultrafiltrations- und Mikrofiltrationsanlagen zur Trinkwasseraufbereitung*. Information, Bonn: DVGW, 2006.

- Edzwald, J., 1993. „Coagulation in drinking water treatment: particles, organics and coagulants.“ *Water Science and Technology*, Bd. 27, 21-35.
- Edzwald, J., Tobiasson, J., 1999. „Enhanced coagulation: US requirements and a broader view.“ *Water Science and Technology*, Bd. 40, 63-70.
- Fiksdal, L., Leiknes, T., 2006. „The effect of coagulation with MF/UF membrane filtration for the removal of virus in drinking water.“ *Journal of Membrane Science*, Bd. 279, 364-371.
- Fleischer, J., Hamsch, B., 2007. „Enteropathogene Viren in Rohwasser (Oberflächenwasser) und in der Wasseraufbereitung.“ *Energie Wasser Praxis*, Bd. 4, 34 - 40.
- Frimmel, F H, A Gorenflo, und F Saravia. *Vorlesungsskript: Aufbereitung wässriger Lösungen durch Membranverfahren*. TH Karlsruhe, Engler Bunte Institut, Wasserchemie, 2006.
- Gerba, C., Riley, K., Nwachuku, N., Ryu, H., Abbaszadegan, M., 2003. „Removal of Encephalitozoon intestinalis, calicivirus, and coliphages by conventional drinking water treatment.“ *Journal of Environmental Science and Health, Part A*, Bd. 38, 1259-1268.
- Golmohammadi, R., Valegard, K., Fridborg, K., Liljas, L., 1993. „The Refined Structure of Bacteriophage MS2 at 2,8Å Resolution.“ *Journal of molecular biology*, Bd. 234, 620-639.
- Grabow, W., 2004. „Bacteriophages: update on application as models for viruses in water.“ *Water SA*, Bd. 27, 251-268.
- Graham, D., Dufour, G., Estes, M., 1987. „Minimal infective dose of rotavirus.“ *Archives of Virology*, Bd. 92, 261-271.
- Gregory, J., Jia, X., Williams, R., 1998. *Particle deposition and aggregation: measurement, modelling and simulation*. Verlag Butterworth-Heinemann.
- Guibert, D., Colling, A., 2011. „Direct membrane integrity testing: Impact of parameter selection on log removal value calculations.“ *Desalination*, Bd. 272, 174 - 178.
- Guy, M., McIver, J., Lewis, M., 1977. „The removal of virus by a pilot treatment plant.“ *Water Research*, Bd. 11, 421-428.

- Hamsch, B., Bösl, M., Eberhagen, I., Müller, U., 2012. „Removal of bacteriophages with different surface charges by diverse ceramic membrane material in pilot spiking tests.“ *Water Science and Technology*, Bd. 12, 66.
- Havelaar, A., Van Olphen, M., Schijven, J., 1995. „Removal and inactivation of viruses by drinking water treatment processes under full scale conditions.“ *Water Science and Technology*, Bd. 31, 55-62.
- Hennes, K., Suttle, C., 1995. „Direct counts of viruses in natural waters and laboratory cultures by epifluorescence microscopy.“ *Limnology and Oceanography*, Bd. 40, 1050 - 1055.
- Herath, G., Yamamoto, K., Urase, T., 1999. „Removal of viruses by microfiltration membranes at different solution environments.“ *Water Science and Technology*, Bd. 40, 331-338.
- Incardona, N., Selvidge, L., 1973. „Mechanism of Adsorption and Eclipse of Bacteriophage phiX174.“ *Journal of Virology*, Bd. 11, 775 - 782.
- ISO10705-1:1995. *Nachweis und Zählung von Bakteriophagen Teil 1: Zählung von F-spezifischen RNA-Bakteriophagen*. Deutsche Fassung EN ISO 10705-1:2001, 2001.
- ISO10705-2:2000. *Nachweis und Zählung von Bakteriophagen Teil 2: Zählung von somatischen Coliphagen*. Deutsche Fassung EN ISO 10705-2:2001, 2001.
- ISO8199:2005. *Wasserbeschaffenheit - Allgemeine Anleitung zur Zählung von Mikroorganismen durch Kulturverfahren*. BD. Deutsche Fassung EN ISO 8199:2007, 2007.
- Jacangelo, J., Adham, S., Laine, J., 1995. „Mechanism of Cryptosporidium, Giardia, and MS2 virus removal by MF and UF.“ *Journal - American Water Works Association*, Bd. 87, 107 - 121.
- Jekel, M., 1985. *Huminstoffe im Flockungsprozess der Wasseraufbereitung*. Verlag Vertrieb, ZfGW-Verlag.
- Jekel, M., 1986. „Interactions of humic acids and aluminum salts in the flocculation process.“ *Water Research*, Bd. 20, 1535-1542.
- Jekel, M., Gimbel, R., Ließfeld, R., 2003. *DVGW - Wasseraufbereitung - Grundlagen & Verfahren*. Bd. 6. Verlag Oldenbourg Industrieverlag.



- Kim, J., 2007. *Laser- induced Breakdown Detection, in Environmental Colloids and Particles: Behaviour, Separation and Characterisation*. Verlag John Wiley & Sons, Ltd..
- Kott, Y., 1981. „Viruses and bacteriophages.“ *Science of the Total Environment*, Bd. 18, 13-23.
- Kreißel, K., Bösl, M., Lipp, P., Franzreb, M., Hamsch, B., 2012. „Study on the removal efficiency of UF membranes using bacteriophages in bench- and semi-technical scale.“ *Water Science and Technology*, Bd. 66, 1195-1202.
- Lahti, K., Hiisvirta, L., 1995. „Causes of waterborne outbreaks in community water systems in Finland: 1980 - 1992.“ *Water Science and Technology*, Bd. 31, 33 - 36.
- Langlet, J., Ogorzaly, L., Schrotter, J., Machinal, C., Gaboriaud, F., Duval, J., Gantzer, C., 2009. „Efficiency of MS2 phage and Q $\beta$  phage removal by membrane filtration in water treatment: Applicability of real-time RT-PCR method.“ *Journal of Membrane Science*, Bd. 326, 111-116.
- Lawn, A., 1966. „Morphological features of the pili associated with Escherichia coli K12 carrying R factors or the F factor.“ *Journal of General Microbiology*, Bd. 45, 377 - 383.
- Le-Clech, P., Chen, V., Gane, T., 2006. „Fouling in membrane bioreactors used in wastewater treatment.“ *Journal of Membrane Science*, Bd. 284, 17-53.
- Lipp, P., 2010. *Membranfiltrationsverfahren*. Verlag DVGW Kurs 3 - Maschinelle und elektrische Anlagen.
- Liu, H., Hu, C., Zhao, H., Qu, J., 2009. „Coagulation of humic acid by PACl with high content of Al<sup>13</sup>: The role of aluminum speciation.“ *Separation and Purification Technology*, Bd. 70, 225-230.
- Lukasik, J., Scott, T., Andryshak, D., Farrah, S., 2000. „Influence of salts on virus adsorption to microporous filters.“ *Applied and Environmental Microbiology*, Bd. 66, 2914-2920.
- Madigan, M., Martinko, J., Parker, J., Brock, T., 2003. *Mikrobiologie*. Verlag Spektrum Akademischer Verlag.

- Matilainen, A., Vepsäläinen, M., Sillanpää, M., 2010. „Natural organic matter removal by coagulation during drinking water treatment: A review.“ *Advances in Colloid and Interface Science*, Bd. 159, 189-197.
- Matsui, Y., Matsushita, T., Sakuma, S., Gojo, T., Mamiya, T., Suzuoki, H., Inoue, T., 2003. „Virus inactivation in aluminum and polyaluminum coagulation.“ *Environmental Science and Technology*, Bd. 37, 5175-5180.
- Matsushita, T., Matsui, Y., Shirasaki, N., 2006. „Analysing mass balance of viruses in a coagulation-ceramic microfiltration hybrid system by a combination of the polymerase chain reaction (PCR) method and the plaque forming units (PFU) method.“ *Water Science and Technology*, Bd. 53, 199-207.
- Maurer, A., Störchler, D., 2000. „A waterborne outbreak of small round structured virus, campylobacter and shigella co-infections in La Neuveville, Switzerland, 1998.“ *Epidemiology and Infection*, Bd. 125, 325-332.
- Mayer, B., Ryu, H., Abbaszadegan, M., 2008. „Treatability of US Environmental Protection Agency Contaminant Candidate List Viruses: Removal of Coxsackievirus and Echovirus using Enhanced Coagulation.“ *Environmental Science and Technology*, Bd. 42, 6890-6896.
- McKenna, R., Xia, D., Willingmann, P., Ilag, L., Rossmann, M., 1992. „Structure Determination of Bacteriophage phiX174.“ *Acta Crystallographica Section B: Structural Science*, Bd. 48, 499 - 511.
- Melin, T., Rautenbach, R., 2004. *Membranverfahren, Grundlagen der Modul- und Anlagenauslegung. 2. Auflage.* Verlag Springer-Verlag.
- Mesquita, M., Stimson, J., Chae, G., Tufenkji, N., Ptacek, C., Blowes, D., Emelko, M., 2010. „Optimal preparation and purification of PRD1-like bacteriophages for use in environmental fate and transport studies.“ *Water Research*, Bd. 44, 1114-1125.
- Michen, B., Graule, T., 2010. „Isoelectric points of viruses.“ *Journal of Applied Microbiology*, Bd. 109, 388-397.
- Modrow, S., Falke, D., 1997. *Molekulare Virologie.* Verlag Spektrum Akademische Verlag.
- Mossel, D., 1983. „Marker (index and indicator) organisms in food and drinking water. Semantics, ecology, taxonomy and enumeration.“ *Antonie van Leeuwenhoek*, Bd. 48, 609-611.

- Myers, D., 1999. *Surfaces, interfaces, and colloids*. Verlag Wiley-VCH.
- Nasser, A., Weinberg, D., Dinoor, N., Fattal, B., Adin, A., 1995. „Removal of hepatitis A virus (HAV), poliovirus and MS 2 coliphage by coagulation and high rate filtration.“ *Water Science and Technology*, Bd. 31, 63 - 68.
- Papapetropoulou, M., Vantarakis, A., 1998. „Detection of adenovirus outbreak at a municipal swimming pool by nested PCR amplification.“ *Journal of Infection*, Bd. 36, 101-103.
- Rebhun, M., Meir, S., Laor, Y., 1998. „Using dissolved humic acid to remove hydrophobic contaminants from water by complexation-flocculation process.“ *Environmental Science and Technology*, Bd. 32, 981-986.
- RKI, 2004. „Zu einer Häufung von Norovirus-Erkrankungen als Folge verunreinigten Trinkwassers.“ *Epidemiologisches Bulletin*, Bd. 36, 301 - 302.
- Rosenberger, S., Laabs, C., Lesjean, B., Gnirss, R., Amy, G., Jekel, M., Schrotter, J-C., 2006. „Impact of colloidal and soluble organic material on membrane performance in membrane bioreactors for municipal wastewater treatment.“ *Water Research*, Bd. 40, 710-720.
- Rychlik, W., Spencer, W., Rhoads, R., 1990. „Optimization of the annealing temperature for DNA amplification in vitro.“ *Nucleic Acids Research*, Bd. 18, 6409 - 6412.
- Safferman, R., Morris, M., 1976. „Assessment of virus removal by a multi-stage activated sludge process.“ *Water Research*, Bd. 10, 413 - 420.
- Schijven, J., Hassanizadeh, S., 2000. „Removal of viruses by soil passage: Overview of modeling, processes, and parameters.“ *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, Bd. 30, 49-127.
- Schmoll, O., Chorus, ., Feuerpreil, I., Selinka, H., Szewzyk, R., 2012. „ Die Bewertung gesundheitlicher Risiken durch Krankheitserreger im Trinkwasser.“ *Umweltmedizin in Forschung und Praxis*, Bd. 17, 81 - 95.
- Selinka, H., Botzenhart, K., Feuerpfel, I., Puchert, W., Schmoll, O., Szewzyk, R., Willmitzer, H., 2011. „Nachweis von Viren im Rohwasser als Grundlage einer Risikoabschätzung.“ *Bundesgesundheitsblatt-Gesundheitsforschung-Gesundheitsschutz*

- Smeets, P., Dullemont, Y., Van Gelder, P., Van Dijk, J., Medema, G., 2008. „Improved methods for modelling drinking water treatment in quantitative microbial risk assessment; a case study of *Campylobacter* reduction by filtration and ozonation.“ *Journal of Water and Health*, Bd. 6, 301 - 314.
- Sobsey, M., 1989. „Inactivation of health-related microorganisms in water by disinfection processes.“ *Water Science and Technology*, Bd. 21, 179-195.
- Stavis, R., August, J., 1970. „The biochemistry of RNA bacteriophage replication.“ *Annual Review of Biochemistry*, Bd. 39, 527-560.
- Syngouna, V., Chrysikopoulos, C., 2010. „Interaction between viruses and clays in static and dynamic batch systems.“ *Environmental Science and Technology*, Bd. 44, 4539-4544.
- Taylor, S., Wakem, M., Dijkman, G., Alsarraj, M., Nguyen, M., 2010. „A practical approach to RT-qPCR--Publishing data that conform to the MIQE guidelines.“ *Methods*, Bd. 50, 1-5.
- Teunis, P., Rutjes, S., Westrell, T., Roda Husman, A., 2009. „Characterization of drinking water treatment for virus risk assessment.“ *Water Research*, Bd. 43, 395-404.
- TrinkwV. *Verordnung über die Qualität von Wasser für den menschlichen Gebrauch (Trinkwasserverordnung - TrinkwV 2001) in der Bekanntmachung vom 02.08.2013 (BGBl I 2013 - Nr. 46, S. 2899).*
- Tröster, M. *Nanoparticles in drinking water purification processes*. Forschungsbericht, Technologiezentrum Wasser: DVGW, 2011.
- Trussel, R., Merlo, R., Hermanowicz, S., Jenkins, D., 2006. „The effect of organic loading on process performance and membrane fouling in a submerged membrane bioreactor treating municipal wastewater.“ *Water Research*, Bd. 40, 2675-2683.
- Valentine, R., Strand, M., 1965. „Complexes of F-pili and RNA bacteriophage.“ *Science*, Bd. 21, 277 - 282.
- Van Benschoten, J., Edzwald, J., 1990. „Chemical aspects of coagulation using aluminum salts--I. Hydrolytic reactions of alum and polyaluminum chloride.“ *Water Research*, Bd. 24, 1519-1526.
- Van Heerden, J., Ehlers, M., Van Zyl, W., Grabow, W., 2003. „Incidence of adenoviruses in raw and treated water.“ *Water Research*, Bd. 37, 3704-3708.

- Wagner, T. „Kolloidchemie in aquatischen Systemen-Technische und methodische Weiterentwicklung der Laser-induzierten Breakdown-Detektion (LIBD) von Nanoteilchen.“ Dissertation, Universität Regensburg, 2005.
- Walther, C., Bitea, C., Hauser, W., Kim, J., Scherbaum, F.J., 2002. „Laser-induced breakdown detection for the assessment of colloid mediated radionuclide migration.“ *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research*, Bd. 195, 374 - 388.
- Wang, D., Sun, W., Xu, Y., Tang, H., Gregory, J., 2004. „Speciation stability of inorganic polymer flocculant-PACl.“ *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, Bd. 243, 1-10.
- Ward, R., Bernstein, D., Young, E., Sherwood, J., Knowlton, D., Schiff, G., 1986. „Human rotavirus studies in volunteers: determination of infectious dose and serological response to infection.“ *Journal of Infectious Diseases*, Bd. 154, 871-880.
- Westrell, T., Bergstedt, O., Stenström, T., 2003. „A theoretical approach to assess microbial risks due to failures in drinking water systems.“ *International Journal of Environmental Health Research*, Bd. 13, 181-197.
- WHO, Guidelines., 2011. „Fourth Edition.“ *World Health Organization, Geneva*
- WHO, Guidelines., 2008. „Third Edition, Recommendations.“ *World Health Organization, Geneva*, Bd. 1, .
- Xagorarakis, I., Harrington, G., 2004. „Zeta potential, dissolved organic carbon, and removal of *Cryptosporidium* oocysts by coagulation and sedimentation.“ *Journal of Environmental Engineering*, Bd. 130, 1424 - 1432.
- Xu, W., Gao, B., Wang, Y., Yang, Z., Bo, X., 2011. „Role of Al<sup>13</sup> species in removal of natural organic matter from low specific UV absorbance surface water and the aggregates characterization.“ *Chemical Engineering Journal*, Bd. 171, 926-934.
- Yan, M., Wang, D., Yu, J., Ni, J., Edwards, M., Qu, J., 2008. „Enhanced coagulation with polyaluminum chlorides: role of pH/alkalinity and speciation.“ *Chemosphere*, Bd. 71, 1665-1673.
- Zhang, K., Farahbakhsh, K., 2007. „Removal of native coliphages and coliform bacteria from municipal wastewater by various wastewater treatment processes: Implications to water reuse.“ *Water Research*, Bd. 41, 2816 - 2824.

---

Zhang, Y., Chen, Y., Westerhoff, P., Crittenden, J., 2009. „Impact of natural organic matter and divalent cations on the stability of aqueous nanoparticles.“ *Water Research*, Bd. 43, 4249-4257.

## 7 Formelzeichen und Symbole

### Lateinische Formelzeichen

$A$	[m <sup>2</sup> ]	Filterfläche
$A_H$	[J]	Hamaker Konstante
$A_M$	[m <sup>2</sup> ]	Membranfläche
$BDP(E)$	[-]	Breakdown-Wahrscheinlichkeit bei einer bestimmten Laserpulsenergie $E$ .
$c(F_i)$	[-]	Konzentration Komponente $i$ im Feedstrom
$c(P_i)$	[-]	Konzentration Komponente $i$ im Permeatstrom
$c_i$	[g/L]	Konzentration der Komp. $i$ in den Poren
$c$	[PFU/mL]	Phagenkonzentration im filtrierten Überstand des Flockungsansatzes
$c_0$	[PFU/mL]	Dosierte Phagenkonzentration vor dem Flockungsversuch
$c$	[PFU]	Konzentration
$c_0$	[1/m <sup>3</sup> ]	Elektrolytkonzentration
$D_i$	[m <sup>2</sup> /s]	Diffusionskoeffizient der Komponente $i$
$\Delta x$	[m]	Dicke der Membran
$\Delta p$	[bar]	Strömungsdruckverlust im porösen Medium (Filterkuchen)
$dV / dt$	[m <sup>3</sup> /h]	Filterkuchenbildung nach der Zeit
$dp$	[bar]	treibende Druckdifferenz über Membran
$rel. TMP = TMP_t - TMP_{t0}$	[bar]	relativer TMP
$TMP$	[bar]	transmembranen Druckdifferenz
$\Delta G_T$	[J]	Gibbs freie Energie
$e$	[C]	Elementarladung $1,602 \cdot 10^{-19}$ C
$E_t$	[mJ]	konstanten Breakdown- Schwelle
$\bar{G}$	[1/sec]	Schergefälles
$I$	[C <sup>2</sup> /m <sup>3</sup> ]	Ionenstärke
$k$	[J/K]	Boltzman Konstante $1,38065 \cdot 10^{-23}$ J/K
$k(T)$	[-]	Korrekturfaktor zur Normierung der Permeabilität auf 20°C

$K$	[-]	Konstante
$L_P$	[L/m <sup>2</sup> /h/bar]	Permeabilität
$LRV$	[-]	log removal value
$\dot{M}$	[PFU/h]	Massenstrom
$n_{i,\infty}$	[1/m <sup>3</sup> ]	Anzahl der Ionen der Sorte i pro Volumen im Gleichgewicht
$p_F$	[bar]	herrschender Druck im Feedstrom
$p_R$	[bar]	herrschender Druck im Retentat
$p_P$	[bar]	herrschender Druck im Permeat
$P$	[Nm*sec <sup>-1</sup> ]	Energieeintrag
$\dot{Q}$	[L/h]	Durchfluss
$Q_i$	[g/h]	Massenstrom Komponente i durch die Membran
$R_i$	[-]	Rückhalt der Komponente i,
$r$	[m]	Radius der Poren
$r$	[m]	Kugelradius
$S_{i,j}$	[-]	Selektivität
$T$	[°C], [K]	Temperatur
$U$	[μmcm/Vsec]	Mobilität
$V$	[m <sup>3</sup> ]	Reaktionsvolumen
$\dot{V}$	[L/h]	Volumenstrom
$w$	[%]	Porosität der Membran
$x$	[m]	Teilchenabstand
$x$	[m]	radialer Abstand der Kugelmittelpunkte
$z_i$	[-]	Ladungszahl der Ionen der Sorte i

## Griechische Formelzeichen

$\partial$	[m]	Debye-Hückel Länge
$\epsilon$	[As/Vm]	Dielektrizitätskonstante des Vakuums 8,854 * 10 <sup>-12</sup> A*sec/V/m
$\kappa$	[1/m]	1/Doppelschichtdicke
$\lambda$	[-]	Korrekturfaktor für die Porenlänge



$\eta$	[kg/(m*s)]	Viskosität
$\eta$	[N*sec*m <sup>-2</sup> ]	dynamischen Viskosität
$\sigma_0$	[C*m <sup>-2</sup> ]	Oberflächenladungsdichte
$\psi$	[V]	Potential
$\psi_0$	[V]	Sternpotential
$V_P$	[L/(m <sup>2</sup> *h)]	Flux
$\xi$	[V]	Potential der Scherfläche

## Indizes

$0$	Rohwasser
$DS$	Defektstrom
$Fil$	Filtrat
$i$	Komponente $i$
$j$	Komponente $j$
$M$	Membran
$p$	Permeat

## Abkürzungen

$Al_{13}$	$AlO_4Al_{12}(OH)_{24}^{7+}$ -Kation
B	Basizität (OH/Al)
BDP	Breakdwon-Wahrscheinlichkeit
BMBF	Bundesministerium für Bildung und Forschung
cDNA	clone DNA
DALY	Disease Adjusted Life Years
DLS	Dynamische Lichtstreuung
DLVO-Theorie	nach Derjaguin, Landau, Verwey, Overbeek, Beschreibung der Wechselwirkungen bei kolloidalen Systemen
DOC	Dissolved Organic Carbon
DSMZ	Deutschen Sammlung für Mikroorganismen und Zellkulturen
HAdV2	Adenoviren Typ 2
IEP	Isoelektrischer Punkt
LAXI	LB-Ampicillin-X-Gal-IPTG
LIBD	Laser-induzierte Breakdwon-Detektion

MID	Minimale Infektionsdosis
MM	Molare Masse
MNV	muriner Noroviren
MSA	Modifizierte Scholtens' Bouillon
MSB	Modifizierte
NOM	Natural Organic Matter
PACl	Polyaluminiumchlorid
PCR	Polymerase Kettenreaktion
PES	Polyethersulfon
PFA	Perfluoralkoxy-Polymer
PFU	Plaque Forming Units
PS	Polystyrol
qPCR	quantitative PCR
$R_H$	hydrodynamischen Radius
RNA	Ribonukleinsäure
SAK-254	Spezifischer Adsorptionskoeffizient bei 254 nm Wellenlänge (Organische Wasserinhaltsstoffe)
SAK-436	Spezifischer Adsorptionskoeffizient bei 436 nm Wellenlänge (Färbung des Wassers)
ssDNA	single stranded Desoxyribonukleinsäure
ssMSA	Super Soft Modifizierte Scholtens' Bouillon
ssRNA	single stranded Ribonukleinsäure
ssTYGA	super soft Trypton-Hefeextrakt-Glukose-Agar
TAE-Puffer	
TOC	Total Organic Carbon
TYGA	Trypton-Hefeextrakt-Glukose-Agar
TYGB	Trypton-Hefeextrakt-Glukose-Bouillon
UF	Ultrafiltration
WHO	World Health Organization

## 8 Anhang

### 8.1 Medien für Anzucht und Nachweis F-spezifischer Bakteriophagen

#### Calcium-Glukose-Lösung

3 g  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$

10 g Glukose

in 100 mL Deionat durch Erhitzen gelöst.

Bei Erreichen von Raumtemperatur über einen 0,2  $\mu\text{m}$  Membranfilter (Polypropylen, Acrodisc, Pall Life Science) sterilfiltrieren.

#### Trypton-Hefeextrakt-Glukose-Bouillon (TYGB)

10 g Trypton

1 g Hefeextrakt

8 g NaCl

in 1.000 mL Deionat durch Erhitzen lösen.

pH-Wert auf  $7,2 \pm 0,1$  bei  $25^\circ\text{C}$  einstellen.

Die Bouillon in 50 mL Volumina portionieren (250 mL Schraubglasflaschen) und 20 min bei  $121^\circ\text{C}$  autoklavieren.

Calcium-Glukose-Lösung im Verhältnis 1:100 zum Grundmedium geben und gut mischen.

#### Trypton-Hefeextrakt-Glukose-Agar (TYGA)

10 g Trypton

1 g Hefeextrakt

8 g NaCl

15 g Agar-Agar in 1.000 mL Deionat durch Erhitzen lösen.

pH-Wert auf  $7,2 \pm 0,1$  bei  $25^\circ\text{C}$  einstellen.

Den Agar (Grundmedium) in 250 mL Volumina (250 mL Schraubglasflaschen) portionieren und 20 min bei  $121^\circ\text{C}$  autoklavieren.

Bei Verwendung das Grundmedium aufschmelzen, auf  $45\text{-}50^\circ\text{C}$  abkühlen lassen, die Calcium-Glukose-Lösung im Verhältnis 1:100 steril hinzufügen und den Agar in Petrischalen gießen. Am Ansatztag die Platten vor der Verwendung 45 min unter der Sterilbank antrocknen.

**Trypton-Hefeextrakt Weichagar (ssTYGA)**

10 g Trypton

1 g Hefeextrakt

8 g NaCl

8 g Agar-Agar in 1.000 mL Deionat durch Erhitzen lösen.

pH-Wert auf  $7,2 \pm 0,1$  bei  $25^{\circ}\text{C}$  einstellen.

Den Weichagar (Grundmedium) in 50 mL Volumina portionieren (100 mL Schraubglasflaschen) und 20 min bei  $121^{\circ}\text{C}$  autoklavieren.

Bei Verwendung das Grundmedium aufschmelzen, auf  $45\text{-}50^{\circ}\text{C}$  abkühlen lassen, 0,5 mL der Calcium-Glukose-Lösung hinzufügen und bis zur Portionierung bei  $(45 \pm 1)^{\circ}\text{C}$  im Wasserbad lagern.

**Trypton-Hefeextrakt-Glukose Weichagar doppelkonzentriert (dssTYGA)**

20 g Trypton

2 g Hefeextrakt

16 g NaCl

16 g Agar-Agar in 1.000 mL Deionat durch Erhitzen lösen.

pH-Wert auf  $7,2 \pm 0,1$  bei  $25^{\circ}\text{C}$  einstellen.

Den doppelkonzentrierten Agar (Grundmedium) in 50 mL Volumina portionieren (250 mL Schraubglasflaschen) und 20 min bei  $121^{\circ}\text{C}$  autoklavieren.

Bei Verwendung das Grundmedium aufschmelzen, auf  $45\text{-}50^{\circ}\text{C}$  abkühlen lassen, 0,5 mL der Calcium-Glukose-Lösung hinzufügen und bis zur Portionierung bei  $(45 \pm 1)^{\circ}\text{C}$  im Wasserbad lagern.

**McConkey-Agar**

47 g McConkey-Agar in 1.000 mL Deionat durch Erhitzen lösen.

Der pH liegt bei  $7,4 \pm 0,2$  bei  $25^{\circ}\text{C}$ . 20 min bei  $121^{\circ}\text{C}$  autoklavieren und in Petrischalen gießen. Die Oberfläche der Platten vor dem Beimpfen trocknen.

**Peptonsalzlösung**

9,5 g Peptonsalz in 1.000 mL Deionat lösen. Je 9 mL in Reagenzgläser mit Schraubdeckel pipettieren und 20 min bei  $121^{\circ}\text{C}$  autoklavieren.

Der pH liegt bei  $7,0 \pm 0,2$  bei  $25^{\circ}\text{C}$ .

## 8.2 Medien für Anzucht und Nachweis somatischer Bakteriophagen

### Calciumchlorid-Lösung

14,6 g  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$

in 100 mL Deionat durch Erhitzen lösen.

Bei Erreichen von Raumtemperatur über einen 0,2  $\mu\text{m}$  Membranfilter (Polypropylen, Acrodisc, Pall Life Science) sterilfiltrieren.

### Natriumcarbonat-Lösung

22,5 g  $\text{Na}_2\text{CO}_3$

in 150 mL autoklaviertem Deionat lösen.

### Magnesiumchlorid-Lösung

100 g  $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  zu 50 mL Deionat geben.

Bei 121°C 20 min sterilisieren.

### Modifizierte Scholtens' Bouillon (MSB)

10 g Pepton

3 g Hefeextrakt

12 g Fleischextrakt

3 g NaCl

5 mL  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ -Lösung und 0,3 mL  $\text{MgCl}_2$ -Lösung

in 1.000 mL Deionat durch Erhitzen lösen.

pH-Wert auf  $6,8 \pm 0,1$  bei 25°C einstellen.

Die Bouillon in 50 mL Volumina (250 mL Schraubglasflaschen) portionieren und 20 min bei 121°C autoklavieren.

### Modifizierter Scholtens' Agar (MSA)

10 g Pepton

3 g Hefeextrakt

12 g Fleischextrakt

3 g NaCl

5 mL  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ -Lösung

15 g Agar

0,3 mL  $\text{MgCl}_2$ -Lösung

in 1.000 mL Deionat durch Erhitzen lösen.

pH-Wert auf  $7,2 \pm 0,1$  bei  $25^\circ\text{C}$  einstellen.

Den Agar (Grundmedium) in 250 mL Volumina (250 mL Schraubglasflaschen) portionieren und 20 min bei  $121^\circ\text{C}$  autoklavieren.

Bei Verwendung das Grundmedium aufschmelzen, auf  $45\text{-}50^\circ\text{C}$  abkühlen lassen, die Calciumchlorid-Lösung im Verhältnis 3:500 steril hinzufügen und den Agar in Petrischalen gießen. Am Ansatztag die Platten vor der Verwendung 45 min unter der Sterilbank antrocknen.

#### **Modifizierter Scholtens' Weichagar (ssMSA)**

10 g Pepton

3 g Hefeextrakt

12 g Fleischextrakt

3 g NaCl

5 mL  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ -Lösung

7 g Agar

0,3 mL  $\text{MgCl}_2$ -Lösung

in 1.000mL Deionat durch Erhitzen lösen.

pH-Wert auf  $6,8 \pm 0,1$  bei  $25^\circ\text{C}$  einstellen.

Den Agar (Grundmedium) in 50 mL Volumina (100 mL Schraubglasflaschen) portionieren und 20 min bei  $121^\circ\text{C}$  autoklavieren.

Bei Verwendung das Grundmedium aufschmelzen, auf  $45\text{-}50^\circ\text{C}$  abkühlen lassen, 0,3 mL der Calciumchlorid-Lösung hinzufügen und bis zur Portionierung bei  $(45 \pm 1)^\circ\text{C}$  im Wasserbad lagern.

#### **Modifizierter Scholtens' Weichagar doppelkonzentriert (dssMSA)**

20 g Pepton

6 g Hefeextrakt

24 g Fleischextrakt

6 g NaCl

10 mL  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ -Lösung

14 g Agar

0,6 mL  $\text{MgCl}_2$ -Lösung

in 1.000 mL Deionat durch Erhitzen lösen.

pH-Wert auf  $6,8 \pm 0,1$  bei  $25^\circ\text{C}$  einstellen.

Den Weichagar (Grundmedium) in 50 mL Volumina portionieren (250 mL Schraubglasflaschen) und 20 min bei 121°C autoklavieren.

Bei Verwendung das Grundmedium aufschmelzen, auf 45-50°C abkühlen lassen, 0,3 mL der Calciumchlorid-Lösung hinzufügen und bis zur Portionierung bei (45±1)°C im Wasserbad lagern.

### **McConkey-Agar**

Wie in 8.1 beschrieben.

### **Pepton-Salzlösung**

Wie in 8.1 beschrieben.

## **8.3 Medien für die Standardherstellung der quantitativen PCR**

### **LAXT-Platten**

10 g NaCl

5 g Hefeextrakt

10 g Trypton

in 900 mL H<sub>2</sub>O dest. lösen

pH 7 mit 10 M NaOH einstellen (ca. 200 µl) und auf 1 L auffüllen

auf zwei 1 L-Flaschen mit je 7,5 g Agar aufteilen und Rührfische in Flaschen geben autoklavieren und abkühlen lassen auf ca. 50°C

1 mL 100 mg/mL Ampicillin zugeben

5 mL 0,1 M IPTG zugeben

0,5 mL 160 mg/mL X-gal zugeben und mischen

Platten gießen

### **NaOH 10 M**

39,997 g in 100 mL H<sub>2</sub>O dest. lösen

in Plastikgefäß bei Raumtemperatur lagern

### **IPTG-Stocklösung 0,1 M**

1,19 g IPTG (MW 238,3) in 40 mL H<sub>2</sub>O dest. Lösen und Volumen auf 50 mL einstellen

in 5 mL Aliquots aufteilen und Aliquots sterilfiltrieren

bei -20°C lagern (max. 4 Monate)

**X-gal 160 mg/mL**

3200 mg x-gal in 20 mL N,N-Dimethylformamid lösen  
in 500 µL Aliquots aufteilen und in Polypropylen-Gefäßen abfüllen  
vor Licht geschützt bei -20°C lagern (max. 4 Monate)

**Ampicillin 100 mg/mL**

1000 mg in 10 mL H<sub>2</sub>O dest. lösen  
1 mL Aliquots abfüllen  
bei -20°C lagern

**SOC**

20 g Trypton  
5 g Hefeextrakt  
10 mL 1 M NaCl  
2,5 mL 1 M KCl  
in 900 mL H<sub>2</sub>O dest. lösen  
pH 7 einstellen mit 10 M NaOH (ca. 100µL)  
auf 970 mL auffüllen  
autoklavieren  
10 mL sterilfiltrierte 2 M Mg<sup>2+</sup>-Lösung zugeben  
10 mL sterilfiltrierte 2 M Glukose zugeben

**NaCl 1 M**

5,8442 g in 100 mL H<sub>2</sub>O dest. lösen  
autoklavieren

**KCl 1 M**

7,445 g in 100 mL H<sub>2</sub>O dest. lösen  
autoklavieren

**Mg<sup>2+</sup>-Lösung 2 M**

20,33 g MgCl<sub>2</sub> 6 H<sub>2</sub>O  
24,65 g MgSO<sub>4</sub> 7 H<sub>2</sub>O  
in 100 mL H<sub>2</sub>O dest. lösen  
sterilfiltrieren



**Glukose 2 M:**

36,032 g in 100 mL H<sub>2</sub>O dest. lösen  
sterilfiltrieren

**LB-Amp**

10 g NaCl  
5 g Hefeextrakt  
10 g Trypton  
in 900 mL H<sub>2</sub>O dest. lösen  
pH 7 mit 10 M NaOH einstellen (ca. 200µL)  
auf 1 L auffüllen  
je 5 mL in Glasröhrchen mit Kappe geben  
je 100 mL in 250 mL-Erlenmeyerkolben mit Kappe geben  
autoklavieren  
je Röhrchen 2,5 µL 100 mg/mL Ampicillin zugeben  
je Kolben 50 µL 100 mg/mL Ampicillin zugeben

**TAE-Puffer 50X**

242 g Tris Base  
57,1 mL 1M Essigsäure  
18,6 g EDTANa<sub>2</sub>H<sub>2</sub>O  
1 L H<sub>2</sub>O dest.  
pH 8,5 einstellen mit 5 M NaOH

### 8.4 MIQE des molekularbiologischen Nachweises von MS2 und phiX174.

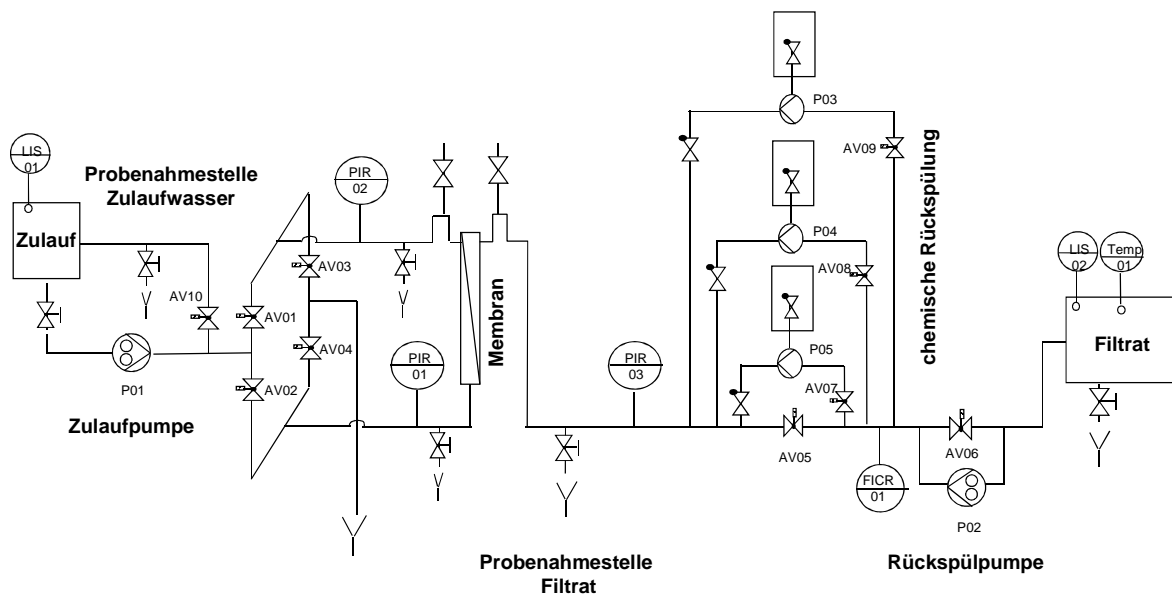
MIQE Guidelines - Flocculation Experiments			
Sample/Template	details	MS2	phiX174
Source	If cancer, was biopsy screened for adjacent normal tissue?	Spiked water samples	Spiked water samples
Method of preservation	Liquid N2/RNA later/formalin	Frozen (-18°C)	Frozen (-18°C)
Storage time (if appropriate)	If using samples >6 months old	>6 month	>6 month
Handling	fresh/frozen/formalin	Frozen (-18°C)	Frozen (-18°C)
Extraction method	Trizol/columns	Concentration: 1 mL in 50 µL with Roti-Spin Mini-30, 30 MWCO ViralXpress Kit (Millipore) LOT:JH1744309	Concentration: 1 mL in 50 µL with Roti-Spin Mini-30, 30 MWCO ViralXpress Kit (Millipore) LOT:JH1744309
RNA: DNA-free	Intron-spanning primers/no RT control	c-DNA synthesis (DyNamo cDNA Synthesis Kit for qRT-PCR, Finnzymes; LOT: 232) 10 µL RT Puffer + 3 µL RNase free H <sub>2</sub> O + 2 µL M-MuLV RNase H+ reverse transcriptase + 1 µL Random Hexamer + 4 µL Template from Extraction Programme: 10 min 25°C; 30 min 37°C; 5 min 85°C; cooling	
Concentration	Nanodrop/ribogreen/microfluidics	Standards: Qubit Fluorometer	Standards: Qubit Fluorometer
RNA: integrity	Microfluidics/3'5' assay	?	?
Inhibition-free	Method of testing	Dilution/Comparison with double agar layer method	Dilution/Comparison with double agar layer method
Assay optimisation/validation			
Accession number	RefSeq XX_1234567	AEB91402, Replicase Protein, MS2	AAZ49075, Maturation Protein, phiX174
Amplicon details	exon location, amplicon size	314 bp	110 bp
Primer sequence	even if previously published	Dreier, J., et al., 2005 F: 5'-CTGGGCAATAGTCAA-3' R: 5'-CGTGGATCTGACATAC-3'	Crews, N., et al, 2008 5'-GGTTCGTCGAAGACTGGTTT-3 5'-TTGAACAGCATCGGACTCAG-3
Probe sequence*	identify LNA or other substitutions	no probes used	no probes used
In silico	BLAST/Primer-BLAST/m-fold	100% match forward, 100% match revers, Position: 2717-3031	100% match forward, 90% match revers, Position: 260 - 369
empirical	primer concentration/annealing temperature	0,4 µM, 52°C	0,4 µM, 52°C
Priming conditions	oligo-dT/random/combination/target-specific	target specific	target specific
PCR efficiency	dilution curve	Eff: 0,92 - 1,0; R <sup>2</sup> 0,9900 - 0,99992; R 0,9800 - 0,99984	Eff: 0,90 - 1,08; R <sup>2</sup> 0,9889 - 0,99970; R 0,97797 - 0,99940
Linear dynamic range	spanning unknown targets	6,25*10 <sup>2</sup> PFU/mL - 1*10 <sup>8</sup> PFU/mL	1,25*10 <sup>2</sup> PFU/mL - 1*10 <sup>8</sup> PFU/mL
Limits of detection	LOD detection/accurate quantification	LOD 5 copies/reaction; LOQ 10 copies/reaction; LOQ: 625 PFU/mL ca. LRV 4,5	LOD 5 copies/reaction; LOQ 10 copies/reaction; LOQ: 125 PFU/mL (ca. LRV 4,4)
Intra-assay variation	copy numbers not Cq	Comparison Standards: 6% - 11%	Comparison Standards: 6% - 9%
RT/PCR			
Protocols	detailed description, concentrations, volumes	12,5 µL Sensi Mix (2x) + 8,5 µL PCR H <sub>2</sub> O + 1 µL Primer F (10 pmol/µL), 1 µL Primer R (10 pmol/µL), 2 µL Template Programme 1x 95°C 15 min 45x 94°C 15 sec. 50°C 30 sec. 72°C 30 sec. 55°C - 99°C melt	12,5 µL Sensi Mix (2x) + 8,5 µL PCR H <sub>2</sub> O + 1 µL Primer F (10 pmol/µL), 1 µL Primer R (10 pmol/µL), 2 µL Template Programme 1x 95°C 15 min 45x 94°C 20 sec. 52°C 20 sec. 72°C 20 sec. 55°C - 99°C melt
Reagents	supplier, Lot number	ultraPURE DNase/RNase free Distilled Water, Life technologies LOT: 1002503 SensiMix SYBR No-ROX, Bioline, Batch No: SMT/N50-110K, SMT/N25-110K Alt: SMT-N50-908	ultraPURE DNase/RNase free Distilled Water, Life technologies LOT: 1002503 SensiMix SYBR No-ROX, Bioline, Batch No: SMT/N50-110K, SMT/N25-110K Alt: SMT-N50-908
Duplicate RT	ΔCq	Average of Average of different Std. dilutions: 0,134±0,180	Average of Average of different Std. dilutions: 0,135±0,089
NTC	Cq & melt curves	sometimes betw: 32 - 42 (behind last standard), normally no signal; NTC melt curve different (see diagramm)	sometimes betw: 32 - 42 (behind last standard), normally no signal; NTC melt curve different (see diagramm)
NAC	ΔCq beginning/end of qPCR	not done	not done
Positive control	inter-run calibrators	Standards	Standards
Data analysis			
Specialist software	e.g., QBasePlus	Rotor-Gene 6000 Series Software 1.7	Rotor-Gene 6000 Series Software 1.7
Statistical justification	e.g., biological replicates	triplicates	triplicates
Transparent, validated normalisation	e.g., GeNormsummary	?	?

## 8.5 Verbaute Komponenten in der LIBD-Anlage

Nr.	Bezeichnung	Modell
B1 – B5	Blende	Newport, M-ID-1,0
S1 – S4	Laserspiegel	Qioptiq, G340-753-000
K1 – K3	Quarzkeil	Laseroptik, LW-S-00032
1	Laser	Quantel Ultra
2	Shutter	Laser 2000 SH-10
3	Quartzplatte, rotierend gelagert	
4	$\lambda/4$ -Plättchen	Newport, 10RP04-16
5	$\lambda/4$ -Plättchen	Newport, 10RP04-16
6	Elektrischer Rotationstisch	Newport PR50CC
7	Glan-Polarisator	Newport 10 GL08AR.14
8	Pyroelektrischer Detektor	BFI PE10A-532-20
L1	Bi-Konkav-Linse – 50 mm	Qioptiq G3113-337-000
L2	Bi-Konvex-Linse + 50 mm	Qioptiq G311-322-000
L3	Bi-Konvex-Linse + 50 mm	Qioptiq G311-322-000
L4	Bi-Konkav-Linse – 50 mm	Qioptiq G3113-337-000
9	Piezo-Detektor	Dittel
10	Küvettenhalter	

Nr.	Bezeichnung	Modell
11	CCD Kamera mit vorgeschaltetem Filterrad	Thorlabs GmbH, BC 106-VIS Newport, FWM1X12
12	Beam-Dump	Newport, PL15
13	Photodiode	Femto HSA-X-S-1G4
11	CCD Kamera mit vorgeschaltetem Filterrad	Thorlabs GmbH, BC 106-VIS Newport, FWM1X12
12	Beam-Dump	Newport, PL15
13	Photodiode	Femto HSA-X-S-1G4
	Motorsteuerung	Newport ESP301-§G
	PC	
	PG	Pulsgenerator Scientific Instruments DG 645

### 8.6 Fließbild der halbtechnischen Membrananlage.



## 8.7 Laborversuche Flockung

Ergebnisse der Flockungsversuche in log-Stufen (MW= Mittelwert, STABW= Standardabweichung)

MS2 KV	Wasser 0		Wasser 1		Wasser 2		Wasser 3	
	MW	STABW	MW	STABW	MW	STABW	MW	STABW
F1 Ü	0,11	/	0,23	0,27	3,31	1,25	0,44	0,24
F5 Ü	2,07	/	1,31	0,48	6,30	0,63	3,19	1,23
F10 Ü	0,69	0,79	1,74	0,60	6,73	1,21	3,74	1,29
A1 Ü	5,12	/	1,26	0,53	7,34	0,24	5,61	1,44
A5 Ü	5,35	2,41	3,05	0,43	7,60	0,75	6,62	1,97
A10 Ü	5,90	/	3,65	0,37	8,35	0,41	7,63	0,93
F1 FM	/	/	0,06	0,16	/	/	/	/
F5 FM	/	/	0,22	0,13	0,51	0,09	/	/
F10 FM	0,15	0,26	0,29	0,39	2,52	2,14	0,93	0,93
A1 FM	/	/	0,88	0,51	3,63	1,59	2,15	1,19
A5 FM	1,00	0,80	1,01	0,54	2,87	1,49	/	/
A10 FM	3,19	/	2,24	0,27	4,80	0,28	4,71	1,31

MS2 qPCR	Wasser 0		Wasser 1		Wasser 2		Wasser 3	
	MW	STABW	MW	STABW	MW	STABW	MW	STABW
F1 Ü	-0,08	/	0,41	0,72	0,70	1,02	-0,10	0,27
F5 Ü	1,68	/	1,21	0,68	2,99	0,86	2,53	1,93
F10 Ü	0,45	1,03	1,88	0,60	3,51	0,87	3,75	0,95
A1 Ü	3,43	/	0,78	0,30	2,87	0,03	2,02	1,92
A5 Ü	2,37	0,78	3,60	0,78	3,69	0,70	3,57	1,30
A10 Ü	4,54	/	2,58	0,54	4,53	0,92	5,30	1,40
F1 FM	/	/	-0,57	0,75	/	/	/	/
F5 FM	/	/	-0,14	0,57	/	/	/	/
F10 FM	-0,26	1,72	1,90	1,46	0,49	1,42	1,08	1,36
A1 FM	/	/	-0,17	0,24	/	/	/	/
A5 FM	0,35	2,67	1,24	1,47	1,99	1,87	2,75	1,28
A10 FM	3,17	/	-0,27	0,13	/	/	2,86	1,62

phiX174 KV	Wasser 0		Wasser 1		Wasser 2		Wasser 3	
	MW	STABW	MW	STABW	MW	STABW	MW	STABW
<b>F1 Ü</b>	0,14	/	0,09	0,07	0,41	0,55	0,06	0,12
<b>F5 Ü</b>	0,08	/	0,54	0,26	1,08	0,73	0,83	0,71
<b>F10 Ü</b>	0,42	0,18	0,76	0,65	2,20	0,98	0,93	0,78
<b>A1 Ü</b>	-0,04	/	0,09	0,18	0,18	0,54	0,27	0,20
<b>A5 Ü</b>	0,30	0,21	1,09	0,23	3,49	0,58	2,66	0,59
<b>A10 Ü</b>	0,29		1,49	0,40	5,14	1,29	2,95	0,63
<b>F1 FM</b>	-0,03	/	0,13	0,16	/	/	-0,04	/
<b>F5 FM</b>	0,08	/	0,16	0,29	/	/	-0,13	0,14
<b>F10 FM</b>	0,18	0,23	0,23	0,20	0,05	0,14	-0,08	0,19
<b>A1 FM</b>	0,04	/	0,03	0,25	/	/	0,06	/
<b>A5 FM</b>	0,30	0,21	0,08	0,17	-0,06	0,23	-0,08	0,11
<b>A10 FM</b>	0,00	/	0,10	0,29	/	/	-0,01	0,30

phiX174 qPCR	Wasser 0		Wasser 1		Wasser 2		Wasser 3	
	MW	STABW	MW	STABW	MW	STABW	MW	STABW
<b>F1 Ü</b>	0,19	/	0,02	0,06	-0,24	0,36	-0,14	0,14
<b>F5 Ü</b>	0,20	/	0,35	0,23	0,31	0,19	0,84	0,77
<b>F10 Ü</b>	0,35	0,16	0,51	0,72	0,96	0,53	1,30	0,36
<b>A1 Ü</b>	0,08	/	0,12	0,12	0,25	0,02	0,22	0,31
<b>A5 Ü</b>	0,34	0,09	1,01	0,41	2,94	0,24	2,49	0,53
<b>A10 Ü</b>	0,31	/	1,78	0,38	3,34	0,14	2,72	0,74
<b>F1 FM</b>	/	/	0,13	0,12	/	/	/	/
<b>F5 FM</b>	/	/	0,79	0,26	/	/	/	/
<b>F10 FM</b>	1,01	0,39	1,24	0,54	1,52	0,38	1,43	0,84
<b>A1 FM</b>	/	/	0,09	0,12	/	/	/	/
<b>A5 FM</b>	0,36	/	1,08	0,36	1,55	0,38	1,82	0,16
<b>A10 FM</b>	1,28	/	1,66	0,20	2,19	/	1,62	0,51

Flockungsmittelrestkonzentrationen in den Überständen der Flockungsversuche im Labormaßstab [mg/L].

## Wasser 0

FM	Versuch 1
1 mgAl/L	0,1
5 mgAl/L	0,15
10 mgAl/L	0,00
1 mgFe/L	0,03
5 mgFe/L	0,01
10 mgFe/L	0,01

## Wasser 1

FM	Versuch 1	Versuch 2	Versuch 3	Mittelwert	STABW
1 mgAl/L	0,21	0,1	0,15	0,15	0,06
5 mgAl/L	0,2	0,15	0,13	0,16	0,04
10 mgAl/L	0,12	0	0,1	0,07	0,06
1 mgFe/L	0,03	0,03	0,1	0,05	0,04
5 mgFe/L	0,03	0,01	0,2	0,08	0,10
10 mgFe/L	0,01	0,01	0,1	0,04	0,05

## Wasser 2

FM	Versuch 1	Versuch 2	Versuch 3	Mittelwert	STABW
1 mgAl/L	0,07	0,06	0,28	0,14	0,12
5 mgAl/L	0,06	0,05	0,09	0,07	0,02
10 mgAl/L	0,03	0,06	0,04	0,04	0,02
1 mgFe/L	1,12	0,52	0,42	0,69	0,38
5 mgFe/L	0	1,58	0	0,53	0,91
10 mgFe/L	0	0,01	0	0,00	0,01

## Wasser 3

FM	Versuch 1	Versuch 2	Versuch 3	Versuch 4	Mittelwert	STABW
1 mgAl/L	0,48	0,45	1,08	1,08	0,77	0,36
5 mgAl/L	0,31	0,23	0,01	0,01	0,14	0,15
10 mgAl/L	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,00
1 mgFe/L	0,04	0,03	0,14	0,14	0,09	0,06
5 mgFe/L	0,03	0,02	0,05	0,05	0,04	0,02
10 mgFe/L	0,02	0,05	0,06	0,06	0,05	0,02

## 8.8 Halbtechnische Versuche Flockung

Wasser 3: Nullversuch

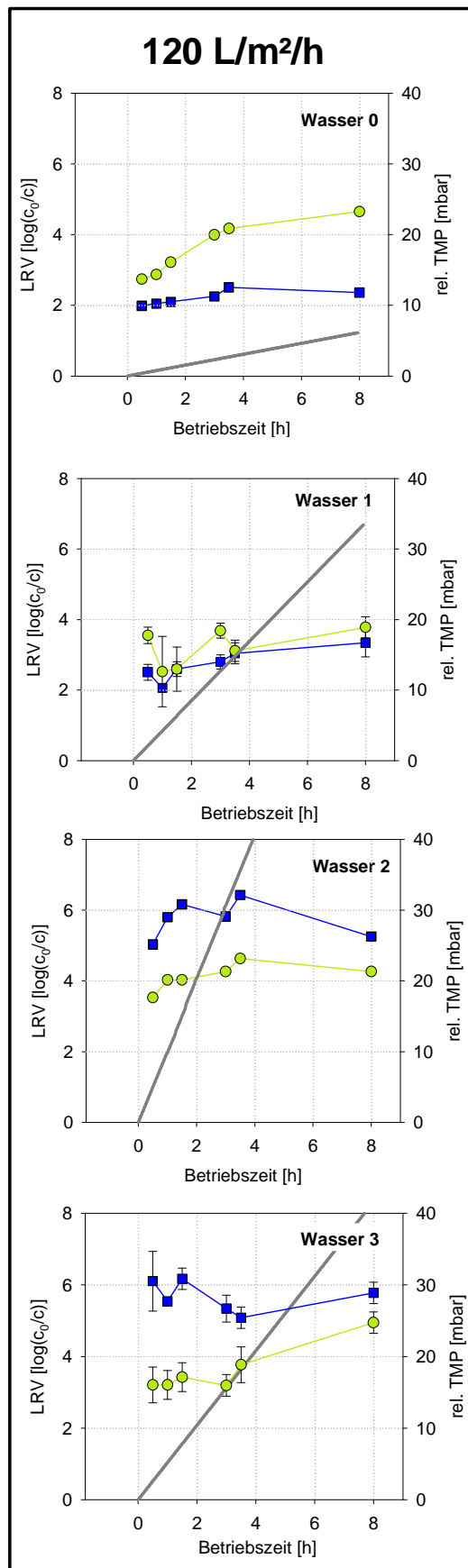
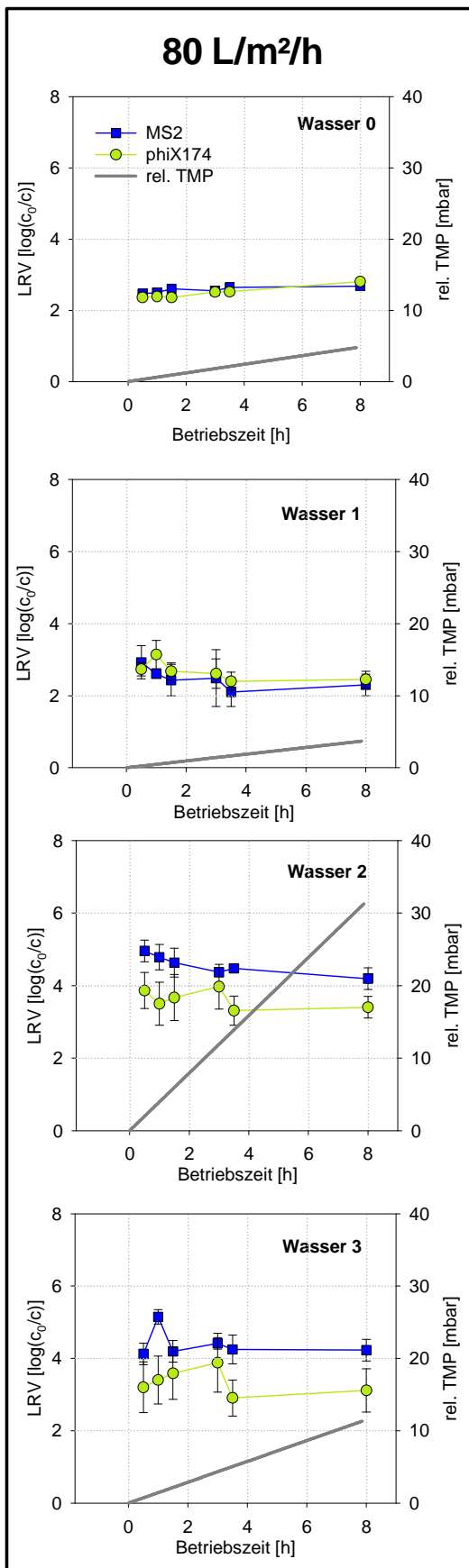
Phage	Probe	1. Versuch [PFU/mL]
MS2	Zudosierung	$4,5 \cdot 10^5$
	Ablauf Filter 75 min	$4,1 \cdot 10^5$
	Ablauf Filter 150 min	$4,0 \cdot 10^5$
	Ablauf Filter 165 min	$4,0 \cdot 10^5$
	Ablauf Filter 180 min	$4,1 \cdot 10^5$
phiX174	Zudosierung	$9,4 \cdot 10^4$
	Ablauf Filter 75 min	$1,1 \cdot 10^5$
	Ablauf Filter 150 min	$9,7 \cdot 10^4$
	Ablauf Filter 165 min	$8,6 \cdot 10^4$
	Ablauf Filter 180 min	$1,3 \cdot 10^5$

Wasser 3: Versuch an der halbtechnischen Anlage mit großtechnischen Flockungsbedingungen (1,3 mgAl/L  $\text{Al}(\text{SO}_4)_3$ , pH 6,7)

Phage	Probe	Konz. [PFU/mL]	Rückhalt [log- Stufen]	Verlust [log-Stufen]
MS2	Zudosierung	$4,5 \cdot 10^5$		
	Ablauf Filter 120 min	$5,5 \cdot 10^1$	3,6	
	Ablauf Filter 180 min	$4,1 \cdot 10^1$	3,7	
	Ablauf Filter 240 min	$6,4 \cdot 10^1$	3,5	
	Ablauf Filter 300 min	$5,0 \cdot 10^1$	3,7	
	Ablauf Filter 360 min	$1,4 \cdot 10^1$	4,2	
	Flockungssuspension 90 min	$3,8 \cdot 10^2$	2,8	3,1
phiX174	Zudosierung	$9,4 \cdot 10^4$		
	120 min	$1,2 \cdot 10^4$	0,6	
	180 min	$1,3 \cdot 10^4$	0,6	
	240 min	$1,4 \cdot 10^4$	0,5	
	300 min	$1,5 \cdot 10^4$	0,5	
	360 min	$1,4 \cdot 10^4$	0,5	
	90 min FM	$6,0 \cdot 10^4$	-0,1	0,2



8.9 Labortechnische Versuche Ultrafiltration



**8.10 Parameter der bei den Membranversuchen eingesetzten Wässer.**

Wasser	SAK-254 [1/m]	DOC [mg/L]	SAK-254/ DOC	Trübung [FNU]	Partikel >1 µm [1/mL]
0	4,1 ± 0,3	2,2 ± 0,3	1,9 ± 0,0	0,09 ± 0,01	500
1	0,8 ± 0,1	0,5 ± 0,1	1,3 ± 0,2	0,09 ± 0,03	500
2	6,9 ± 0,4	1,7 ± 0,3	4,1 ± 1,2	0,95 ± 0,25	3.000
3	7,0 ± 0,2	2,3 ± 0,1	3,1 ± 0,1	0,96 ± 0,06	5.000

**Veröffentlichungen**

Kreißel, K., Bösl, M., Hamsch, B.. Virenelimination durch Flockung und Filtration in Laborversuchen. *Forum Wasseraufbereitung, DVGW-Technisches Komitee „Wasseraufbereitungsverfahren“ (2010).*

Kreißel, K., Bösl, M., Lipp, P., Hamsch, B.. Removal or inactivation – Effect of flocculation parameters on bacteriophages. *Biospektrum, Sonderausgabe, Tagungsband zur VAAM-Jahrestagung 2011, Karlsruhe, 3.-6. April 2011, S.214 (2011).*

Kreißel, K., Bösl, M., Lipp, P., Franzreb, M., Hamsch, B.. Study on the removal efficiency of UF membranes using bacteriophages in bench- and semi-technical scale. *Conference book, 6th IWA specialist conference on membrane technology for water & wastewater treatment, 4-7 October 2011, Aachen, Germany, pp.205-206 (2011).*

Kreißel, K., Bösl, M., Lipp, P., Franzreb, M., Hamsch, B.. Study on the removal efficiency of UF membranes using bacteriophages in bench- and semi-technical scale. *Water Science and Technology, Bd. 66, 1195-1202 (2012).*