IWW RHEINISCH-WESTFÄLISCHES INSTITUT FÜR WASSER
BERATUNGS- UND ENTWICKLUNGSGESELLSCHAFT MBH
Institut an der Universität Duisburg-Essen · Mitglied im DVGW-Institutsverbund

IWW · Moritzstraße 26 · 45476 Mülheim an der Ruhr

DAT -
Dynamic AQUABION® Tower GmbH
Herrn Dr. Jürgen Scheen
Mörsenbroicher Weg 191
40470 Düsseldorf

Ihr Zeichen	Ihre Nachricht vom	Unser Zeichen	Telefon 0208 · 40303-0	Fax 0208 · 40303-80	Datum
		Schulte	-441	-84	21.01.2010

” Untersuchung des Einflusses des AQUABION® Aktivanodensystems und des Prinzips des DAT Aquainjects auf Biofilmbildung „ und “Einsatz des AQUABIOREAKTORs auf den Abbau organischer Substanzen in der Wasserphase ”

- Bericht zum Angebot 10275/2009/21100 -

Geschäftsführung:
Dr.-Ing. Wolf Merkel, Klaus-Dieter Neumann
Wissenschaftliches Direktorium:
Prof. Dr.-Ing. Rolf Gimbel (Sprecher), Prof. Dr. Hans-Curt Flemming
Prof. Helmut Schulte, Prof. Dr. Torsten C. Schmidt

Amtsgericht Duisburg HRB Nr. 15508
Sparkasse Mülheim an der Ruhr BLZ 362 500 00 Konto 300 031 250
Commerzbank AG Mülheim an der Ruhr BLZ 362 400 45 Konto 76 36 236
Internet: www.iww-online.de

Zusammenfassung

Die Firma DAT Dynamic Aquabion® Tower GmbH (DAT) setzt zur Härtestabilisation in Wassersystemen das AQUABION® -System ein. Das System basiert auf dem kathodischen Korrosionsschutz, wobei die Aktivanode aus reinem Zink besteht. Es wird von DAT postuliert, dass durch die Abgabe von Zink (Zinkionen) ins Wasser die Deckschichtbildung und damit auch die Biofilmbildung beeinflusst wird. Das Calcit wird in Aragonit umgebildet, welches eine geringere Tendenz zur Anhaftung an Oberflächen besitzt.

Um den Einfluss des AQUABION® Aktivanodensystems zu überprüfen, wurden zwei Drehkolbenreaktoren eingesetzt, die im geschlossenen Kreislaufverfahren anlehnend an Praxisbedingungen in ausgewählten Kühlkreislaufsystemen am IWW betrieben wurden. In den Kreislauf des einen Reaktors wurde das AQUABION® -System implementiert, der zweite Reaktor diente als Kontrolle. In der Wasserphase des Reaktorsystems mit AQUABION® wurden die Zink-Konzentrationen gemessen. Sie zeigten, dass das Aktivanodensystem über den gesamten Versuchszeitraum Zink (Zinkionen) freisetzte. Bei der Charakterisierung des Biofilms wurde festgestellt, dass es nach vier Wochen zu einer Akkumulation von Zink im Biofilm aus dem AQUABION® System gekommen war.

Die Wirkung des AQUABION® beeinflusste hauptsächlich die Biofilmbildung, weniger die Bakterienkonzentration in der Wasserphase. Es konnte gezeigt werden, dass

- der Schlauch, der in dem System mit AQUABION® eingebaut war, nach 5 Wochen Versuchsdauer sichtbar weniger belegt war als der Schlauch aus dem Kontrollsystem. Außerdem war deutlich, dass der Belag im Schlauch des Kontrollsystems gelblich-bräunlich gefärbt, während der Biofilm im AQUABION® weißlich gefärbt war. Das macht deutlich, dass der Biofilm in beiden Systemen nicht nur unterschiedlich in der Biofilmdicke, sondern auch in der Zusammensetzung ist,
- in den ersten zwei Versuchswochen in beiden Versuchssystemen kurze Stäbchen dominierten, die homogen auf der Couponoberfläche adhäriert waren. Ab der dritten Versuchswoche bildeten sich bakterielle Aggregate und das Auftreten von Protozoen konnte nachgewiesen werden. Ein wesentlicher Unterschied war dann die Anwesenheit von fädigen Bakterien nur im Kontrollsystem. Durch die Vernetzung von fädigen Bakterien besitzen Biofilme, die diese enthalten, in der Regel eine höhere Stabilität,

- die Kultivierbarkeit der Kühlwasserbakterien im AQUABION® -System um mindestens den Faktor 10 (nach einer Woche Versuchsdauer sogar um den Faktor 1000) niedriger war,
- die Anzahl kultivierbarer *Legionella* spec. im AQUABION® -System um mindestens den Faktor 10, nach 2 Wochen und 5 Wochen Versuchsdauer sogar um den Faktor 1000 niedriger war als im Referenzsystem ohne AQUABION®,
- eine Verringerung der Kultivierbarkeit der Biofilmbakterien durch Zink(ionen) gegeben war. Diese Verringerung konnte auch in der Wasserphase für die Kultivierbarkeit von *Legionella* spec. gezeigt werden.

Beim Betrieb der beiden Reaktorsysteme fiel auf, dass in dem Ansatz mit dem AQUABION® sich mehr Flocken sedimentierten als im Kontrollreaktor. Die chemische Untersuchung des Präzipitates zeigte, dass die Flocken aus beiden Versuchssystemen sehr ähnlich zusammengesetzt waren. Die Kalziumkonzentrationen waren mit 56,6 und 56,7 mg/l gleich hoch. Ein großer Unterschied lag nur in der Konzentration von Zink im Präzipitat: Während Zink im Präzipitat aus dem Kontrollreaktor nicht nachweisbar war, enthielten die Flocken aus dem AQUABION® 14 mg/l Zink.

Im Anschluss an die Untersuchungen mit AQUABION® wurden im Kontrollreaktor der mikrobiozide Effekt nach Zugabe von Iod und Zink nach dem DAT-Prinzip des Aquainjects auf ausgebildete Biofilme überprüft. Es konnte gezeigt werden, dass

- in der Wasserphase die Behandlung eine Erhöhung der Gesamtzellzahl (Erfassung aller Bakterien: lebende und tote), jedoch eine deutliche Verringerung der Gesamtkoloniezahl (Erfassung nur der vermehrungsfähigen, kultivierbaren Bakterien) bewirkte. Legionellen waren schon nach 2 Tagen Behandlung nicht mehr kulturell nachweisbar.
- die Behandlung nur zu einer geringen Ablösung des Biofilms führte.
- die Kultivierbarkeit im Biofilm deutlich weniger abnahm als in der Wasserphase. Kühlwasserbakterien und Legionellen konnten im Biofilm auch nach einer Woche Behandlung kulturell noch nachgewiesen werden.

In einem separaten Versuchsaufbau wurde der Abbau organischer Stoffe durch den AQUABIOREAKTOR untersucht. Durch die im Reaktor etablierte Biomasse sollen Nährstoffe lokal abgebaut und dadurch die organische Fracht im Kühlwasser verringert werden. Es konnte gezeigt werden, dass

- der Einsatz des AQUABIOREAKTORs zu einem Abbau der organischen Substanzen in der Wasserphase führt.
- sich die Versuchsergebnisse sowohl in der Bestimmung des CSB-Gehaltes als auch in der Bestimmung des DOC-Gehaltes widerspiegeln.
- für den schnellen Abbau von organischer Substanz eine Zufuhr von Sauerstoff günstig ist.
- geringere Konzentrationen von Saccharose effektiver (innerhalb kürzerer Zeit) abgebaut werden als höhere Konzentrationen.
- bei dem Einsatz von 27 g Saccharose das AQUABION®-System den Abbau der organischen Substanz um etwa 2 Tage verzögert. Das könnte einen Hinweis darauf liefern, dass die durch den AQUABION® eingebrachten Zinkionen die Biomasse zunächst in ihrer Stoffwechselaktivität hemmt, nach 2 Tagen jedoch eine Adaptation der Bakterien an die erhöhte Zinkkonzentration erfolgt ist.
- es unter diesen Versuchsbedingungen nicht zu einer Verringerung der Gesamtkoloniezahl kam. Das liegt wahrscheinlich daran, dass die Koloniezahlen im Wasser aufgrund des großen Oberflächen zu Volumen-Verhältnisses die Biofilmbildung im Reaktor widerspiegeln.

Ausblick

Die durchgeführten Untersuchungen zeigten deutlich, dass der Einsatz des AQUABION® die Biofilmbildung im Untersuchungszeitraum verzögerte im Vergleich zum Kontrollreaktor. Die Versuche konnten im gewählten Versuchszeitraum nicht zeigen, ob dieser Einfluss nur im Bereich der ersten Wochen auftritt und sich danach nivelliert oder auch über einen längeren Zeitraum von Monaten aufrechterhalten werden kann. Deshalb sind weiterführende Untersuchungen über den Einfluss des AQUABION® Aktivanodensystem über einen längeren Zeitraum sinnvoll.

Besonders die Kultivierbarkeit von *Legionella* spec. war in dem Versuchssystem mit AQUABION® sowohl im Biofilm als auch in der wässrigen Phase deutlich geringer. Über den möglichen physiologischen Zustand der nicht kultivierbaren Bakterien kann die FISH-Gensondentechnik Aussagen liefern. Diese molekularbiologische Methode erfasst nur stoffwechselaktive Bakterien, die aber nicht unbedingt vermehrungsfähig sein müssen. Inwiefern sich Legionellen, die mit dem AQUABION® behandelt werden, in einem stoffwechselaktiven, jedoch nicht kultivierbaren Zustand befinden können, wird Inhalt weiterer Forschungsarbeiten sein.

Die Ergebnisse zur Überprüfung des AQUABIOREAKTORs zeigten, dass die Versuchsbedingungen nicht optimal gewählt waren. Um z. B. zu überprüfen, ob der Einsatz des AQUABIOREAKTORs zu einer Verringerung der Koloniezahlen in der Wasserphase führt, müsste der Versuch mit einem größeren Wasservolumen wiederholt werden.

Wir bedanken uns für den Auftrag und die konstruktive Zusammenarbeit. Falls noch offene Fragen auftreten sollten, stehen wir Ihnen jederzeit gern zur Verfügung.

IWW Rheinisch-Westfälisches Institut für Wasser
Beratungs- und Entwicklungsgesellschaft mbH
i.V.

Dr. W. Merkel Dr. G. Schaule

Bearbeitung bei IWW:

Wissenschaftlicher Direktor:	Prof. Dr. H.-C. Flemming
Projektleiter:	Dr. S. Schulte
Sachbearbeiter:	D. Moschnitschka

Ansprechpartner des Auftraggebers: Dr. J. Scheen

Inhaltsverzeichnis

1	**Einleitung und Hintergrund**	**1**
2	**Versuchsaufbau, Material und Methoden**	**2**
2.1	Einfluss des AQUABION® auf Biofilme	2
2.2	Einfluss des Prinzips des DAT Aquainjects auf Biofilme	2
2.3	Einfluss des AQUABIOREAKTORs auf die Konzentration an organischen Stoffen in der Wasserphase	5
3	**Ergebnisse und Diskussion**	**7**
3.1	Einfluss des AQUABION® auf Biofilme	7
3.1.1	Chemische und physikalische Wasserparameter	7
3.1.2	Zink im Biofilm	8
3.1.3	Mikrobiologische Wasseranalysen	8
3.1.4	Mikrobiologische Biofilmanalysen	10
3.1.5	Oberflächen	11
3.1.5.1	Makroskopische Betrachtung der Schlauchoberflächen	11
3.1.5.2	Direkte Betrachtung der Couponoberflächen	12
3.1.6	Chemische Untersuchung von Präzipitaten der Kreislaufsysteme	14
3.2	Überprüfung des mikrobioziden Effekts nach Zugabe von Iod und Zink nach dem DAT Prinzip des Aquainjects auf ausgebildete Biofilme	17
3.3	Einfluss des AQUABIOREAKTORs auf den Abbau organischer Substanzen in der Wasserphase	19

1 Einleitung und Hintergrund

Die mikrobiologische und chemische Beschaffenheit von Kühl- bzw. Prozesswasser hat einen wesentlichen Einfluss auf die Betriebssicherheit der Anlage. So führt z. B. eine übermäßige Ablagerung von Kalk in Verdunstungskühlgeräten zu einer Verminderung der Kühleffektivität. Starke Kalkablagerungen sowie die Entstehung von Korrosionsprodukten können weiterhin die Ansiedlung und Vermehrung von Mikroorganismen auf den Oberflächen begünstigen. Die massive Bildung von Biofilmen auf Oberflächen, z. B. von Wärmetauschern, kann zum einen Störungen im Betrieb der Anlage hervorrufen, zum anderen können sich in den Biofilmen hygienisch relevante Mikroorganismen vermehren. Dazu gehören die Legionellen, welche durch Inhalation von lungengängigen Aerosolen auf den Menschen übertragen werden. In den Biofilmen vieler Wassersysteme finden diese Bakterien einen Lebensraum, von dem aus sie das Wasser kontaminieren und dann an Stellen mit Aerosolbildung in die Umgebung gelangen. Legionellenhaltige, luftgetragene Aerosole können ernste Gesundheitsschäden verursachen. In den letzten Jahren sind aus einigen Ländern spektakuläre Krankheitsausbrüche durch Legionellen in Aerosolen aus Industriekühltürmen als Infektionsquellen mit schweren Erkrankungen und Todesfällen in der Bevölkerung berichtet worden.

Die Firma DAT Dynamic Aquabion® Tower GmbH setzt zur Härtestabilisation in Wassersystemen das AQUABION® Aktivanodensystem ein. Das System basiert auf dem kathodischen Korrosionsschutz, wobei die patentierte Aktivanode aus hoch reinem Zink besteht. Es wird von DAT postuliert, dass durch die Abgabe von Zink (Zinkionen) ins Kreislaufwasser die Deckschichtbildung und damit auch die Biofilmbildung beeinflusst wird. Das Calcit wird in Aragonit umgebildet, welches eine geringere Tendenz zur Anhaftung an Oberflächen besitzt.

Die Firma DAT plant in einigen Kühlwassersystemen den AQUABIOREAKTOR einzusetzen, um organische Stoffe durch die im Reaktor etablierte Biomasse lokal abzubauen und dadurch die organische Fracht im Kühlwasser zu verringern.

Vor diesem Hintergrund beauftragte die DAT Dynamic Aquabion® Tower GmbH das IWW Rheinisch-Westfälisches Institut für Wasser - Beratungs- und Entwicklungsgesellschaft mbH mit Schreiben vom 10.09.2009, in einer Studie den Einfluss mehrerer Produkte auf Biofilme zu untersuchen. In einem weiteren Versuch sollte im Labormaßstab anlehnend an Praxisbedingungen überprüft werden, wie effektiv der AQUABIOREAKTOR die organische Fracht im Kühlwasser verringern kann.

2 Versuchsaufbau, Material und Methoden

2.1 Einfluss des AQUABION® auf Biofilme

Zur Überprüfung des Einflusses des AQUABION® auf Biofilme und insbesondere auf Bakterien der Art *Legionella pneumophila* wurden Drehkolbenreaktoren eingesetzt (Abbildung 1).

Die Biofilmreaktoren wurden in Anlehnung an Praxisbedingungen in Kühlwassersystemen

- im Kreislauf (Volumen 5 l)
- bei 30°C
- mit einer Nährstoffkonzentration zwischen 2 und 5 mg/l, zugegeben als CASO-Lösung und gemessen als gelöster organischer Kohlenstoff (DOC),
- einer Salzkonzentration von ca. 700 µS/cm gemessen als Leitfähigkeit und
- mit einem pH-Wert von ca. 8 betrieben.

Die dafür benötigten zwei Reaktoren (Kontrollreaktor ohne AQUABION® und Reaktor für den kontinuierlichen Einsatz des AQUABION®) wurden fünf Wochen betrieben, um den Einfluss des Systems beurteilen zu können. Der Anschluss der AQUABION® Technik an den Versuchsreaktor wurde in Zusammenarbeit mit dem Auftraggeber vorgenommen.

Das Wasser beider Versuchssysteme wurde mit einer Mischkultur von Bakterien, die aus einem realen Kühlwassersystem stammte, in einer Konzentration von 10^6 Bakterien/ml angeimpft. Zusätzlich wurden Bakterien der Art *Legionella pneumophila* in einer Konzentration von 10^2 Bakterien/ml zugegeben.

2.2 Einfluss des Prinzips des DAT Aquainjects auf Biofilme

Nach dem fünfwöchigen Versuch wurden die Biofilme im Kontrollreaktor mit einer kontinuierlichen Dosierung einer Kombination von Zink und Iod nach dem Prinzip des DAT Aquainjects über den Zeitraum von einer Woche betrieben. Dazu wurde in zwei in Reihe in den Zulauf geschaltete Behälter 27 g Zink bzw. 27 g Iod gefüllt.

In den Drehkolbenreaktoren befanden sich entnehmbare Testoberflächen (Coupons), die einen integralen Bestandteil der Außenzylinderwand bildeten. So konnte die mikrobielle Besiedlung von Rohr- oder Wärmetauscheroberflächen simuliert werden. Weitergehende mikroskopische, mikrobiologische und chemische Untersuchungen erfolgten auf den Coupons. Damit konnte eine getrennte Beurteilung der Wirkung des eingesetzten Verfahrens hinsichtlich Biofilmablösung und/oder –abtötung erfolgen.

Diese Differenzierung war auch für die Beurteilung der Wirksamkeit des AQUABION® gegenüber Biofilmbakterien, insbesondere *Legionella pneumophila,* von großer Bedeutung.
Zur Beurteilung des Einflusses des AQUABION® Aktivanodensystems wurden die Biofilme auf den Oberflächen und die wässrige Phase im Reaktor wöchentlich zeitgleich auf folgende Parameter untersucht:

Wasserphase (im Zulauf des Reaktors):

- Leitfähigkeit
- Temperatur
- pH-Wert
- DOC-Gehalt (gelöster organischer Kohlenstoff)
- Zinkkonzentration
- Gesamtzellzahl
  (Erfassung aller Bakterien - lebende und tote - durch Abfärbung der bakteriellen DNA mit dem Fluoreszenzfarbstoff 4′,6-Diamidino-2-phenylindol (DAPI))
- Gesamtkoloniezahl
  (Erfassung der vermehrungsfähigen Bakterien, die sich auf R2A-Agar bei 20°C und einer Inkubationszeit von 7 Tagen kultivieren lassen)
- *Legionella* spec.
  (Erfassung der vermehrungsfähigen *Legionella* species, die sich nach Hitzebehandlung für 30 min bei 50 °C; Bebrütung auf GVPC-Agar bei 36°C und einer Inkubationszeit von 10 Tagen kultivieren lassen. Verdächtige Kolonien wurden als Subkultur auf BCYE-Agar und NB-Agar angelegt)

Biofilm (auf den Testcoupons):

- Zinkkonzentration
- Gesamtzellzahl
- Gesamtkoloniezahl
- Legionella spec.
- Charakterisierung der Biofilmstrukturen mittels Fluoreszenzmikroskopie nach Anfärbung mit DAPI

Die Testcoupons besitzen eine Fläche von je 33 cm².

Innenzylinder mit entnehmbaren Coupons

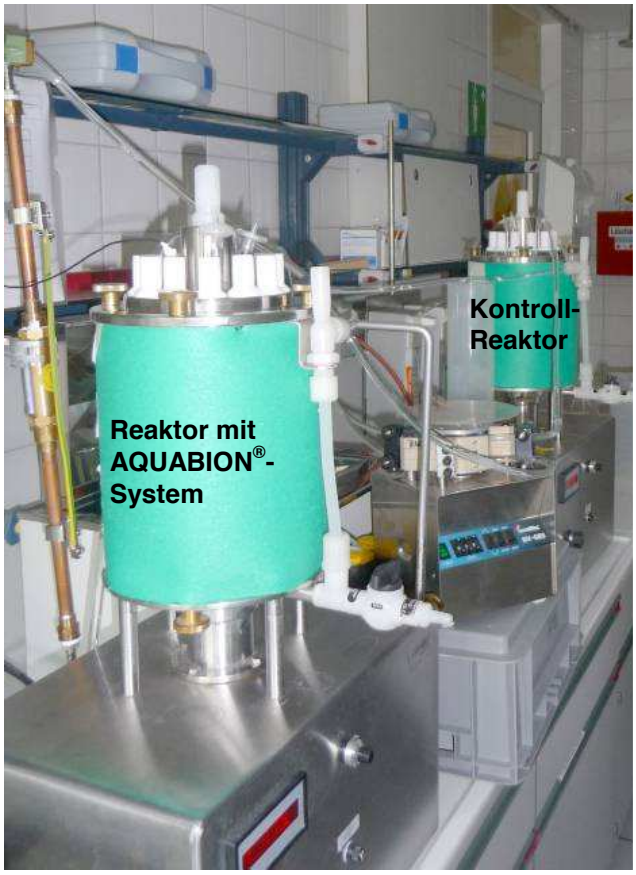


Abbildung 1: Versuchsaufbau, wärmeisolierte Drehkolbenreaktoren mit und ohne AQUABION®

2.3 Einfluss des AQUABIOREAKTORs auf die Konzentration an organischen Stoffen in der Wasserphase

Der von DAT zur Verfügung gestellte AQUABIOREAKTOR war aufgebaut aus 4 PE-Rohren, die jeweils 50 cm lang waren und einen Durchmesser von 90 mm besaßen. Auf darin enthaltenen Trägerkörpern befand sich ein bereits vorher von DAT angezüchteter Biofilm. 80 l Trinkwasser wurden bei Raumtemperatur (ca. 21 °C) mit einer Pumpenleistung von 1 m³/Stunde im Kreis geführt. Der pH-Wert wurde mithilfe einer automatischen Dosiereinheit auf 7 eingestellt. Um grobe Flocken aus dem System zurückzuhalten wurde in den Kreislauf ein Partikelfilter mit einer Porengröße von 100 μm eingebaut.

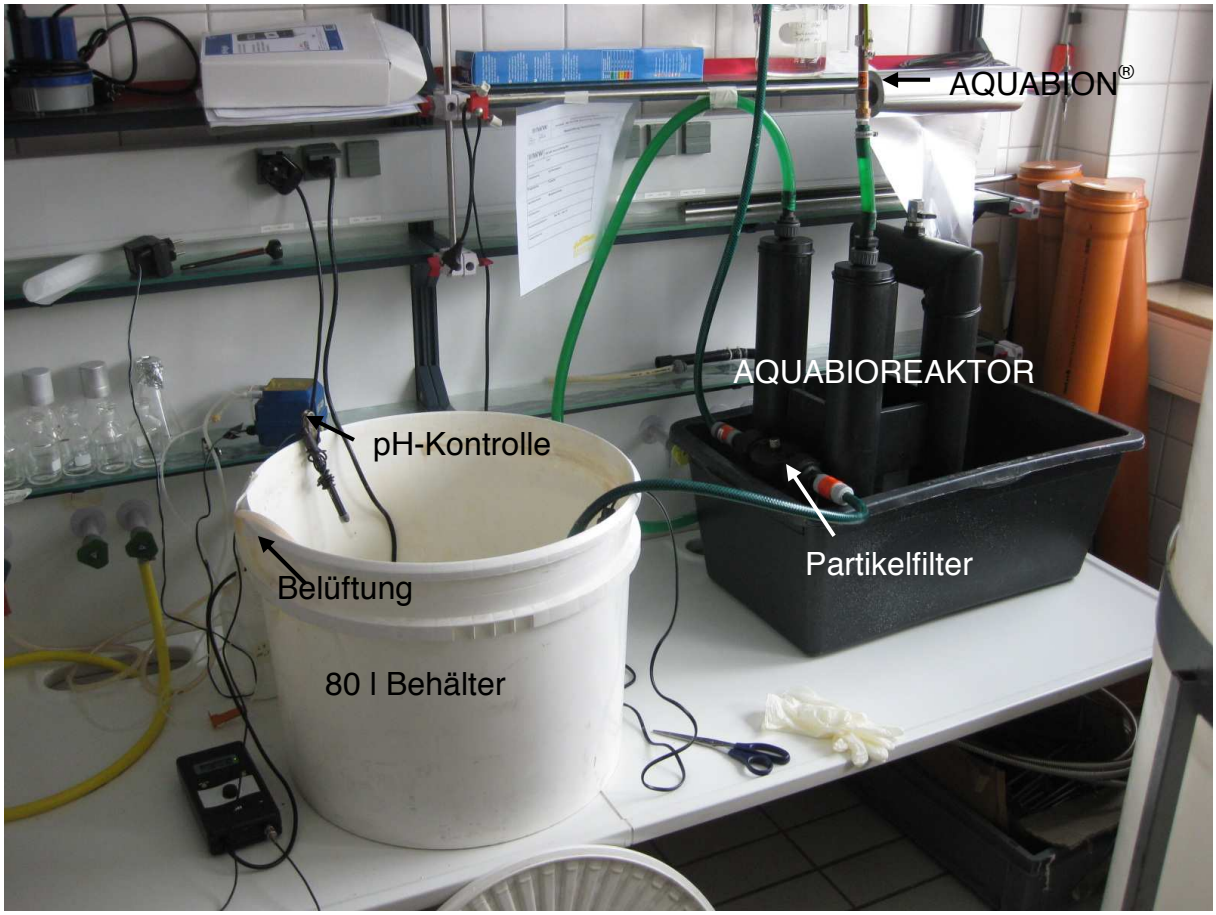


Abbildung 2: Versuchsaufbau AQUABIOREAKTOR mit AQUABION®

In verschiedenen Versuchsansätzen wurden entweder CASO-Bouillon als Vollmedium mit Kohlenstoff (C), Stickstoff (N) und Phosphor (P) oder Saccharose als alleinige Kohlenstoffquelle in unterschiedlichen Konzentrationen eingesetzt. In einigen Versuchsansätzen wurde das Wasser belüftet und in einigen Versuchsansätzen zusätzlich noch mit dem AQUABION® behandelt. Die verschiedenen Versuchsansätze sind in Tabelle 1 aufgeführt. Vor jedem Neustart wurde der Partikelfilter gereinigt und das Wasser auch aus dem Reaktor komplett entfernt. Danach wurde der Reaktor mit Trinkwasser gespült und anschließend mit dem Medium mit dem gewünschten Nährstoffgehalt gefüllt.

Tabelle 1: Auflistung der Versuchsansätze mit dem AQUABIOREAKTOR

Versuch-Nr.	Kohlenstoff-quelle	Konzentration	Sauerstoff-zufuhr	AQUABION®
1	Caso-Medium	1,25 l	nein	nein
2	Saccharose	19 g	nein	nein
3	Saccharose	19 g	ja	nein
4	Saccharose	27 g	ja	nein
5	Saccharose	27 g	ja	ja
6	Saccharose	27 g	ja	ja
7	Caso-Medium	1,25 l	ja	ja

Zur Überprüfung der Verringerung des Kohlenstoffgehaltes im Wasser wurden der chemische Sauerstoffbedarf (CSB) und der gelöste organische Kohlenstoff (DOC) analysiert. Zusätzlich wurden die Gesamtkoloniezahlen in den Wasserproben bestimmt, um zu überprüfen, ob die Bakterien auf dem Füllmaterial des Biofilmreaktors immobilisiert und somit aus der Wasserphase entfern werden.

3 Ergebnisse und Diskussion

3.1 Einfluss des AQUABION® auf Biofilme

3.1.1 Chemische und physikalische Wasserparameter

Während des gesamten Versuchszeitraums wurden die Parameter pH-Wert, DOC-Gehalt, Zinkkonzentration, Temperatur und Leitfähigkeit gemessen, um zum einen für ein Kühlwasser typische Konzentrationen einzustellen und zum anderen über die Bestimmung der Zinkkonzentration die Funktion des AQUABION® Systems zu kontrollieren.

Der pH – Wert war mit Werten zwischen 7,45 und 8,62 relativ konstant (Tabelle 2).

Der DOC-Gehalt war zu Beginn des Versuchs mit 1,6 bzw. 1,7 mg/l gering, wurde dann aber auf Werte über 3 mg/l eingestellt. Zu dem Probenahmezeitpunkt nach 5 Wochen lag die DOC-Konzentration mit 2,5 bzw. 2,6 mg/l wieder etwas unter 3 mg/l (Tabelle 2).

Die Temperatur spiegelt mit Werten zwischen 26°C und 32°C Warmwasser Bedingungen zuverlässig wider (Tabelle 2).

Die Leitfähigkeit war mit Werten um die 700 µS/cm ebenfalls konstant (Tabelle 2). Ausnahme stellt hier ein Wert nach 3 Wochen Versuchsdauer in dem Reaktor mit AQUABION® dar.

Tabelle 2: Zusammenfassung der chemischen und physikalischen Wasserparameter über den Versuchszeitraum (K = Kontrolle, AB = AQUABION® System)

Versuchs-dauer	3 Stunden		1 Woche		2 Wochen		3 Wochen		4 Wochen		5 Wochen	
Reaktor	**K**	**mit AB**	**K**	**mit AB**	**K**	**mit AB**	**K**	**mit AB**	**K**	**mit AB**	**K**	**mit AB**
pH	8,08	8,14	8,14	7,45	8,36	8,18	7,74	8,03	8,08	8,47	8,62	8,28
DOC (mg/l)	1,6	1,7	3,5	4,5	3,8	3,4	3,4	3,4	2,9	3,2	2,5	2,6
Zn (mg/l)	0,037	0,725	< 0,01	11	0,024	26	0,019	4,6	0,014	0,56	< 0,01	0,93
T (°C)	26,4	27,1	30,8	30,6	31	30,1	31,5	30,5	27,2	26	31	31
LF (µs/cm)	674	655	707	732	762	696	679	900	631	621	702	686

Bei den analysierten chemischen und physikalischen Wasserparametern konnten keine Unterschiede zwischen den beiden untersuchten Systemen mit und ohne AQUABION® festgestellt werden. Eine Ausnahme bildet hier der Parameter Zink, der im Kontrollreaktor immer nahe an der Nachweisgrenze von 0,01 mg/l lag und im Reaktorsystem mit AQUABION® Werte bis zu 26 mg/l erreichte. Dieser Wert wurde

nach 2 Wochen Laufzeit erreicht. Danach wurden in beiden Reaktorsystemen 2 der 5 l Volumen durch Trinkwasser mit Zugabe von Nährstoffen ersetzt. Danach wurden nach jeder Probenahme wöchentlich 2 Liter des Versuchsvolumens ausgetauscht. Die erhöhten Zink-Konzentrationen in der Wasserphase des Reaktorsystems mit AQUABION® zeigen, dass das Aktivanodensystem über den gesamten Versuchszeitraum funktionierte und die Zinkkonzentration der einzige Unterschied in den beiden Versuchssystemen darstellte.

3.1.2 Zink im Biofilm

Die Konzentration an Zink in allen untersuchten Biofilmen zeigte, dass bis zum Zeitpunkt von 3 Wochen Versuchsdauer die Zinkkonzentrationen nahe der Nachweisgrenze lagen. Bei der Beprobung des Biofilms nach vier Wochen wurde festgestellt, dass es zu einer Akkumulation von Zink im Biofilm aus dem AQUABION® System gekommen war. Dies könnte auf die hohe Zinkkonzentration im Wasser zum Probenahmezeitpunkt von zwei Wochen zurückgeführt werden. Die Zinkkonzentration im Biofilm (pro 10^6 Biofilmbakterien), der mit dem AQUABION® System behandelt wurde, war nach 4 bzw. 5 Wochen Versuchsdauer um 1-2 Größenordnungen höher als der im Kontrollsystem (Tabelle 3)

Tabelle 3: Konzentration von Zink im Biofilm über den Versuchszeitraum

	Zink (mg/10^6 Biofilmbakterien)	
Versuchsdauer	Kontrolle	mit AQUABION® System
3 Stunden	$3{,}57 \times 10^{-8}$	$3{,}17 \times 10^{-8}$
1 Woche	$< 6{,}95 \times 10^{-9}$	$1{,}93 \times 10^{-7}$
2 Wochen	$< 8{,}72 \times 10^{-9}$	$< 3{,}11 \times 10^{-8}$
3 Wochen	$< 2{,}40 \times 10^{-8}$	$< 2{,}30 \times 10^{-8}$
4 Wochen	$7{,}08 \times 10^{-6}$	$2{,}89 \times 10^{-4}$
5 Wochen	$2{,}88 \times 10^{-5}$	$5{,}12 \times 10^{-4}$

3.1.3 Mikrobiologische Wasseranalysen

Im Wasser wurden zu Versuchsbeginn Gesamtzellzahlen von 2×10^6 Bakterien/ml gemessen, was in einem für Kühlwasser typischen Bereich liegt. Bis zu drei Wochen Versuchszeit ist kein deutlicher Trend, ob die Zellzahlen im AQUABION® System

oder im Kontrollsystem höher waren, zu erkennen. Das zeigt, dass Zink keine toxische Wirkung auf die Kühlwasserbakterien besitzt. Ab der fünften Woche jedoch stieg die Bakterienkonzentration im AQUABION® -System auf Werte von 5 x 10^6 Bakterien/ml, während die Bakterienkonzentration im Wasser des Kontrollsystems nur bei etwa 4 x 10^5 Bakterien/ml lag. Das könnte einen Hinweis darauf liefern, dass im AQUABION® weniger Biomasse auf den Oberflächen adhäriert war, aber sich dafür mehr in der Wasserphase befand.

Dieser Trend spiegelte sich ansatzweise in den Ergebnissen zur Gesamtkoloniezahlbestimmung wider (Abbildung 3).

Die Legionellenkonzentration zeigte diesen Verlauf nicht. Zu allen fünf Probenahmezeitpunkten lagen die Konzentrationen im AQUABION® -System immer deutlich unter denen im Kontrollsystem.

⇨ Das liefert einen Hinweis darauf, dass der AQUABION® die Kultivierbarkeit von Legionellen im Wasser verschlechtert, was ursächlich mit der Konzentration von Zinkionen in der Wasserphase zusammenhängen muss.

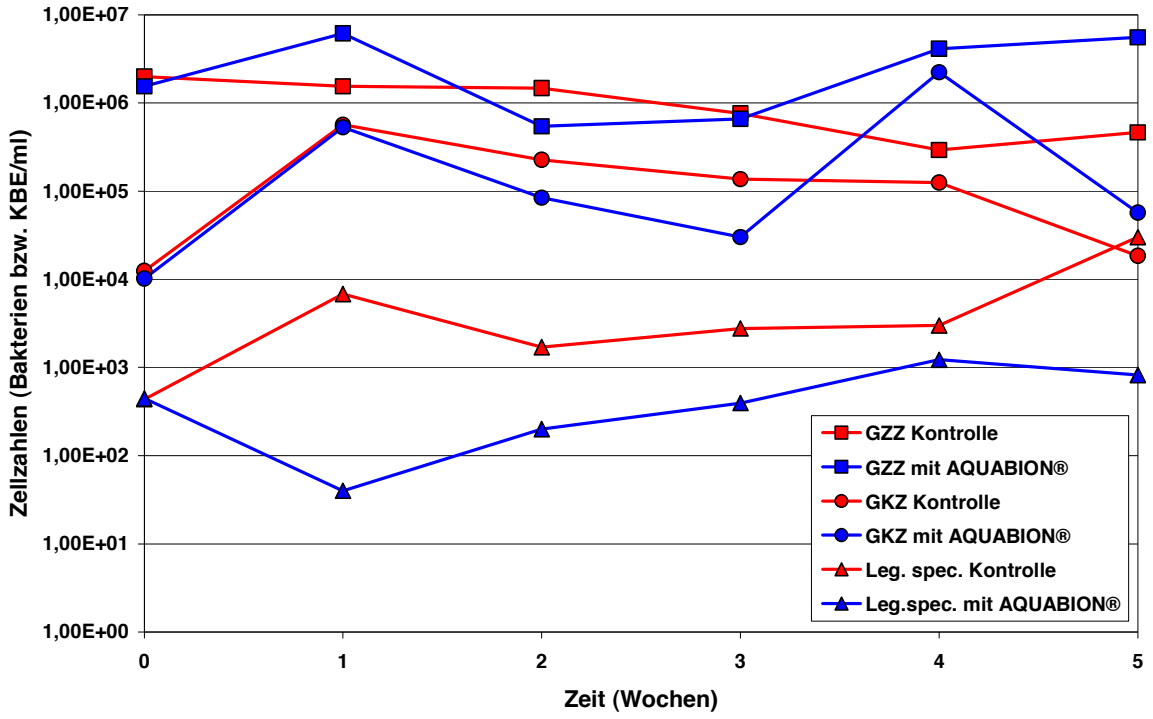


Abbildung 3: Zusammenfassung aller im Wasser bestimmten mikrobiologischen Parameter (GZZ = Gesamtzellzahl, GKZ = Gesamtkoloniezahl, Leg. spec. = *Legionella* species)

3.1.4 Mikrobiologische Biofilmanalysen

Im Biofilm beider Versuchssysteme wurden zu Versuchsbeginn Gesamtzellzahlen von etwa 3 x 10^6 Bakterien/cm² gemessen (Abbildung 4). Bis zu drei Wochen Versuchszeit war deutlich zu erkennen, dass die Zellzahlen im Biofilm des AQUABION® Aktivanodensystems niedriger waren als im Kontrollsystem. Ab der vierten Woche jedoch näherten sich die Konzentrationen der Gesamtzellzahlen an.

Die Ergebnisse der Gesamtkoloniezahlbestimmung im Biofilm zeigten jedoch deutlich, dass die Kultivierbarkeit im AQUABION® System um mindestens den Faktor 10 (nach einer Woche Versuchsdauer sogar um den Faktor 1000) niedriger war (Abbildung 4).

Auch bei der Bestimmung der Legionellenkonzentration im Biofilm konnte gezeigt werden, dass die Anzahl kultivierbarer Bakterien im AQUABION® System um mindestens den Faktor 10, nach 2 Wochen bzw. 5 Wochen Versuchsdauer sogar um den Faktor 1000 niedriger war. Eine Ausnahme bilden hier die Legionellenkonzentrationen, die nach 4 Wochen Versuchsdauer bestimmt wurden. Allerdings ist hier aber zu berücksichtigen, dass die Legionellenkonzentrationen in beiden Systemen so hoch waren, dass die ausgewählten Verdünnungen nicht geeignet waren und davon auszugehen ist, dass das Legionellenwachstum auf den Agarplatten gehemmt war, was zu einem Minderbefund führte.

⇨ Bei der kritischen Betrachtung der Ergebnisse zur Kultivierbarkeit der Biofilmbakterien, fällt schon wie in der Wasserphase auf, dass im AQUABION® System die Kultivierbarkeit der nativen Kühlwasserbakterien und der Legionellen deutlich verringert ist. Die ist ebenfalls ursächlich nur mit der Wirkung der Zinkionen, die durch das AQUABION®-System freigesetzt wurden, zu erklären.

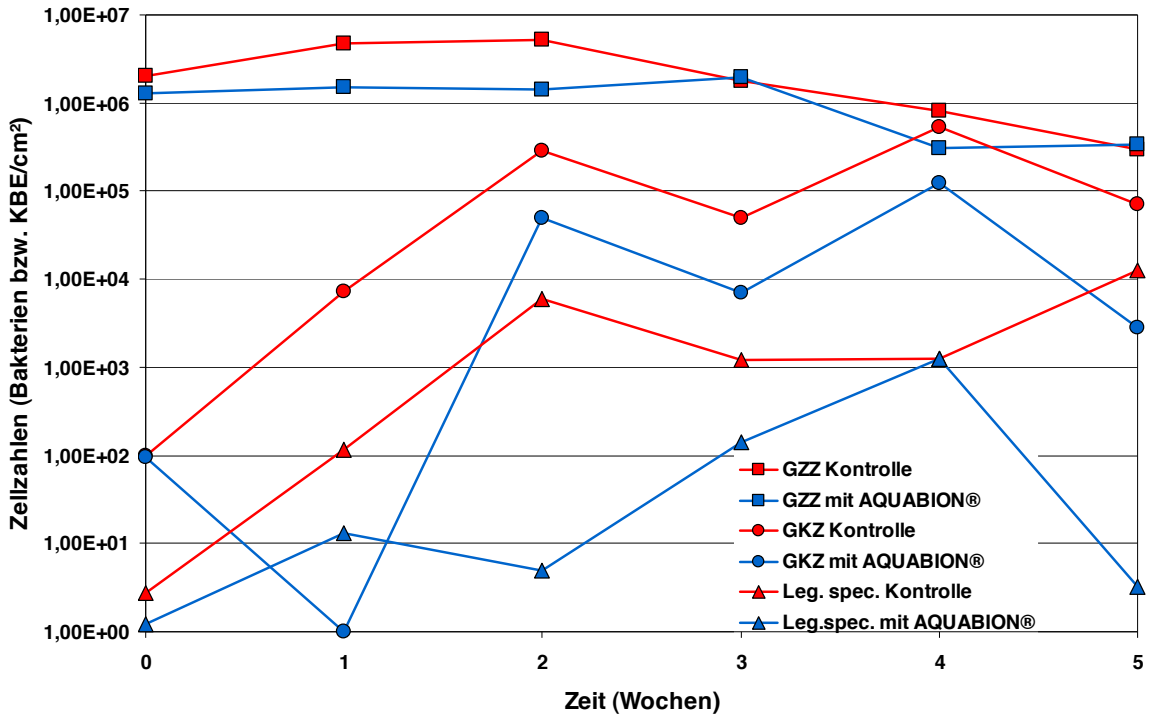


Abbildung 4: Zusammenfassung aller im Biofilm bestimmten mikrobiologischen Parameter (GZZ = Gesamtzellzahl, GKZ = Gesamtkoloniezahl, Leg. spec. = Legionella species)

3.1.5 Oberflächen

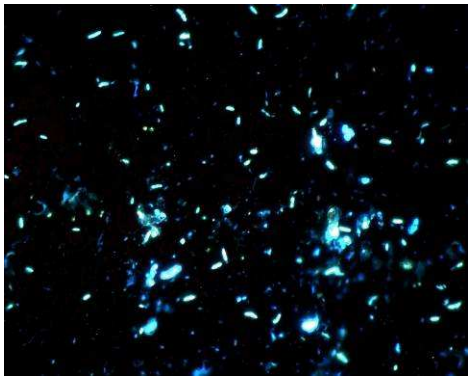
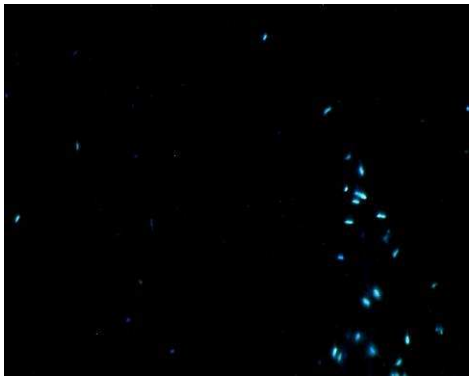
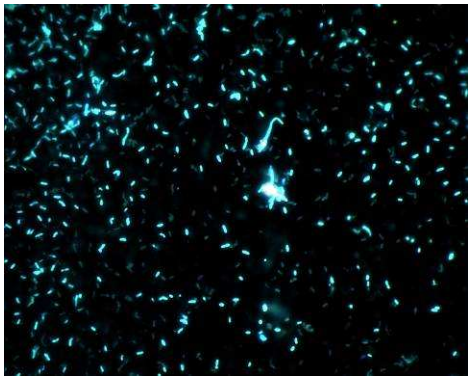
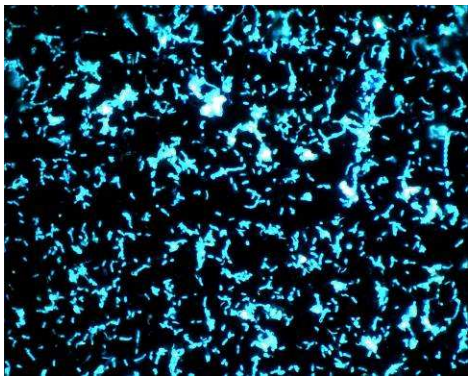
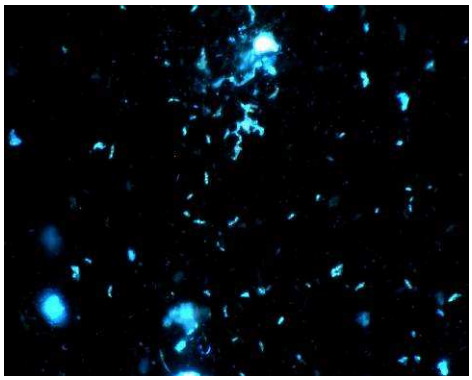
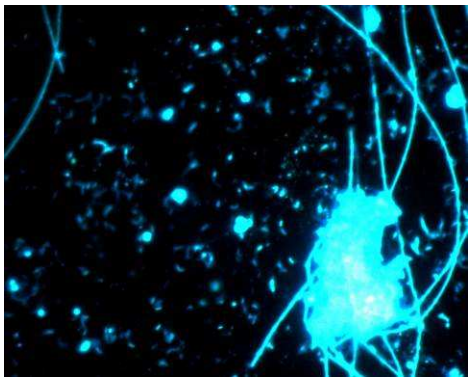
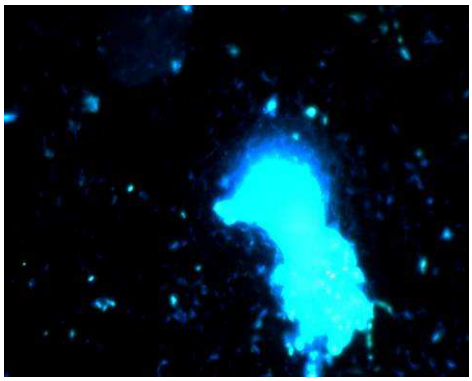
3.1.5.1 Makroskopische Betrachtung der Schlauchoberflächen

Nach fünf Wochen Versuchszeit wurden die Tygon-Schläuche, durch die während des gesamten Versuchszeitraums das Wasser geflossen war, makroskopisch vergleichend untersucht. Man kann deutlich erkennen, dass der Schlauch, der in dem System mit AQUABION® eingebaut war, weniger belegt war als der Schlauch aus dem Kontrollsystem (Abbildung 5). Außerdem wird deutlich, dass der Belag im Schlauch des Kontrollsystems gelblich-bräunlich gefärbt war, während der Biofilm im AQUABION® Aktivanoden-System weißlich gefärbt ist. Das lässt darauf schließen, dass der Biofilm in beiden Systemen nicht nur unterschiedlich in der Biofilmdicke, sondern auch in der Zusammensetzung ist.

Abbildung 5: Makroskopische Betrachtung der Schläuche aus dem System mit AQUABION® (oben) und dem Kontrollsystem (unten).

3.1.5.2 Direkte Betrachtung der Couponoberflächen

Bei der fluoreszenzmikroskopischen Betrachtung der angefärbten Couponoberflächen wurde deutlich, dass sie im Kontrollreaktor stärker mit Biofilmbakterien belegt waren als die Couponoberflächen, die aus dem AQUABION® Aktivanodensystem entnommen wurden. Man konnte ebenfalls erkennen, dass sich die Biofilme der zweiten Woche deutlich von denen der dritten Woche unterschieden. Während in den ersten zwei Versuchswochen eher kurze Stäbchen, die homogen auf der Couponoberfläche adhäriert waren, dominierten, waren ab der dritten Versuchswoche deutlich Aggregatbildung und das Auftreten von Protozoen erkennbar. Ein wesentlicher Unterschied in der Struktur der Biofilme auf den Oberflächen war die Anwesenheit von fädigen Bakterien im Kontrollsystem. Durch die Vernetzung von fädigen Bakterien besitzen Biofilme, die diese enthalten, in der Regel eine höhere Stabilität. Die durch die Anwesenheit von Zinkionen aus dem AQUABION® verringerte Stabilität des Biofilms könnte zusätzlich ein Grund dafür sein, dass er sich aufgrund der im Schlauch herrschenden Scherkräfte nicht in dem Maße entwickelte wie im Kontrollsystem (vgl. 3.1.5.1).

Versuchs-dauer	Kontrollreaktor	Reaktor mit AQUABION®
3 Stunden		
1 Woche		
2 Wochen		
3 Wochen		

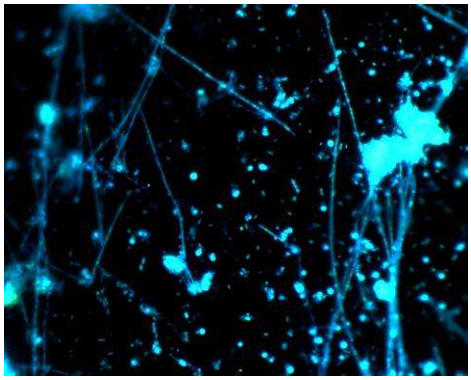
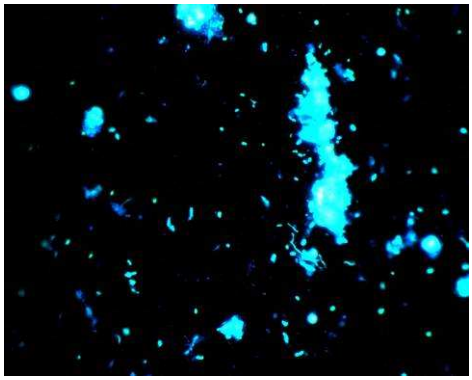
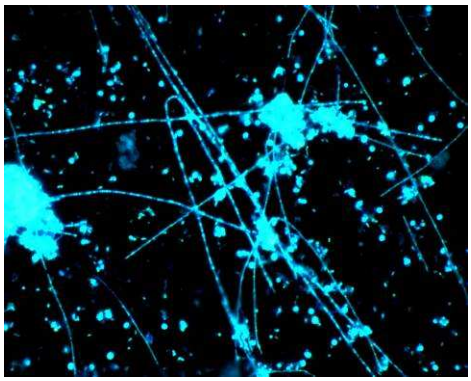
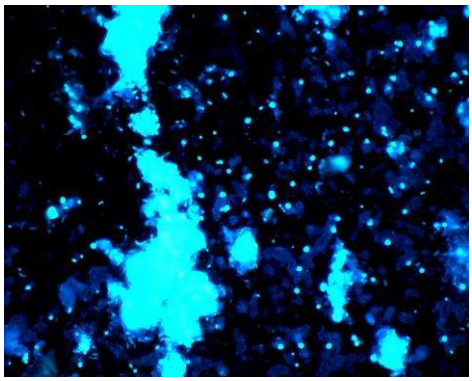
Versuchs-dauer	Kontrollreaktor	Reaktor mit AQUABION®
4 Wochen		
5 Wochen		

Abbildung 6: Direkte Betrachtung der Couponoberflächen zu den Probenahmezeitpunkten nach Anfärbung mit dem Fluoreszenzfarbstoff DAPI

3.1.6 Chemische Untersuchung von Präzipitaten der Kreislaufsysteme

Beim Betrieb der beiden Reaktorsysteme fiel auf, dass in dem Ansatz mit dem AQUABION® Aktivanodensystem wesentlich mehr Präzipitate auf dem Boden des 5 Liter-Gefäßes ausfielen als im Kontrollreaktor (Abbildung 7). Da von DAT postuliert wird, dass durch die Abgabe von Zink (Zinkionen) ins Wasser Calcit ($CaCO_3$) in Aragonit ($CaCO_3$) umgebildet wird, welches eine geringere Tendenz zur Anhaftung an Oberflächen besitzt, sollte überprüft werden, ob die Präzipitate unterschiedliche Konzentrationen an verschiedenen Elementen enthielten. Deshalb wurde die chemische Zusammensetzung der Flocken mittels ICP-OES bestimmt (Tabelle 4).

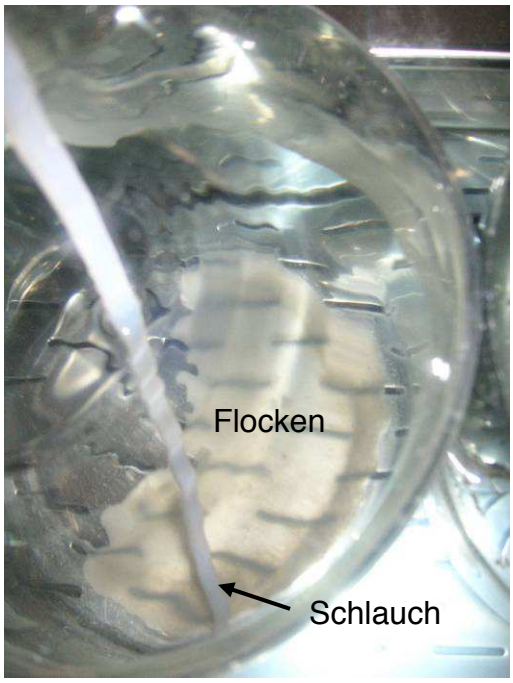


Abbildung 7: Flocken auf dem Boden des 5 Liter-Gefäßes im Ansatz mit AQUABION® -System

Die Untersuchung zeigte, dass die Flocken aus beiden Versuchssystemen chemisch sehr ähnlich zusammengesetzt waren. Die Kalziumkonzentrationen waren mit 56,6 und 56,7 mg/l gleich hoch. Ein großer Unterschied lag nur in der Konzentration von Zink in den Focken: Während Zink in den Flocken aus dem Kontrollreaktor nicht nachweisbar war, enthielten die Flocken aus dem AQUABION® Aktivanodensystem 14 mg/l Zink. Aus der Literatur ist bekannt, dass Zink bei der Bildung von Carbonaten, speziell von Kalziumcarbonat, eine Veränderung der kristallinen Struktur hervorruft (Coetzee, P.P. et al., 1998, „Kesselstein-Reduzierung und Kesselstein-Modifizierungseffekte durch Zn und andere Metallsorten bei der physikalischen Wasseraufbereitung“, *Water SA*, Bd. 24, Nr. 1, S. 77-84). Bei der Kristallation werden größere Kristalle, so genannte Aragonite gebildet. Die Adhäsionskräfte des Aragonits an und auf Oberflächen sind laut Literatur wesentlich geringer als beim einfachen Calcit. Die gemessene Anwesenheit von Zink in den Präzipitaten und die verringerte Belagsbildung auf den Schläuchen des Systems mit AQUABION® (vgl. 3.1.5.1) liefern Hinweise auf die Antiscaling-Eigenschaften des AQUABION®.

Geringfügige Unterschiede traten darüber hinaus in den Kupfer- und in den Natriumkonzentrationen auf. Sie waren jeweils im dem AQUABION® -System höher als im Kontrollsystem. Kupfer wurde wahrscheinlich aus der Installation des AQUABION® -System eingetragen.

Tabelle 4: Zusammenfassung der chemischen Untersuchungen der Flocken in den beiden Reaktorsystemen, blau hinterlegt sind die Elemente, die in unterschiedlichen Konzentrationen vorlagen.

Parameter	Flocken zusammensetzung Kontrolle		Flocken zusammensetzung AQUABION®	
Aluminium	< 0,05	mg/l	< 0,05	mg/l
Kalzium	56,6	mg/l	56,7	mg/l
Magnesium	9	mg/l	9,7	mg/l
Natrium	65,4	mg/l	71,8	mg/l
Kalium	5,2	mg/l	5,8	mg/l
Bor	0,089	mg/l	0,099	mg/l
Cadmium	< 0,001	mg/l	< 0,001	mg/l
Cobalt	< 0,005	mg/l	< 0,005	mg/l
Chrom	0,0085	mg/l	< 0,0051	mg/l
Kupfer	0,056	mg/l	0,18	mg/l
Nickel	0,011	mg/l	0,016	mg/l
Blei	< 0,01	mg/l	0,041	mg/l
Eisen	0,099	mg/l	< 0,05	mg/l
Mangan	< 0,01	mg/l	< 0,01	mg/l
Silizium	2,89	mg/l	2,73	mg/l
Zink	< 0,052	mg/l	14	mg/l
Gesamt-Phosphor	0,14	mg/l	0,16	mg/l

3.2 Überprüfung des mikrobioziden Effekts nach Zugabe von Iod und Zink nach dem DAT Prinzip des Aquainjects auf ausgebildete Biofilme

Im Anschluss an die Untersuchungen mit dem AQUABION® Aktivanodensystem wurden in den Zulauf des Kontrollreaktors zwei Behälter in Reihe geschaltet, die jeweils 27 g Zink bzw. Jod enthielten. Wieder wurden 5 Liter über den Zeitraum von einer Woche im Kreislauf gepumpt.

Nach zwei Tagen wurden eine Wasserprobe und nach einer Woche eine Wasserprobe und eine Biofilmprobe hinsichtlich Gesamtzellzahl, Gesamtkoloniezahl, Konzentration an *Legionella* spec, DOC und Zink untersucht.

Wasserphase:
Die Ergebnisse zeigen, dass die Behandlung eine Erhöhung der Gesamtzellzahl (lebende und tote Bakterien), jedoch eine deutliche Verringerung der Gesamtkoloniezahl (vermehrungsfähige Bakterien) bewirkte. Nach 2 Tagen verringerte sich die Gesamtkoloniezahl um 2 Log-Stufen und nach 7 Tagen um 3 Log-Stufen. Legionellen waren nach 2 Tagen Behandlung nicht mehr nachweisbar.

Biofilm:
Die Behandlung des Biofilms mit der Kombination Zink und Iod nach dem DAT Prinzips des Aquainjects führte nur zu einer geringen Ablösung des Biofilms. Die Kultivierbarkeit der Biofilmbakterien nahm aber deutlich weniger ab als in der Wasserphase.

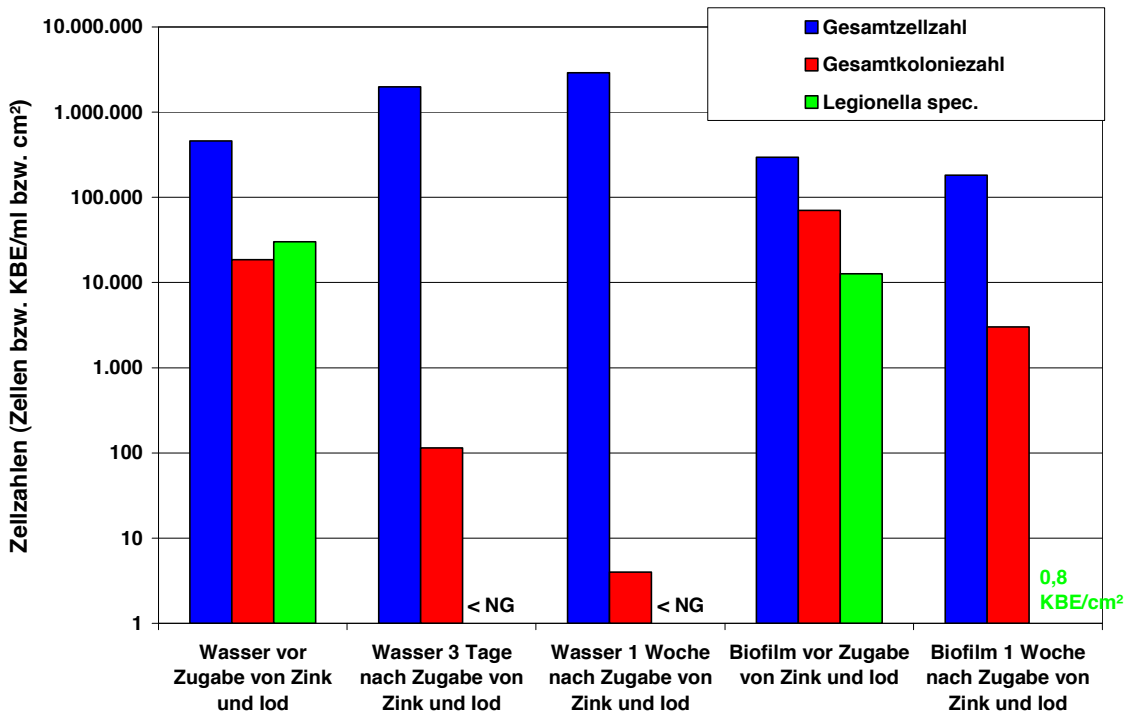


Abbildung 8: Einfluss der Behandlung mit Zink und Iod auf den Biofilm (< NG = unter der Nachweisgrenze)

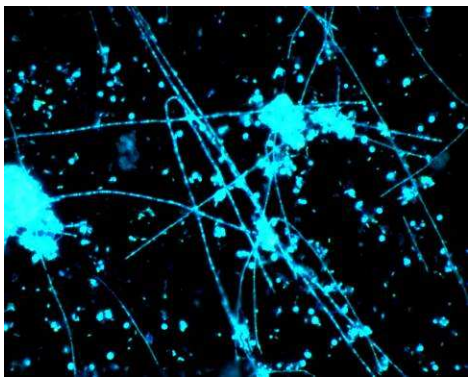
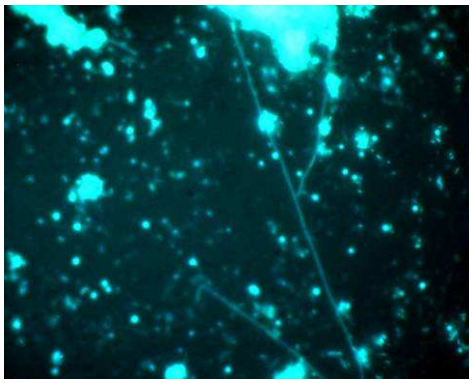
Versuchs-dauer	Vor Zink-/Iodzugabe	Nach Zink-/Iodzugabe
1 Woche		

Abbildung 9: Dokumentation des Einflusses der Behandlung von Biofilmen mit Zink und Iod direkt auf der Couponoberfläche

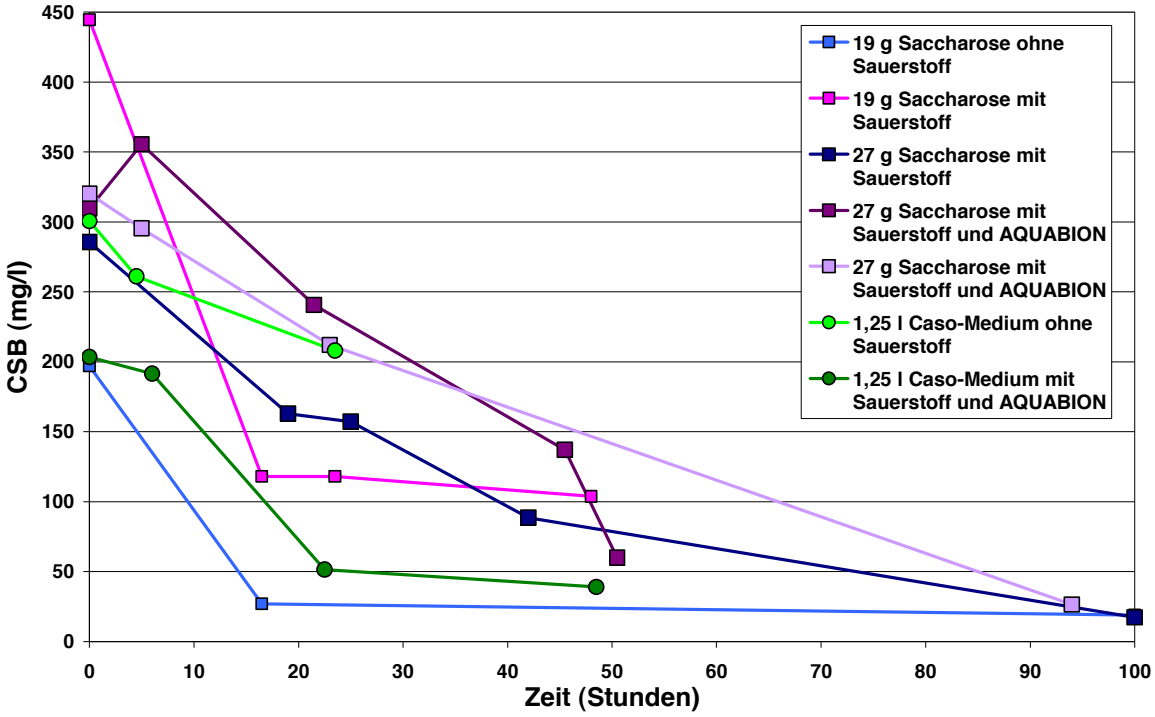
3.3 Einfluss des AQUABIOREAKTORs auf den Abbau organischer Substanzen in der Wasserphase

Die Ergebnisse zeigen, dass der Einsatz des AQUABIOREAKTORs zu einer Abnahme der organischen Substanzen in der Wasserphase führt (Abbildung 10, Abbildung 11). Für den Abbau spielt es im den gewählten Versuchszeiträumen (3-4 Tage) keine Rolle, ob es sich um ein Vollmedium mit C,N und P-Quelle (CASO-Medium) oder um eine alleinige C-Quelle (Saccharose) handelte. Die Versuchsergebnisse spiegeln sich sowohl in der Bestimmung des CSB-Gehaltes und in der Bestimmung des DOC-Gehaltes wider, denn die Kurvenverläufe der CSB- und der DOC-Konzentrationen sind vergleichbar (Abbildung 10, Abbildung 11). Folgende Erkenntnisse konnten aus den unterschiedlichen Versuchsansätzen gewonnen werden:

- Für den schnellen Abbau von organischer Substanz ist eine Zufuhr von Sauerstoff günstig.

- Geringere Konzentrationen von Saccharose werden effektiver (innerhalb kürzerer Zeit) abgebaut als höhere Konzentrationen, prozentual wird aber nach 100 Stunden (ca. 4 Tagen) in etwa der gleiche Zielwert von 5,9 bzw. 3,7 % erreicht.

- Bei dem Einsatz von 27 g Saccharose verzögert das AQUABION®-System den Abbau der organischen Substanz, nach etwa 2 Tagen werden aber die gleichen DOC- bzw. CSB-Konzentrationen erreicht. Das könnte einen Hinweis darauf liefern, dass die durch den AQUABION® eingebrachten Zinkionen die Biomasse zunächst in ihrer Stoffwechselaktivität hemmt, nach 2 Tagen jedoch eine Adaptation der Bakterien an die erhöhte Zinkkonzentration erfolgt ist.



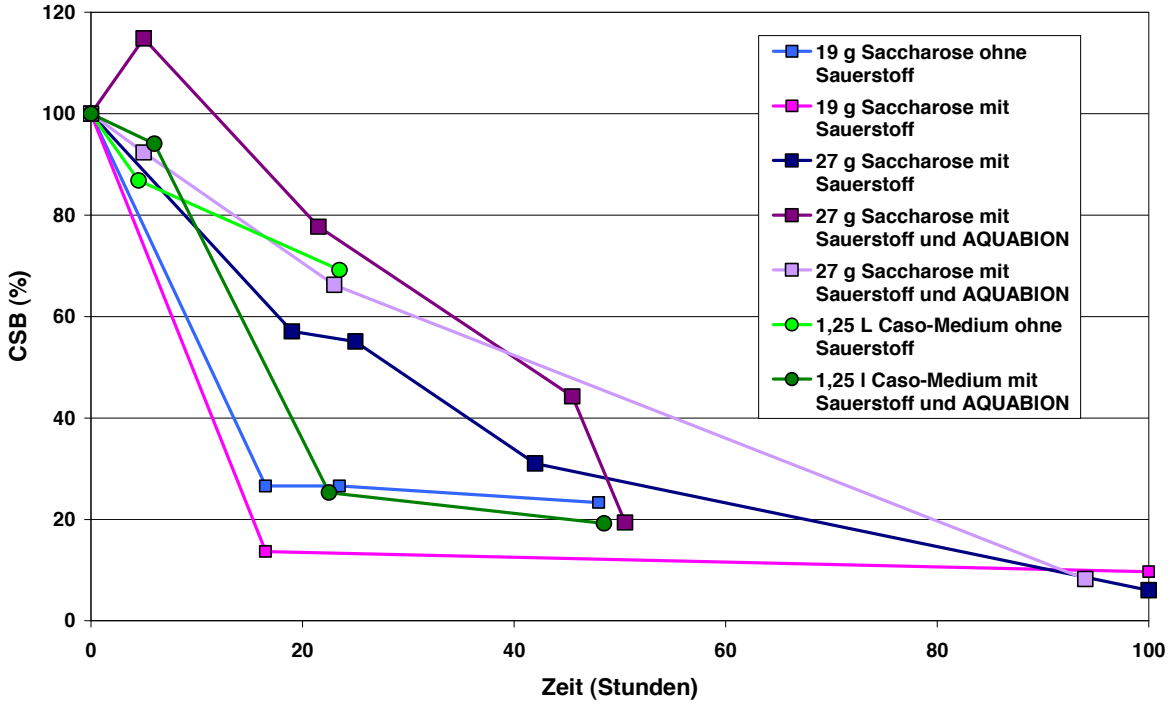
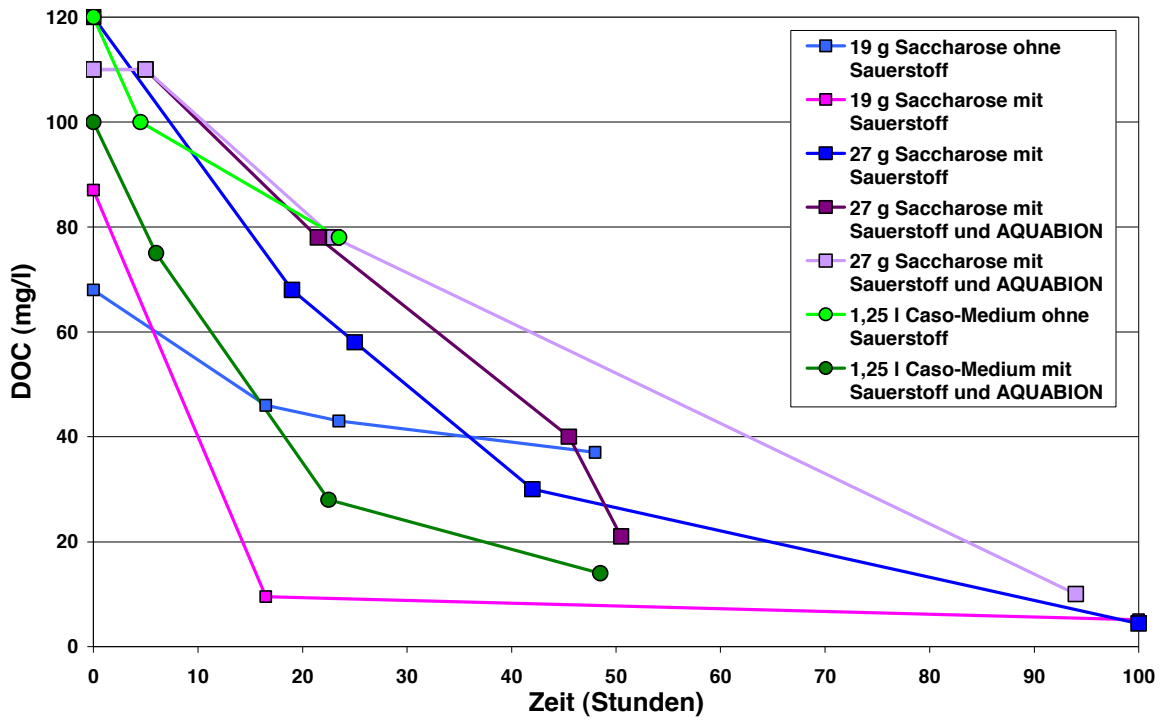


Abbildung 10: Grafische Darstellung der Verringerung der Konzentration organischer Substanzen gemessen am CSB-Gehalt durch den AQUABIOREAKTOR; oben: absolute Konzentrationen (mg/l) unten: relative Abnahme (%)



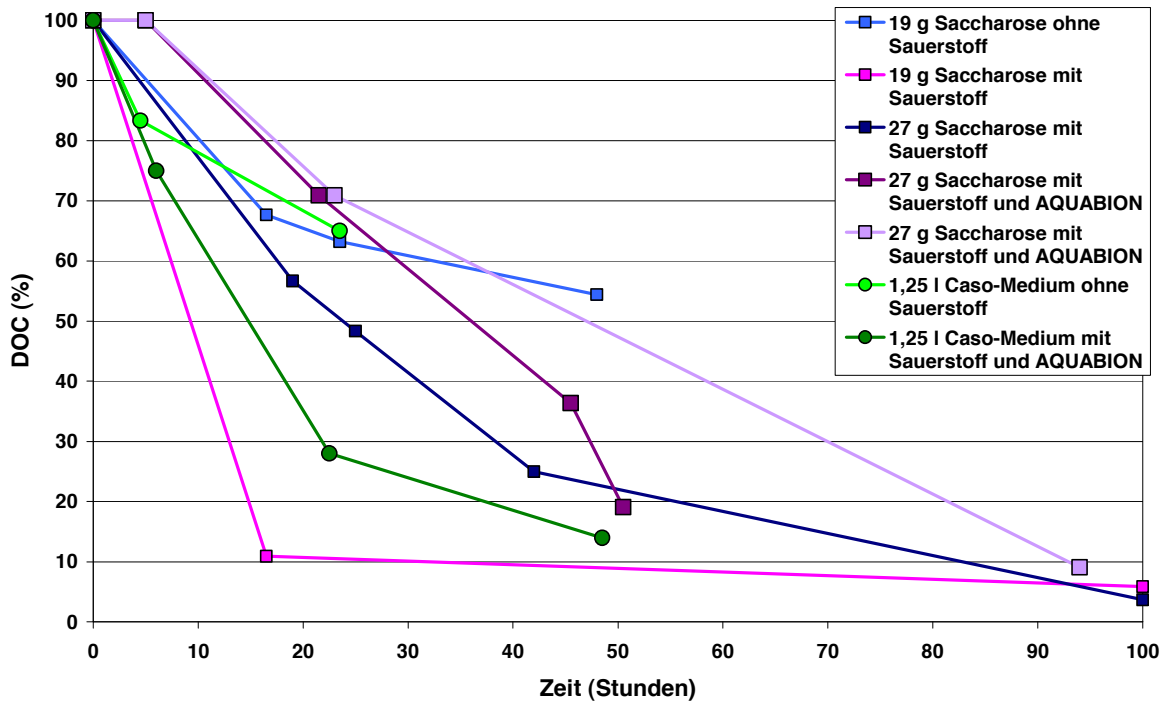


Abbildung 11: Grafische Darstellung der Verringerung der Konzentration organischer Substanzen gemessen am DOC-Gehalt durch den AQUABIOREAKTOR; oben: absolute Konzentrationen (mg/l) unten: relative Abnahme (%)

Die Ergebnisse zeigen außerdem, dass es in dem gewählten Versuchsansatz nicht zu einer Verringerung der Bakterienkonzentrationen gemessen anhand der Gesamtkoloniezahl (KBE/ml) kam (Abbildung 12). Das liegt wahrscheinlich daran, dass die Koloniezahlen im Wasser aufgrund des großen Oberflächen zu Volumen-Verhältnisses die Biofilmbildung im Reaktor widerspiegeln. Um zu überprüfen, ob der Einsatz des AQUABIOREAKTORs zu einer Verringerung der Koloniezahlen in der Wasserphase führt, müsste der Versuch mit einem größeren Wasservolumen wiederholt werden.

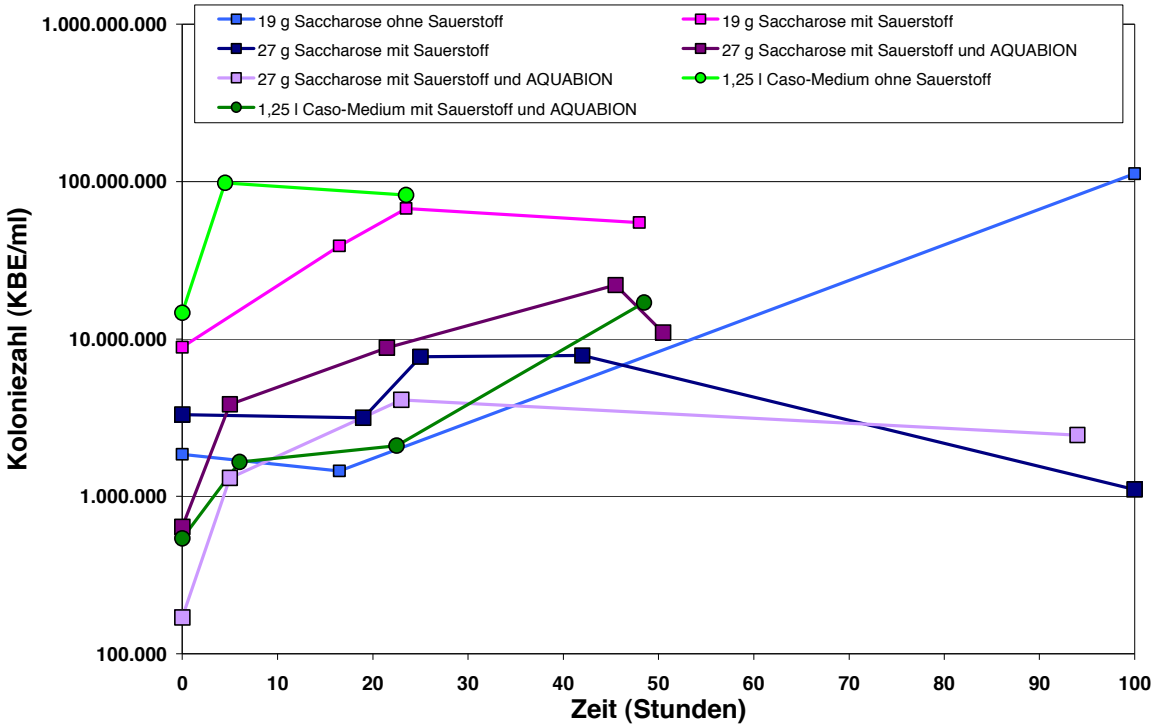


Abbildung 12: Grafische Darstellung der Entwicklung der Konzentration der Gesamtkoloniezahlen in der Wasserphase