

**Studie zur Verfahrensoptimierung der Inaktivierung pathogener
Mikroorganismen zur Wasseraufbereitung und Vorbeugung
nosokomialer Infektionen mittels “Pulsed Electric Field
Technology“**

Bachelorarbeit

Hochschule für Angewandte Wissenschaften Hamburg

Fakultät Life Sciences

im Studiengang Medizintechnik

vorgelegt von

Jan Fiedler

Hamburg 21.12.2011

1. Prüfer: Prof. Dr. Ing. Friedrich Ueberle
2. Prüfer: Dipl. Math. Dipl. Ing. Wolfgang Krause

Danksagung

Ich möchte mich hiermit bei allen bedanken, die mich während der Zeit des LUFO IV/2 Projektes und somit auch bei der Entstehung dieser Arbeit unterstützt haben. Und auch bei all denjenigen, die mir mit Rat und Tat zur Seite standen und mich aufgemuntert haben.

Ganz besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. Ing. Ueberle, der mir im Rahmen des Projektes überhaupt die Möglichkeit gegeben hat diese Arbeit zu verwirklichen und jederzeit fachlich und rat gebend zur Verfügung stand.

Und Herrn Dipl. Math. Dipl. Ing. W. Krause, der bei Fragen als Ansprechpartner zur Verfügung stand und sich die Zeit zur Bewertung nimmt.

Sowie bei

Prof. Dr. Andreas Wille

Dipl. Ing. Ronny Wittkopp

Dipl. Ing. Ines Bramburger

Dipl. Ing. Jens Steckel

Dipl. Ing. Stefan Schmücker

B. Sc. Andriy Bulashov

Paul Studenin

und bei Netti, die die Zeit ausgehalten hat

Inhaltsverzeichnis

Abbildungsverzeichnis	3
Tabellenverzeichnis	4
Abkürzungsverzeichnis	5
1 Einleitung.....	7
2 Zusammenfassung.....	10
3 Theoretische Grundlagen.....	11
3.1 Pathogene Mikroorganismen, Viren und Prione im Wasser	11
3.2 Infektionsrisiken durch Wasserverkeimung und deren Eindämmungsmöglichkeiten.....	16
3.2.1 Durch Wasserkeime bedingte Epidemien.....	16
3.2.2 Wasserkeime und deren Probleme in Krankenhäusern	18
3.3 Das Verfahren der PEF-Technologie.....	23
3.3.1 Physikalische Grundlagen der PEF-Technologie	23
3.3.2 Wirkungsmechanismen der PEF-Technologie	25
3.3.3 Technische Parameter für den Aufbau und die Umsetzung des PEF-Verfahrens.....	28
3.4 Vor- und Nachteile der PEF-Technologie im Vergleich zu anderen Desinfektionsverfahren.....	31
4 Umsetzungsstudie zum PEF-Verfahren	35
4.1 Konzept und Konstruktion eines ersten Versuchsstandes.....	35
4.1.1 Technische Umsetzung der Halterung für die Desinfektionskammer ...	35
4.1.2 Entwicklung der ersten statischen Küvette	38
4.1.3 Entwurf und Umsetzung des Versuchsaufbaus	40
4.2 Vorversuche zur Feldstärkenbestimmung	40
4.2.1 Versuchsbeschreibung	41
4.2.2 Verwendete Geräte und Materialien	41
4.2.3 Versuchsaufbau und -durchführung	42
4.2.4 Versuchsergebnisse und -beurteilung	47
4.3 Mikrobiologische Versuche zur Bestimmung der Desinfektionsrate	49
4.3.1 Versuchsbeschreibung	49
4.3.2 Verwendete Geräte und Materialien	49
4.3.3 Versuchsaufbau.....	50

4.3.4	Versuchsdurchführung	51
4.3.5	Versuchsergebnisse und -beurteilung	54
4.4	Theoretische Weiterentwicklung der technischen Parameter für die erzeugenden Feldstärken nach Patent "WO 2005/105679 A1"	55
4.4.1	Möglicher Aufbau zur Feldstärkenerzeugung	56
4.4.2	Erster möglicher Aufbau einer Desinfektionskammer mit Elektroden ...	56
4.4.3	Zweiter möglicher Aufbau einer Desinfektionskammer im Flussbetrieb mit Elektroden	58
5	Diskussion der Versuchsergebnisse.....	62
6	Ausblick auf mögliche Einsatzgebiete in der Medizin und zu humanitären Zwecken.....	64
	Quellenverzeichnis.....	66
A	Anhang.....	69

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 3-1: Epidemiologische Kurve der HUS- und EHEC-Ausbruchsfälle (Stand:28.06.2011,773 HUS- 2.507 EHEC-Fälle mit bekanntem Erkrankungsbeginn an Durchfall)	18
Abbildung 3-2: Nosokomiale Infektionen und multiresistente Erreger in Deutschland: Epidemiologische Daten aus dem Krankenhaus-Infektions-Surveillance-System	20
Abbildung 3-3: Struktureller Aufbau einer Bakterienmembran	25
Abbildung 3-4: Bakterienzelle im Kondensator mit angelegter Spannung	27
Abbildung 3-5: Elektronisches Schema der PEF	30
Abbildung 4-1: Aufbau der Seitenwände inkl. elektrischem Kontakt	36
Abbildung 4-2: Gesamter Aufbau, in den die Küvette später eingelegt werden kann	37
Abbildung 4-3: Technische Daten der Plexiglasküvette	39
Abbildung 4-4: Oszilloskop mit angeschlossenem Tastkopf und Triggermodul	42
Abbildung 4-5: Anschluss des Triggermoduls an das Oszilloskop HM1508	43
Abbildung 4-6: Ansicht von oben in die Faradaysche Versuchsbox mit Spule, die an den Plattenkondensator mit eingelegter Küvette angeschlossen ist	44
Abbildung 4-7: Offene Versuchsbox mit angeschlossenem HV-Tastkopf zur Messung der elektrischen Feldstärke	45
Abbildung 4-8: Ausgangspuls am Triggermodul von 500 V	47
Abbildung 4-9: Grafik zur gemittelten elektrischen Feldstärke	48
Abbildung 4-10: Versuchsaufbau für die mikrobiologischen PEF-Versuche	51
Abbildung 4-11: Küvette mit eingeschobenem Stopfen	52
Abbildung 4-12: Statischer Versuchsaufbau einer Desinfektionskammer	57
Abbildung 4-13: Dynamischer Versuchsaufbau einer Desinfektionskammer inkl. Transistorsteuerung	59

Tabellenverzeichnis

Tabelle 3-1 durch Wasserkeime bedingte Nosokomiale Infektionen.	22
Tabelle 3-2: Desinfektionsverfahren nach §11 der Trinkwasserverordnung 2001 Teil II	32
Tabelle 3-3: Aufbereitungsstoffe, die zur Desinfektion des Wassers eingesetzt werden nach §11 der Trinkwasserverordnung 2001 Teil Ic.....	33
Tabelle 4-1: Geräteliste für den Vorversuch	41
Tabelle 4-2: Übersicht der erfassten Messwerte	47
Tabelle 4-3: Kapazität in Abhängigkeit von der Frequenz	48
Tabelle 4-4: Induktivität in Abhängigkeit von der Frequenz	48
Tabelle 4-5: Geräteliste für die mikrobiologischen Versuche.....	49
Tabelle 4-6: 1. Versuchsreihe (hohe Konzentration zur Ausgangslösung)	52
Tabelle 4-7: 2. Versuchsreihe (mittlere Konzentration zur Ausgangslösung weitere Zeitintervalle)	53
Tabelle 4-8: 3. Versuchsreihe (noch stärker verdünnte Konzentration zur Ausgangslösung).....	53
Tabelle 4-9: 1. Versuchsreihe (Ausgangsvolumen mittlerer Konzentration Abstand*2)	53

Abkürzungsverzeichnis

ATP	Adenosintriphosphat
bzw.	beziehungsweise
ca.	circa
CJD	Creutzfeldt Jakob Disease
CU	Control Unit
Dem. Rep.	Demokratische Republik
DNA	Desoxyribonukleinsäure
E. coli	Escherichia coli
EHEC	Enterohämorrhagische E. coli
FDA	Food and Drug Administration
Gnd.	Ground (Erdung)
Gl.	Gleichung
HUS	Hämolytisch-urämisches Syndrom
Hz	Frequenzeinheit: Hertz = 1/Sekunde
ICU	Intensive Care Unit
IMC	Intermediate Care
KBE	koloniebildende Einheit
KISS	Krankenhaus-Infektions-Surveillance-System
kVcm⁻¹	Kilovolt pro Zentimeter
Log-Stufen	Logarithmische Stufen
Min.	Minuten
Mio.	Millionen
mm	Millimeter (10 ⁻³ Meter)
mV	Millivolt (10 ⁻³ Volt)
MVm⁻¹	Megavolt pro Meter
PEF	Pulsed Electric Field
nm	Nanometer (10 ⁻⁹ Meter)

ns	Nanosekunden (10^{-9} Sekunden)
PRP^c	Prion-Protein (cellular)
PVC	Polyvinylchlorid
RKI	Robert Koch Institut
RNA	Ribonukleinsäure
USA	United States of America
UV	Ultraviolett
z. B.	zum Beispiel
zzgl.	zuzüglich
µm	Micrometer (10^{-6} Meter)
µs	Mikrosekunden (10^{-6} Sekunden)

1 Einleitung

Wie wichtig Trinkwasser ist, wussten bereits die Menschen in der Antike. Schon die alten Römer erkannten den Zusammenhang der Trennung von sauberem Trink- und verschmutztem Abwasser, so wie der damit verbundenen Hygienesteigerung und Seuchenvermeidung. Sie bauten klar voneinander getrennte Abwassersysteme und Aquädukte, um die Ballungsräume mit sauberem Wasser zu versorgen und das Abwasser aus den Städten abzuführen.

Auch heute sind sauberes Trinkwasser und Wasseraufbereitung zentrale Themen in unserer Gesellschaft und werden in naher Zukunft aufgrund steigender Wasserknappheit immer stärker in den Fokus der Weltgemeinschaft rücken. In einigen Jahrzehnten könnte bei unverändertem Fortschreiten der derzeitigen Entwicklung das knappe Gut Trinkwasser Ursache Nummer eins für kriegerische Auseinandersetzungen sein. Hierbei ist zu beachten, dass es sich bei über 97 % des weltweiten Wasservorkommens um Salzwasser handelt. Somit bleiben nur knapp drei Prozent Trinkwasser von denen aber laut Schätzungen der Unesco nur etwa 0,0075 % in flüssiger Form vorliegen. Der Rest ist in Gletschern oder in Sümpfen eingeschlossen. [lub/dpa,2009]

Bei der wachsenden Bevölkerungszahl wird die Notwendigkeit an Trinkwasser deutlich. Auch bei dem Anstieg an internationaler Reiseaktivität muss über den effektiven Einsatz zur Hygiene in Bereichen von Flugzeugen, Schiffen und Zügen, sowie Bahnhöfen nachgedacht werden. Hierbei ist besonders der Schutz vor der weltweiten Verbreitung neuer Keime entscheidend um Pandemie vorzubeugen. Auch die Wasserdesinfektion in Krankenhäusern, Praxen und Laboren ist wichtig, um Infektionen mit pathogenen Mikroorganismen zu vermeiden und die geforderten Hygienestandards zu erfüllen. Hierfür müssen möglichst effektive, schnelle und auch für Mensch, Natur und Umwelt verträgliche Methoden gewählt werden. Heutzutage kann man leider auf chemiebasierte Verfahren, wie z. B. Chlorierung oder Ozonierung, nicht verzichten. Diese bilden allerdings oft verbleibende Nebenprodukte, welche gebunden werden müssen und somit die Umwelt zusätzlich belasten. Dem gegenüber stehen momentan die thermischen und optischen Verfahren, wie z. B. UV-Desinfektion mit Quecksilber-Niederdrucklampen. Diese Lampen weisen eine gute punktuelle Wirkungsweise auf, haben aber einen

schlechten Wirkungsgrad in Bezug auf die umgesetzte Energie und müssen aufgrund des enthaltenen Schwermetalls gesondert entsorgt werden.

Eine interessante und auch schonende Alternative könnte die Desinfektion mittels der Pulsed Electric Field Technologie (PEF-Technologie) darstellen. Hierzu wird auf das in der Flüssigkeit befindliche Bakterium eine gepulste Hochspannung angelegt, so dass dieses schließlich durch einen physikalischen Prozess inaktiviert bzw. abgetötet wird. Es entstehen weder schädlichen Nebenprodukte oder noch andere negative Einflüsse.

Die Motivation zu dieser Arbeit ist es, eine neue Technik zu untersuchen, die vielen Menschen helfen kann, sowohl im Bereich der Krankenhaushygiene als auch in Regionen, in denen Menschen nicht das Glück haben, einen Wasserhahn aufdrehen zu können und frisches Trinkwasser zu haben. Somit ist das Ziel dieser Arbeit, das Verfahren der Pulsed Electric Field Technologie optimal umzusetzen und auf die mikrobiologische Desinfektionseigenschaft zu untersuchen. Es soll ein Vergleich der Wirksamkeit gegenüber konventionellen Desinfektionsmethoden sowie eine Betrachtung der Anwendungsmöglichkeiten der PEF ausgeführt werden.

Nachfolgend wird kurz der Aufbau dieser Bachelorarbeit erläutert.

Nach den vorangegangenen ins Thema einführenden Worten enthält das nachfolgende zweite Kapitel unter anderem eine kurze Zusammenfassung dieser Arbeit. Im dritten Kapitel sollen die theoretischen Grundlagen mikrobiologischer Organismen und deren Problematik im Wasser und in Krankenhauseinrichtungen erläutert werden. Desweiteren soll der physikalische und physiologische Effekt der PEF-Technologie an Mikroorganismen verständlich gemacht sowie die biologischen also auch die physikalisch-theoretischen Hintergründe der PEF-Technologie erläutert werden. Hierzu sollen auch die Vorüberlegungen der Berechnung und des Designs mit einbezogen werden. Anschließend folgen technische Parameter anhand bestehender Dissertationen.

In dem darauffolgenden vierten Kapitel wird die Konstruktion eines Versuchsaufbaus und der Küvetten erläutert, die den Rahmenbedingungen der vorangegangenen Berechnungen entsprechen. Hierbei werden die nötigen Voruntersuchungen dargestellt, um zu beweisen, dass diese Konstruktionen den Anforderungen

genügen. Danach folgt eine Versuchsstudie zur Wirksamkeit der PEF-Technologie sowie die Erläuterung einer möglichen Optimierung.

Im fünften Kapitel werden die bis dahin gefundenen Versuchsergebnisse diskutiert. Den Abschluss dieser Arbeit bildet ein Ausblick auf die möglichen Einsatzzwecke der PEF-Technologie in der Zukunft.

2 Zusammenfassung

Die PEF-Technologie zeigt in den Versuchsergebnissen verschiedener Dissertationen während der Desinfektion von Wasser sehr positive Ergebnisse. Bei der Desinfektion mittels PEF entstehen keine schädlichen Stoffe und es ist eine hohe Keimreduktion innerhalb kürzester Zeit zu verzeichnen.

Diese Ergebnisse konnten in den mikrobiologischen Versuchen, die im Rahmen dieser Arbeit durchgeführt wurden, nicht bestätigt werden. Bei den durchgeführten Versuchen wurden Kriterien zugrunde gelegt, welche bereits in anderen Dissertationen angewandt wurden. Hierbei soll schon einmal vorab erwähnt werden, dass viele Parameter für die Desinfektionsleistung verantwortlich sein können, die in den wenigen zugrunde gelegten Studien nicht eindeutig klassifiziert werden. Die Effizienz mit den in dieser Arbeit gewählten Rahmenbedingungen zeigte keine Desinfektionsleistung von einigen Log-Stufen. Für weitere Tests mit geänderten Rahmenbedingungen sind einzelne Bauteile der Versuchsanordnung nicht geeignet. Hierfür wäre eine Modifizierung des Aufbaus erforderlich, welche jedoch im Rahmen der für diese Arbeit vorgesehenen Zeitspanne nicht realisiert werden kann.

Fazit der Bachelorarbeit ist, dass das Gebiet der PEF-Technologie noch nicht ausreichend erforscht ist, aber viel Potential bietet und somit eventuell in naher Zukunft als Einzelverfahren oder in Kombination mit bereits etablierten Desinfektionsverfahren zur Bereitstellung von Trinkwasser dienen kann.

3 Theoretische Grundlagen

Dieses Kapitel soll einen Überblick über die mikrobiologischen Grundlagen geben sowie die Infektionsrisiken durch pathogene Keime im Wasser erläutern. Desweiteren werden die Grundlagen der PEF-Technologie veranschaulicht und die möglichen Vorteile gegenüber andere Desinfektionsverfahren aufgezeigt.

3.1 Pathogene Mikroorganismen, Viren und Prione im Wasser

Im folgenden Abschnitt werden pathogene Mikroorganismen, Viren und Prione näher beschrieben sowie ihre Bedeutung für den Menschen, seine Gesundheit und Umwelt verdeutlicht. Auch der Bezug zum medizinischen Sektor und der Trinkwasseraufbereitung sollen dabei nicht unbeachtet bleiben.

Als pathogene Mikroorganismen (pathogenic microorganisms) werden Bakterien, Protozoen, Hefen/Pilze sowie Parasiten bezeichnet, welche eine negative Wirkung/Einfluss auf die Gesundheit des Wirtskörpers (Pflanzen, Tiere, Menschen) besitzen. Diese Mikroorganismen können dabei über inhalative, orale oder parenterale Weise in den Organismus aufgenommen werden. [Baumgard, J; Heeschen, W.; v. Rheinbaben, F; Zschaler, R. & Holzfeld, W(Hrsg.), 2004]

Viren und Prione werden nicht direkt zu den pathogenen Mikroorganismen gezählt, da sie keine Membranhülle besitzen, sich nicht selbstständig teilen können und vor allem keinen Stoffwechsel aufweisen. Im engeren Sinne handelt es sich hierbei um keine lebenden Organismen. Das heißt allerdings nicht, dass diesen Gruppen eine geringere Bedeutung zugemessen werden sollte. Eine Vertiefung der Thematik erfolgt im Verlauf dieser Arbeit.

In jedem Gewässer lassen sich Mikroorganismen, Viren und Prione nachweisen. Wie hoch die Konzentration ist, hängt allerdings von verschiedenen Faktoren ab. Ein großes fließendes Gewässer wird durch den ständigen Abtransport gewöhnlich eine geringere Keimbelastung aufweisen als ein kleines stehendes. Auch im Grundwasser ist durch die Filtrationswirkung verschiedener Sedimentschichten die Keimkonzentration meist geringer. Dies sind positive Aspekte, um Wasser mit möglichst geringem Aufwand keimarm zu bekommen. Nicht alle der sich im flüssigem

Milieu befindlichen Mikroorganismen sind automatisch pathogen und stellt somit keine Gesundheitsgefahr dar. Die Mikroorganismen lassen sich in die folgenden zwei Gruppen unterteilen.

- Mikroorganismen, die in so zahlreichen Kolonien vorhanden sind, dass eine Gesundheitsgefährdung für den menschlichen Organismus nicht ausgeschlossen ist.
- Mikroorganismen, die keine direkte Gefährdung darstellen, da ihre Koloniezahl zu gering für eine Infektion ist. Allerdings besteht die Gefahr, dass sich die Mikroorganismen bei Transport durch das Trinkwassersystem verteilen und bei Stillstand ideal vermehren können.[Roeske, 2007]

Im Folgenden wird auf die einzelnen Arten der Erreger genauer eingegangen. Alle diese Mikroorganismen haben die Fähigkeit, Einfluss auf einen anderen Organismus zu nehmen und sind daher aus hygienischer Sicht relevant.

Bakterien

Diese einzelligen Mikroorganismen besitzen keinen Nukleus, können sich durch Spaltung vermehren und weisen eine Größe zwischen 0,5 bis 5 μm auf. Sie werden in vier Gruppen eingeteilt, die sich aus ihrem äußeren Erscheinungsbild ableitet. Man unterscheidet Kugel-, Spiral-, Stab- und Sichelbakterien. Es sind weltweit mehr als 5000 Bakterienarten bekannt.

Schutz erhält das Bakterium durch seine äußere elektrisch neutrale Zellwand, wobei es zwei verschiedene Arten im Aufbau gibt. Je nach Aufbau der Zellwand unterscheidet man grampositive und gramnegative Bakterien. Die Vielseitigkeit der Bakterien erstreckt sich von Geißeln zur Fortbewegung im liquiden Milieu über Toxinbildung, welche als Stoffwechselnebenprodukte entstehen (z.B. wie der vor Kurzem vermehrt in Erscheinung getretene letztlich gesehen EHEC-Erreger), bis hin zur Sporenbildung um lange Zeit in lebensfeindlichen Bedingungen zu überdauern. Andererseits kann unter günstigen Bedingungen wie Nährstoffreichhaltigkeit und Wärme ein Generationswechsel in nur 20 Min. erfolgen. [Auckenthaler, 2003; Roeske, 2007]

Protozoen

Diese ein μm bis ein mm großen einzelligen Organismen gehören zu den Mikroorganismen. Etwa 20 % zählen auch zu den Parasiten. Ihre Artenvielfalt beträgt schätzungsweise 40.000, wobei die meisten in Gewässern vorkommen. Hierbei sind sie den äußeren Bedingungen ideal angepasst. Viele der Protozoen weisen Geißeln und Wimpern auf, so dass sie sich aktiv fortbewegen können. Protozoen gelangen meist über die Nahrung in den Wirtskörper. Ein bekanntes Beispiel der Protozoen ist das Cryptosporidiose¹, welches 1994 in den USA Aufsehen erregte.

Protozoen besitzen einen Nukleus, in dem die DNA eingeschlossen ist. Sie verfügen über Mitochondrien und weisen Stoffwechselaktivitäten auf. Die Vermehrung der Protozoen findet sowohl geschlechtlich als auch ungeschlechtlich statt. Auch Protozoen sind in der Lage in ein Dauerstadium überzugehen. Diese sogenannte Zystenbildung macht sie unempfindlich gegenüber verschiedenen Umwelteinflüssen und ermöglicht eine lange Überlebenszeit. [Auckenthaler, 2003]

Pilze

Von diesen eukariotischen Lebewesen sind mehr als 120.000 Arten weltweit bekannt. Sie sind aus einer chitin-haltigen Zellwand und ergosterin-haltigen Plasmamembran. Die Vermehrung der Kolonien erfolgt durch Sporenbildung und -verbreitung oder aus einem Teil des Pilzes selbst, der wieder eine neue Kolonie hervorbringt. Auch Pilzkolonien können wie einige Bakterien für andere Lebewesen schädliche Stoffwechselnebenprodukte (Toxine) bilden. [Baumgard, J.; Heeschen, W.; v. Rheinbaben, F.; Zschaler, R. & Holzfeld, W(Hrsg.), 2004]

Parasiten

Parasiten sind Lebewesen, die ganz (obligate Parasiten) oder teilweise (fakultative Parasiten), temporär oder ständig das Wirtslebewesen beanspruchen und Teile des Wirts benutzen oder Nährstoffe von diesem beziehen. Dabei werden Parasiten im Allgemeinen in zwei Arten unterteilt: Ektoparasiten, die sich auf der Wirtsoberfläche aufhalten und Endoparasiten, die sich in das Körperinnere einnisten und dabei im Gewebe oder Blut leben. Für den Menschen relevante Parasiten sind Urtierchen,

¹ durch Cryptosporiden ausgelöste Durchfallerkrankung

Würmer und Gliederfüßler. Auch einige Bakterien und Pilze werden gesondert zu den Parasiten gezählt. Parasiten können wie Protozoen oral aufgenommen werden und vermehren sich mit Hilfe des Wirtes in Kolonien. Ein Parasit kann aber auch mittels Eindringen über die Haut in den Wirt gelangen (wie z.B. Hakenwürmer). [Baumgard, J.; Heeschen, W.; v. Rheinbaben, F.; Zschaler, R. & Holzfeld, W(Hrsg.), 2004]

Viren

Viren sind mit einer Größe von 10 bis 300 nm sehr kleine pathogene Erreger. Da sie kein Protoplasma oder Organellen für den Stoffwechsel besitzen, werden sie nicht direkt zu den lebenden Organismen gezählt. Aufgrund ihrer Komplexität werden sie allerdings als Zwischensegment betrachtet. Ihre Erbinformation ist von einer Proteinhülle, dem Kapsid, umgeben. Dieses ist in manchen Fällen auch eine Doppelproteinhülle.

Da Viren sich nicht selber vermehren können, sind sie auf Organismen und deren Zellen und Enzyme angewiesen. Dabei können die Wirtszellen menschlich, tierisch, pflanzlich oder auch bakteriell (Bakteriophagen) sein. Für die Vermehrung dringt das Virus in den Organismus ein und injiziert seine Erbinformation in die Wirtszelle. Die DNA² (beziehungsweise RNA³) wird von der Trägerzelle in die eigene Erbinformation eingebettet. Darauf folgt eine Art Umprogrammieren der Zellsteuerung. Die von dem Virus eingebundene Erbinformation enthält die Anweisung zur Produktion neuer Viren unter Verwendung der zelleigenen Stoffwechselorganellen. Die Wirtszelle wird in aller Regel zerstört. Durch die Produktion von immer mehr Viren wird der Platz im Zellinneren eng. Ab einem bestimmten Punkt bricht die Membran der Wirtszelle auf, womit das Sterben der Zelle verbunden ist. Die freigesetzten Viren strömen aus um sich ihrerseits neue Wirtszellen zu suchen.

Auf der Welt sind bisher ca. 1.500 Virenarten bekannt. Viren können nur inaktiviert werden, da es sich nicht um lebende Organismen handelt. Dies und ihre geringe

² Durch Aminosäurebasen aufgebaute Doppelhelixstruktur in der die Erbinformationen gespeichert sind.

³ Einsträngiger Teilabschnitt einer DNA welcher z.B. bei der Proteinbiosynthese verwendet wird.

Größe machen Viren zu einem großen Problem bei der Aufbereitung von Trinkwasser. [Roeske, 2007; Auckenthaler, 2003]

Prione

Prione werden nicht direkt zu den Mikroorganismen gezählt. Es handelt sich um eine spezielle Art von Proteinverbindung, welche über pathogene Eigenschaften, gerade unter langfristigen Gesichtspunkten, verfügen kann. Viele durch Prione hervorgerufenen Erkrankungen sind seit dem Jahr 1997 weitestgehend anerkannt. Die wohl bekannteste durch Prione ausgelöste Krankheit ist die CJD⁴. Prione werden nur oral in einen Organismus aufgenommen. Der Wirkungsmechanismus beruht auf der Anlagerung von krankhaft veränderten Proteinverbindungen, wodurch auf der äußeren Hirnstruktur befindliche, gesunde Eiweiße verändert werden. Hierbei können Toxine entstehen, die die Gehirnnareale belasten. Der Organismus ist nicht mehr in der Lage das krankhafte Prion (PrP^c) abzubauen. Bei der andauernden Anreicherung dieser nicht mehr abbaubaren Eiweiße verbleiben diese in den Nervenzellen. Dies führt langfristig zu irreversiblen Verletzungen der Zellen. Das Hauptproblem von Prionen besteht in ihrer Überdauerbarkeit. Sie sind durch ihre Größen von unter 20 nm sehr klein. Desinfektionen mit UV-Strahlung und Alkohole sind völlig ineffektiv. Erst eine Hitzedesinfektion über 134 °C bei drei bar zeigt positive Ergebnisse. Daraus ist ersichtlich, wie schwierig der Umgang mit Prionen bei der Desinfektion ist. [Baumgard, J.; Heeschen, W.; v. Rheinbaben, F.; Zschaler, R. & Holzfeld, W(Hrsg.), 2004; Montville, Thomas J.; Matthews, Karl R.,2005]

⁴ Kreuzfeld-Jakob-Krankheit mit Degeneration, also struktureller Änderung der betroffenen Gehirnnareale

3.2 Infektionsrisiken durch Wasserverkeimung und deren Eindämmungsmöglichkeiten

Nachdem im vorigen Abschnitt auf die Mikroorganismen eingegangen wurde, soll im folgendem auf die Infektionsrisiken im Wasser, so wie die Möglichkeit der Eindämmung Bezug genommen werden.

3.2.1 Durch Wasserkeime bedingte Epidemien

Die bekanntesten wasserbedingten Epidemien sind die durch die Bakterien „Yersina pestis“ und „Vibrio cholerae“ hervorgerufenen Erkrankungen Pest und Cholera. Beide Erreger haben im 18. und 19. Jahrhundert tausenden Menschen das Leben gekostet. Heute ist nachgewiesen, dass diese Epidemien durch mangelnde Hygiene und verseuchtes Grundwasser ausgelöst wurden. Beide Erkrankungen weisen eine hohe Pathogenität auf. Bei der Pest überlebt nur jede fünfte infizierte Person. Die Sterblichkeit bei Cholera beträgt bei Nichtbehandlung ca. 70 %. [Auckenthaler, 2003; WHO, 2011]

Cholera stellt auch heute noch ein Problem dar und führt zu zahlreichen Todesopfern besonders in den ärmeren Ländern Afrikas oder Asiens. Hauptgrund hierfür ist nach wie vor mangelnde Hygiene bei der Trinkwasseraufbereitung, so dass Cholerabakterien in den Organismus gelangen und sich dort im Dünndarm einnisten. Dies führt beim Wirtsorganismus zu Durchfall und Erbrechen, bis der Wirt meist durch Dehydration⁵ zusammenbricht. Neueste Fälle von Cholera sind 2011 in Somalia und in der Dem. Rep. Kongo aufgetreten. Die Cholera breitete sich dort entlang des Flusses „Kongo“ aus, der für viele Menschen die primäre Trinkwasserquelle darstellt. Laut der Pressemitteilung von Ärzte ohne Grenzen vom 01.07.2011 sind 2.787 Infizierte registriert worden und bisher über 153 Personen an der Krankheit verstorben. [Auckenthaler, 2003; Ärzte ohne Grenzen, 2011]

Dabei sind die Fälle von Epidemien nicht nur auf ärmere Regionen der Welt beschränkt.

⁵ übermäßige Verminderung des Wasserhaushaltes des Physiologischen Organismus bedingt durch verschiedene Ursachen

Dass auch fortschrittliche Industrienationen vor Epidemien nicht geschützt sind, zeigt das aktuelle Beispiel der im Mai/Juni 2011 in Deutschland aufgetretenen HUS-Epidemie mit über 2.500 infizierten EHEC-Patienten.

Das HUS (Hämolytisch-urämisches Syndrom) wird durch den Shigella dysenteriae bzw. enterohämorrhagischen Escheria coli ausgelöst. Letzteres ist für das Auftreten des Syndroms bei der Epidemie in Deutschland verantwortlich. EHEC gehört zu den enteroviolenten E.coli und kann vor allem bei Kindern aber auch bei Erwachsenen zu erheblichen Komplikationen führen. Dabei bilden die E.coli als Stoffwechselnebenprodukt zytotoxische⁶ Shigatoxine⁷, welche in dem menschlichen Wirtsorganismus zu einer Dysfunktion der Nierentätigkeit führen kann. Es kann zu einer Verschiebung im Elektrolythaushalt führen, so dass es im Extremfall zum Totalversagen der Nierenfunktion kommt. Dadurch ist das HUS als sehr pathogen einzustufen. Da keine Erreger nachweislich im Trinkwassersystem zu finden waren, ist die Epidemie glücklicherweise einigermaßen schwach ausgefallen, wie der folgenden Grafik zu entnehmen ist.

[Baumgard, J.; Heeschen, W.; v. Rheinbaben, F.; Zschaler, R. & Holzfeld, W.(Hrsg.), 2004; RKI EHEC, 2011]

⁶ Chemische Stoffe, die eine zellschädigende Wirkung aufweisen und in den meisten Fällen zum Zelltod führen

⁷ Ein Proteinmolekül, welches zu einer Beeinträchtigung der Proteinbiosynthese führt. Es verhindert das Ankoppeln der 60s Untereinheit des Ribosomens an die 40s Untereinheit. Somit ist das Ribosom inaktiv und es findet keine Translation, also Bildung von Proteinen, statt.

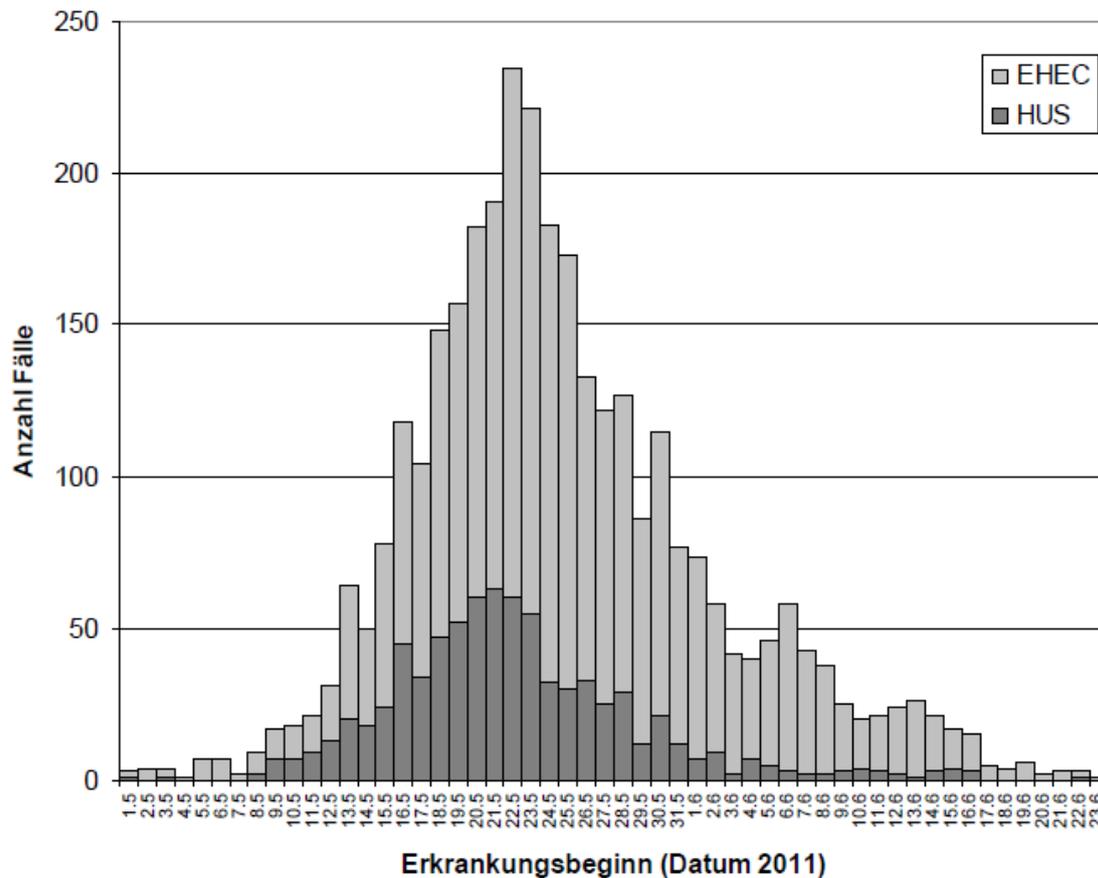


Abbildung 3-1: Epidemiologische Kurve der HUS- und EHEC-Ausbruchsfälle (Stand:28.06.2011,773 HUS- 2.507 EHEC-Fälle mit bekanntem Erkrankungsbeginn an Durchfall)

Quelle: RKI EHEC, 2011

3.2.2 Wasserkeime und deren Probleme in Krankenhäusern

Eine „Nosokomiale Infektion“ wird nach dem Deutschen Infektionsschutzgesetz IFSG nach §2 Ab.8 wie folgt definiert:

„eine Infektion mit lokalen oder systemischen Infektionszeichen als Reaktion auf das Vorhandensein von Erregern oder ihrer Toxine, die im zeitlichen Zusammenhang mit einer stationären oder einer ambulanten medizinischen Maßnahme steht, soweit die Infektion nicht bereits vorher bestand“ [IFSG, 2011]

Nosokomiale Infektionen gewinnen in den Industrienationen immer stärker an Bedeutung, da sie nur schwer zu behandeln sind. Es handelt sich bei den Erregern meist um multiresistente Erreger, die in ein geschwächtes Immunsystem gelangen und dort die Möglichkeit haben, ihre Ausbreitung im Wirt ungehindert weiterzuführen. Gerade postoperative Wunden bilden eine Grundlage für die Ansammlung und die

Vermehrung externer Keime, da die Haut als das wichtigste Schutzorgan geschädigt ist. Auch Dekubituswunden⁸ bieten ein ideales Milieu für Keime. Durch diese zusätzlichen Infektionen müssen dem Patienten weitere Medikamente verabreicht werden, die in den meisten Fällen teuer sind und auch nicht immer oder nur bedingt wirken. Die bekannteste der nosokomialen Infektionen wird durch Bakterien des Stammes *Staphylococcus Aureus* verursacht. Durch die Infektion entsteht also ein unnötiger Aufwand mit erneutem Risiko. Im schlimmsten Fall kann die durch die Kontamination ausgelöste nosokomiale Infektionen zum Tode führen. Auch eine längere Behandlung sowie dauerhafte körperliche Dysfunktion, Amputation und Kosten für das Gesundheitssystem sind Probleme, welche bei Minimierung der Keime reduziert werden können. Ein sehr entscheidender Kosten- und Aufwandsfaktor ist, dass ein mit multiresistenten Erregern infizierter Patient isoliert behandelt und versorgt werden muss. Die Vielfalt der Erreger im Krankenhaus, die zu nosokomialen Infektionen führen können, ist dabei sehr weitläufig, wie in Abbildung 3-2: Nosokomiale Infektionen und multiresistente Erreger in Deutschland: Epidemiologische Daten aus dem Krankenhaus-Infektions-Surveillance-System zu sehen.

⁸ Ein durch Druck ausgelöstes Hautgeschwür, welches oft durch falsche oder nicht ausreichende Pflege am Patienten entsteht.

TABELLE									
Die häufigsten Erreger von nosokomialen Infektionen (NI) auf Intensivstationen; Anteil der nosokomialen Infektionen (in %) mit dem jeweiligen Erreger für die beatmungsassoziierten Infektionen der unteren Atemwege, ZVK-assoziierte Sepsis und HWK-assoziierten Harnwegsinfektionen; Gesamt und stratifiziert nach ITS-Art									
Art der ITS	Alle ITS	Interdisziplinär < 400 Betten	Interdisziplinär ≥ 400 Betten	Innere	Chirurgie	Neurochirurgie	Pädiatrie	Neurologie	Kardiologie
NI mit Erreger (%)									
beatmungsassoziierte Infektionen der unteren Atemwege									
S. aureus (gesamt)	20,6	19,8	22,6	19,1	19,8	32,6	11,2	31,8	8,7
– darunter MRSA	7,2	9,6	8,7	6,1	6,0	5,2	0,9	13,6	2,7
P. aeruginosa	17,7	21,8	19,7	16,4	17,2	10,4	16,4	10,3	13,3
Klebsiella spp.	12,3	10,2	13,7	10,6	12,7	14,1	12,1	11,2	12,1
E. coli	12,2	10,0	14,6	10,1	12,4	14,8	6,0	7,6	11,6
Enterobacter spp.	5,8	5,8	9,1	6,7	9,4	11,0	11,2	9,7	11,1
ZVK-assoziierte Sepsis									
KNS	32,1	26,1	29,3	32,9	33,6	41,0	34,3	42,0	38,2
S. aureus (gesamt)	8,7	11,1	9,1	9,2	7,8	9,5	11,2	5,0	4,5
– darunter MRSA	5,8	8,6	5,7	5,2	6,0	2,2	1,4	4	4,9
Enterococcus	18,5	16,9	20,2	24,0	17,4	11,7	13,3	13,0	17,4
Klebsiella spp.	5,2	7,4	6,0	4,2	4,2	3,7	6,3	6	4,5
Candida albicans	5,6	8,5	4,8	3,9	6,5	2,9	2,8	3,0	5,9
HWK-assoziierte Harnwegsinfektion									
E. coli	27,8	27,2	26,6	25,1	28,3	35,4	n.a.	25,8	22,5
Enterococcus	26,5	27,4	27,6	26,3	27,6	22,8	n.a.	25,5	14,9
P. aeruginosa	14,2	14,8	14,7	11,2	15,2	13,2	n.a.	13,6	12,2
Candida albicans* ¹	8,7	7,0	10,0	12,5	7,8	4,7	n.a.	10,4	6,3
Klebsiella spp.	8,1	8,0	8,5	7,2	7,8	9,2	n.a.	9,3	9,5
Enterobacter spp.	5,0	4,9	5,2	3,3	4,9	7,3	n.a.	4,3	7,7

*¹ als alleiniger Erreger, KNS, Koagulase-negative Staphylokokken, n.a., keine Werte angegeben, da unzureichende Datenmenge (< 100 Infektionen)

Abbildung 3-2: Nosokomiale Infektionen und multiresistente Erreger in Deutschland: Epidemiologische Daten aus dem Krankenhaus-Infektions-Surveillance-System
Quelle: Geffers, Christine; Gastmeier, Petra Ärzteblatt, 2011

Nach der letzten Statistik des Robert Koch Instituts (im weiteren RKI genannt) aus dem Jahr 2010 beträgt in Deutschland die Rate an nosokomialen Infektionen zwischen vier und fünf Prozent. In Europa sogar bis zu neun Prozent. Das entspricht bei einer Patientenmenge von 17,5 Mio. zwischen 700.000 bis 875.000 nosokomialen Infektionen in Deutschland. Nach dem Europäischen KISS (Krankenhaus Infektion Surveillance System), mit dem das RKI eng zusammenarbeitet, besteht in Deutschland hierbei eine Sterberate von einem Prozent der nosokomial infizierten Patienten. Die zusätzlichen Kosten, die durch diese Infektionen entstehen, werden auf ca. zwei Milliarden Euro geschätzt. Diese Zahl ist im Verhältnis zu anderen Ländern Europas noch gering, wobei mindestens 33 % der nosokomialen Infektionen vermieden werden könnten. [Mielke, M.; Werner, G.; Pfeiffer, Y.; Witte, W., 2011]

In Krankenhäusern werden, um die Keimzahl im Wassersystem möglichst gering zu halten, aufwendige Desinfektionsanlagen integriert. Auf IMC⁹ und ICU¹⁰ werden spezielle Membransysteme in Wasserhähne integriert, um den Austritt von Pseudomonaden und Legionellen in die Raumluft und zu Personal und Patienten zu verhindern. Die Filter müssen aber in gewissen Abständen ausgetauscht werden. Aufgrund des hohen Aufwandes können solche Vorrichtungen nicht im ganzen Krankenhaus angebracht werden. Daher ist die Verkeimung durch wasserbedingte Erreger im Krankenhaus immer noch ein großes Problem. Die Bakterien bauen über Plasmidbrücken Bindungen zu anderen Bakterien auf und können Antibiotikaresistenzen durch Austausch ihrer Ring-DNA entwickeln. Somit ist es wichtig, die Stationen im Krankenhaus möglichst keimfrei zu halten. Trotz dieser Maßnahmen wie der Filterinstallation zur Verminderung der Keimpopulation kommt es in Krankenhäusern immer wieder zu Infektionen durch Mikroorganismen, die über das Wasser übertragen werden. Dies wird in der folgenden Statistik aus dem Jahr 2008 deutlich. Hier werden nosokomiale Infektionen durch einen Bakterienstamm der Legionellen übertragen. Legionellen nisten sich dabei bevorzugt in einem feuchten Milieu ein und verursachen somit nicht selten schwer verlaufende Lungenentzündungen. [Centers for Disease Control and Prevention, 2011]

⁹ Eine im Krankenhaus genutzte Station zwischen Intensiv- und Pflegestation mit verstärkter Überwachung

¹⁰ Intensivstation zur Behandlung Schwerstverletzter, die einer ständigen Überwachung bedürfen

Tabelle 3-1 durch Wasserkeime bedingte Nosokomiale Infektionen.

TABLE 5. Waterborne disease outbreaks associated with drinking water (n = 16), by state/jurisdiction — Waterborne Disease and Outbreak Surveillance System, United States, 2008										
State/ Jurisdiction	Month	Class *	Etiology	Predominant illness†	No. of cases [deaths] (n = 1,672 [3]§)		Type of system ¶	Deficiency **	Water source	Setting
Georgia	Sep	III	<i>Legionella pneumophila</i> serogroup 1	ARI	6	—	Com	5A	Reservoir	Hospital/Health-care facility
Illinois	Jun	III	<i>L. pneumophila</i> serogroup 1	ARI	4	—	Com	5A	Well	Hospital/Health-care facility
New Jersey	Aug	III	<i>L. pneumophila</i> serogroup 1	ARI	9	—	Com	5A	Reservoir	Hospital/Health-care facility

Abbreviations: AGI = acute gastrointestinal illness, ARI = acute respiratory illness; Hep = hepatitis; Com = community; Ncom = noncommunity; Ind = individual; Bottle = commercially bottled water. On the basis of epidemiologic, clinical laboratory, and environmental data (e.g., water quality data) provided to CDC.

The category of illness reported by ≥50% of ill respondents.

Deaths are included in the overall case count.

Community and noncommunity water systems are public water systems that have ≥15 service connections or serve an average of ≥25 residents for ≥60 days/year. A community water system serves year-round residents of a community, subdivision, or mobile home park. A noncommunity water system serves an institution, industry, camp, park, hotel, or business and can be nontransient or transient. Nontransient systems serve ≥25 of the same persons for >6 months of the year but not year-round (e.g., factories or schools) whereas transient systems provide water to places in which persons do not remain for long periods of time (e.g., restaurants, highway rest stations, and parks). Individual water systems are small systems not owned or operated by a water utility that have <15 connections or serve <25 persons.

¶ Deficiency classification for drinking water, water not intended for drinking (excluding recreational water), and water of unknown intent (see Table 2).

† Six of nine stool specimens tested positive for *Providencia*. Extensive testing concluded that stool specimens were negative for *Salmonella*, *Shigella*, *Campylobacter*, *Escherichia coli*, ova and parasites, and norovirus.

§ No deaths were reported.

Quelle 1: Auszug aus **Centers for Disease Control and Prevention: Surveillance for Waterborne Disease Outbreaks and Other Health Events Associated with Recreational Water — United States, 2007–2008 and Surveillance for Waterborne Disease Outbreaks Associated with Drinking Water — United States, 2007–2008**
Morbidity and Mortality Weekly Report September 23, 2011, Page 46

3.3 Das Verfahren der PEF-Technologie

Um die oben beschriebenen Verkeimungen zu vermindern, wird mit wachsenden Erfolg versucht, einen Weg zu finden, das Problem effektiv zu lösen. Dieses soll im folgenden Abschnitt dargestellt werden und ein vielversprechendes Verfahren, PEF-Technologie, betrachtet werden.

3.3.1 Physikalische Grundlagen der PEF-Technologie

Die Pulsed Electric Field Technologie ist ein Verfahren, das ein Hochspannungsfeld mit einer definierten Impulsamplitude, Anstiegszeit, Impulsdauer und Pulsrate erzeugt. Dabei ist die zentrale physikalische Wirkgröße die elektrische Spannung. Welchen Einfluss das Verfahren auf die Mikroorganismen hat, wird im Verlauf dieses Abschnittes erläutert. Hierbei wird genauer auf das Verfahren der Bakterienabtötung mittels der Einspeisung von Wasser in einem Hochspannungsfeld in einem Kondensator eingegangen. Um dies zu verdeutlichen, müssen allerdings noch einige Grundlagen erläutert werden.

Als elektrische Spannung U mit der Einheit V [Volt] wird die Kraft verstanden, die es schafft einen Strom I mit der Einheit A [Ampere] durch einen elektrischen Leiter, der einen Widerstand R mit der Einheit Ω [Ohm] besitzt, fließen zu lassen. Da Spannung und Strom in direktem Zusammenhang stehen, ist auch der Strom ein entscheidender Faktor für die PEF. Der Strom definiert sich dabei aus der elektrischen Ladung Q [Einheit C, Coulomb], welche bei anliegender Spannung fließt. Die Zusammenhänge werden anhand der folgenden Formeln verdeutlicht. [Paus, Hans J., 2002; Fischer, Tilo; Dorn, Hans-Jerg, 2006]

Elektrische Spannung:
$$U = R * I [V = \Omega * A] \quad (1.1)$$

Elektrische Ladung:
$$Q = C * U [C = VAs] \quad (1.2)$$

Um auf die nötige Spannung für diese Technologie zu kommen, muss die elektrische Feldstärke für einen Kondensator bestimmt werden. Zur Vereinfachung der Berechnung der Feldstärke und der späteren Konstruktion wird ein Plattenkondensator angenommen. Die Feldstärke ergibt sich aus der Ladung, sowie dem Einfluss der elektrischen Feldkonstante ϵ_0 , der Dielektrizitätszahl ϵ_r und der Fläche einer Kondensatorplatte A. [Paus, Hans J., 2002; Fischer, Tilo; Dorn, Hans-Jerg, 2006]

Elektrische Feldstärke:

$$E = \frac{Q}{\epsilon_0 * \epsilon_r * A} \text{ [Vm}^{-1}\text{]} \quad (1.3)$$

Die Kapazität eines Plattenkondensators ergibt sich hierbei aus dem Produkt der elektrischen Feldkonstante, der Dielektrizitätszahl und der Fläche einer Kondensatorplatte in Abhängigkeit von dem Plattenabstand zueinander.

Kapazität eines Plattenkondensators:

$$C = \epsilon_0 * \epsilon_r * \frac{A}{d} \text{ [As]} \quad (1.4)$$

Um die Berechnung der Feldstärke abzuschließen, wird die Kapazität (Gleichung 1.4) in die elektrische Feldstärke eingesetzt (Gl.1.3).

$$E = \frac{\epsilon_0 * \epsilon_r * \frac{A}{d} * U}{\epsilon_0 * \epsilon_r * A} \text{ [Vm}^{-1}\text{]} \quad (1.5)$$

Abschließend bleibt für die elektrische Feldstärke in einem Plattenkondensator allein das Verhältnis der angelegten Plattenspannung zum Abstand der geladenen Platten zueinander (Gl.1.6).

$$E = \frac{U}{d} \quad (1.6)$$

3.3.2 Wirkungsmechanismen der PEF-Technologie

Die PEF-Technologie basiert auf dem Verfahren der Elektroporation. Hierbei werden Zellen Elektrizität ausgesetzt, um kurzzeitige Löcher in der Plasmamembran zu erzeugen und so DNA oder Substanzen in die Zelle einzuschleusen. [Campbell, Neil A.; Reece, Jane B.; Markl, Jürgen (Hrsg.), 2006]

Um die Wirkungsweise der PEF-Technologie zu verstehen, muss erst einmal der physiologische Hintergrund anhand von Bakterien verdeutlicht werden. Wie bereits erwähnt besitzen Bakterien eine elektrisch neutrale Zellwand. Dabei weisen diese Mikroorganismen, wie auch die menschlichen Zellen ein Membranpotenzial auf, welches durch eine Ionendifferenz zwischen dem intra- und extrazellulären Raum entsteht. Um eine zu große Differenz zu verhindern, gibt es sowohl aktive Carrier-Transporte als auch passive Diffusion. Diese aktiven Carrier sind Transmembranproteine, genannt Porine, die einen Austausch von Ionen durch die äußere Membran zulassen.

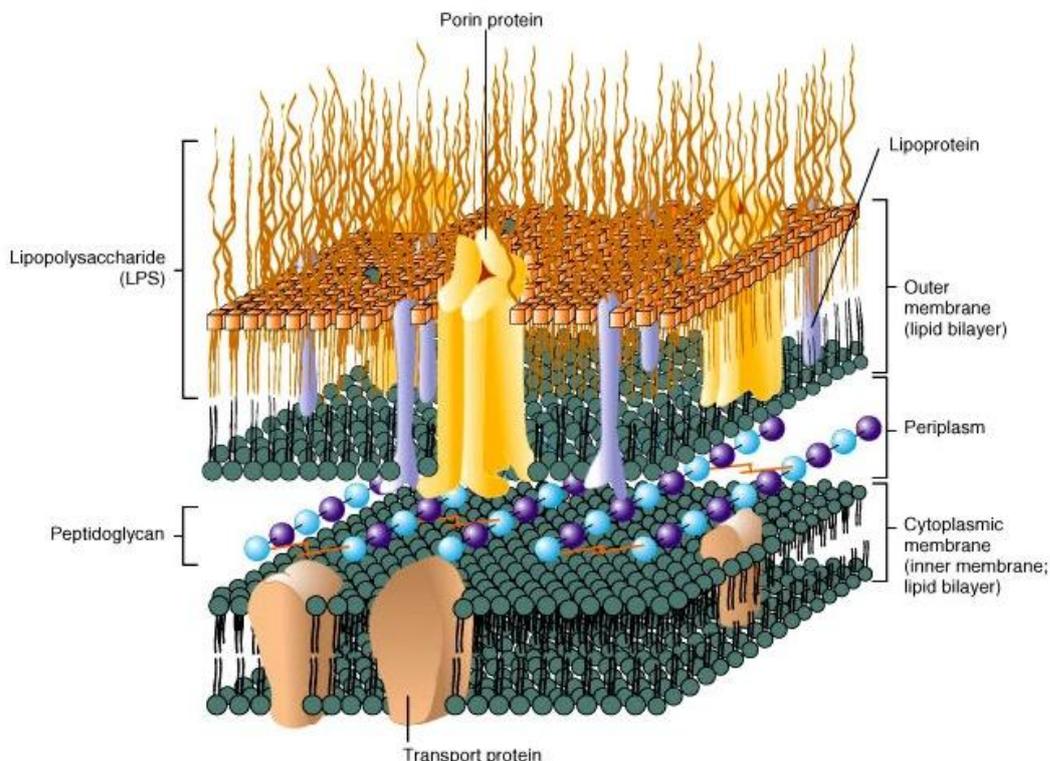


Abbildung 3-3: Struktureller Aufbau einer Bakterienmembran
Quelle: <http://www.fortunecity.com/skyscraper/isp/1924/BacteriumZellwand2.jpg>

Für die aktiven Transporte verwenden die Bakterien eine Vorstufe der tierischen Herstellung von ATP¹¹. Die Energiebereitstellung geschieht meist allerdings mittels eines anaeroben Prozess. Anstelle der beim Menschen genutzten Cl²⁻-Ionen, werden bei den Bakterien negativ geladene Aminosäuren und Phosphatreste transportiert. K⁺-Ionen spielen genau wie bei menschlichen Zellen eine zentrale Rolle. Das Membranpotential der Bakterien liegt bei ca. -150 mV. [Cypionka Heribert, 2005]

Im Vergleich dazu liegt das Ruhemembranpotential beim Menschen bei ca. -80 mV. Diese Differenz in der Ionenkonzentration kann bei der PEF-Technologie genutzt werden. Durch das Anlegen der Hochspannung wird eine Kraft auf die Zellen ausgeübt. Dies begünstigt den Ionenfluss des ionenreichen inneren Zytoplasmas aus dem intra- in den extrazellulären Raum durch die Phospholipid-Doppelschicht. Durch die stark ansteigende Spannung sollen explosionsartig die negativen Ionen aus der Zelle gezogen werden. Bei Erreichen des kritischen Wertes der Kraft, die auf die Hüllstruktur wirkt, kommt es zu irreversibler Porenweitung. [Bluhm, H.; Frey, W.; Gusbeth, C.; Sack, M.; Schultheiss, C., IHM, 2003]

Die Membranstruktur ist nachhaltig geschädigt. Ohne die intakte Membran tritt das Zytoplasma aus und ein Überleben der Zelle ist nicht mehr möglich, so dass diese schließlich inaktiviert bzw. abgetötet wird.

Um Zellen gezielt inaktivieren bzw. abtöten zu können, gilt es verschiedene Faktoren zu beachten, die die erforderliche Feldstärke beeinflussen. Ein entscheidender Punkt ist die isolierende Zellwanddicke. Je dicker die Wand ist, umso stärker isoliert diese. Daraus folgt auch eine Zunahme der Stabilität, bis der kritische Kraftwert, der auf sie einwirken kann, erreicht ist. Auch die Form des Organismus ist ein Kriterium. Wie bereits erwähnt, gibt es Kugel-, Stab- und andere Bakterienformen. Der Zusammenhang der genannten Einflussfaktoren (Zellwanddicke und Form) wird in der folgenden Grafik und den folgenden Formeln verdeutlicht. [Bluhm, H.; Frey, W.; Gusbeth, C.; Sack, M.; Schultheiss, C., IHM, 2003]

¹¹ Adenosintriphosphat ist ein Energiespeicher, welcher in der Zelle umgewandelt wird. Adenosintriphosphat → Adenosindiphosphat + Phosphat + Energie

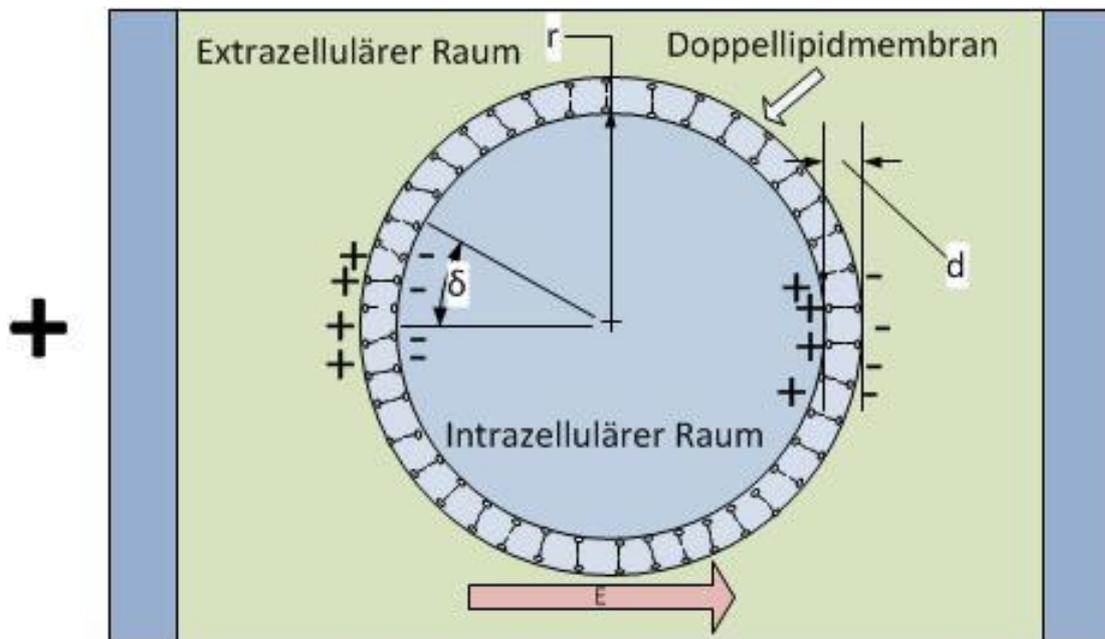


Abbildung 3-4: Bakterienzelle im Kondensator mit angelegter Spannung

Nach T. Grahl und H. Markl ist der Winkel δ zwischen dem horizontalen und vertikalen Punkt des Bakteriums, in dem die Ionen angezogen werden, entscheidend. Die folgende Formel gibt an, wie viel der angelegten Spannung tatsächlich auf das Bakterium wirkt (γ). Dabei steht E_{Mem} für die, durch das elektrische Feld an der Innenseite der Membran anliegende Kraft und $E_{ext.}$ für die an der Membranaussenseite anliegende Kraft.

$$\gamma = \frac{E_{Mem}}{E_{ext}} = \frac{F \cdot r \cdot \cos(\delta)}{d} = \frac{1,5 \cdot r \cdot \cos(\delta)}{d} \quad (1.7)$$

Die Form der Bakterien wird durch einen Vorfaktor (F), hier eineinhalb, berücksichtigt. [Blum H., Frey W., Gusbeth C., Sack M., Schultheiss C., IHM, 2003]

Die Variable F ergibt sich aus der Länge eines Bakteriums (l) sowie einem definierten Faktor und dem Radius der Zelle (r). Somit erhält man für die Variable F folgende Gleichung.

$$F = \frac{l}{l - 0,67 \cdot r} \quad (1.8)$$

Dabei wird die Länge der Bakterien wie folgt berechnet. Hierbei wird zwischen Kugel und Stabbakterien unterschieden.

- Für kugelförmige Bakterien ist die Länge $l_{kugel} = 2 * r$ (1.9)
Es ergibt sich für F für alle Kugelbakterien ein Wert von ca. 1,5.

- Für stabförmige Bakterien ist die Länge $l_{stab} \gg 2 * r$ (1.10)
Bei Stabbakterien liegt der anzunehmende Faktorwert bei ca. 1.

Die genauen Zusammenhänge der Membranstruktur, Form und Gattung der Bakterien, sowie der Einfluss von Amplituden und Frequenzen der elektrischen Felder ist nicht ausreichend geklärt, um zum jetzigen Zeitpunkt eine Aussage über die Wirkungsweise und ihre Effektivität treffen zu können.

[T. Grahl H. Markl, 1995]

3.3.3 Technische Parameter für den Aufbau und die Umsetzung des PEF-Verfahrens

Über die Wahl der Spannungs- und Pulsdauergrößenordnung gibt es sehr unterschiedliche Ansätze. Sie liegen dabei in einem Feldstärkenbereich von ca. 10 bis 1.000 kVcm⁻¹ und einer Pulsdauern von 2 bis 55 µs. Alleine diese Variation der Parameter lässt die genaue Einstellung für die späteren Versuche vermuten.

Bei der Frage der einzustellenden Wiederholungsfrequenz ist zu diesem Zeitpunkt keine Aussage zu treffen. Dies ist bei der Konstruktion also rein von den technischen Gegebenheiten, u.a. der Repetitionszeit, abhängig. Folgend sind einige Beispiele mit erfolgreichen Versuchen zur Desinfektion mittels PEF aufgeführt.

Bei Versuchen mit Feldstäken in dem Bereich von 10 kVcm⁻¹ bis 80 kVcm⁻¹ sind mehrere Log-Stufen an Desinfektionswirksamkeit zu erkennen. [Gustavo V. Barbosa-Cánovas, 2009]

Es wird von einer Desinfektion gesprochen, wenn Keime in der Größenordnung von 99,999% abgetötet werden. Dies entspricht auf einer logarithmischen Skala einem Wert von fünf.

Ein Bericht aus dem Jahr 2006 der Food Science Australia zeigt bei Versuchen mittels der PEF-Technologie und Feldstärken von 40 kVcm^{-1} eine Reduzierung der Bakterienzahl um sechs Log-Stufen und bei Veränderung der Frequenzen sogar um neun Log-Stufen. [FOOD Science Australia, 2006]

In einer Veröffentlichung von Grahl und H. Markl werden positive Ergebnisse der Desinfektion mittels PEF berichtet. Bei der Behandlung von Milch mit einem Fettgehalt von 1,5 % mittels PEF-Technologie werden bei 23 kVcm^{-1} mehr als vier Log-Stufen der Keimreduzierung von E.coli Bakterien registriert. [T. Grahl; H. Markl, 1995]

J. Peter Clark berichtet in seinem Artikel in der Zeitschrift „foodtechnology“, dass Feldstärken zwischen 15 und 35 kVcm^{-1} zum Absterben pathogener Keime zweckmäßig sind. Hierbei werden bei den Versuchen in liquidem Milieu über fünf Log-Stufen erzielt. [Clark, J.Peter, foodtechnology01/2006]

In einer Dissertation von Siquan Li aus dem Jahr 2003 an der Ohio State University ist mit der Feldstärke von $34,2 \text{ kVcm}^{-1}$ und einer Pulsdauer von $54 \mu\text{s}$ eine Reduzierung um drei Log-Stufen positiv zu befunden. Auch hier ist der Bereich von 30 bis 40 kVcm^{-1} zu erkennen, um eine Desinfektion zu erzielen. [Siquan LI, M.S., 2003]

Auf ihrer Website gibt die FDA an, dass eine Reduzierung von drei bis vier Log-Stufen bei 32 kVcm^{-1} und einem exponentiellen Absterben von Mikroorganismen in Milch bei der Behandlung mittels PEF mit 40 kVcm^{-1} mit einer Behandlungszeit von zwei μs und 30 Pulsen möglich ist.

[FDA U.S. Food and Drug Administration, 2011]

Nur in einer Veröffentlichung des Forschungszentrums in Karlsruhe aus dem Jahr 2003 werden höhere Feldstärken für die Desinfektion von Mikroorganismen angegeben. Hierbei wird über eine Größenordnung von $0,1$ bis 10 MVm^{-1} mit Pulsdauern im Bereich von zehn ns bis zehn μs berichtet. [Bluhm, H.; Frey, W.; Gusbeth, C.; Sack, M.; Schultheiss, C., IHM, 2003]

Aus allen Daten über die bisher durchgeführten Versuche zum PEF-Verfahren geht hervor, dass es notwendig ist, Feldstärken weit über 10 kVcm^{-1} zu benutzen. Um die

Funktionalität des Versuchsaufbaus sicherstellen zu können, ist es wichtig, diese Feldstärkengrenze bei der Konzeptionierung zu berücksichtigen.

Um diese Feldstärken zu erreichen, wird als erstes ein gepulstes Signal benötigt. Dieses muss einen möglichst direkten und damit einhergehend intensitätsstarken Anstieg der Spannung in der Flüssigkeit hervorrufen. Hierfür ist ein rect-Puls (Rechteckimpuls) am geeignetsten. Für das Erzeugen eines rect-Signals ist ein entsprechendes Triggermodul notwendig, welches diese Anforderungen erfüllt und das Signal ausgibt. Idealerweise ist über das Modul ein externes, frequenzabhängiges Signal zu steuern. Desweiteren muss das Spannungssignal, bevor es die nötige Intensität hat, mittels einer Spule verstärkt werden. Dabei sind die möglichen Spannungsabfälle durch Widerstände im Aufbau und System zu berücksichtigen. Um das gepulste Hochspannungssignal zu verwenden, ist ein Kondensator notwendig, auf den das Signal gelegt werden kann.

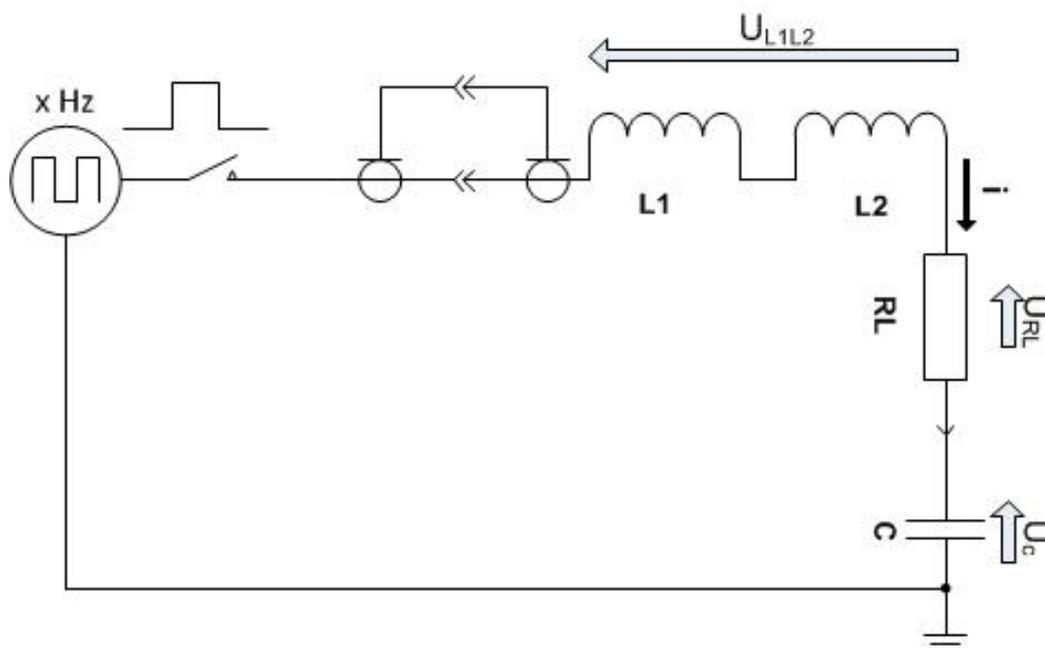


Abbildung 3-5: Elektronisches Schema der PEF

Wie in der Abbildung 3-5: Elektronisches Schema der PEF zu sehen, ist der Aufbau nicht komplex. Allerdings müssen die technischen Parameter für die spätere Konstruktion eingehalten werden. Um ein möglichst unverfälschtes Signal auf den Kondensator zu bekommen, muss darauf geachtet werden, dass das rect-Signal möglichst unverzerrt bleibt. Dies ist durch eine Übertragung mittels Koaxialkabel möglich.

3.4 Vor- und Nachteile der PEF-Technologie im Vergleich zu anderen Desinfektionsverfahren

Wie im vorherigen Unterkapitel beschrieben, ist anhand der bisherigen Versuchsergebnisse zu erkennen, dass mit der PEF-Technologie ein Desinfektionsgrad von fünf Log-Stufen erreicht und auch übertroffen werden kann. Diese Grundvoraussetzung macht es möglich, diese Technologie mit anderen anerkannten Desinfektionsverfahren vergleichen zu können. Ein entscheidender Vorteil für die PEF-Technologie ist die sehr kurze Behandlungsdauer, um ein Medium zu desinfizieren. Einziger Nachteil des Verfahrens ist, dass es noch nicht ausreichend erforscht ist.

Im direkten Vergleich zu den herkömmlichen, meist thermologischen oder auch chemischen Verfahren ist der Aufwand, der betrieben werden muss, um eine Desinfektion zu erreichen, wesentlich geringer. Desweiteren ist bisher keine Bildung von Toxinen oder anderen gesundheitsschädlichen Stoffen bei der Behandlung mittels PEF bekannt. Im Gegensatz zur Desinfektion mit Chlor oder Ozon treten bei der Desinfektion mit PEF keine gesundheitsbedenkliche Nebenprodukte auf. Daher sind auch keine Stoffe wie Anthrazit nötig, um solche Nebenprodukte zu binden. Die mit dem Zusatz von Stoffen verbundene mögliche Verfärbung und Veränderung des Desinfektionsguts entfällt somit ebenfalls. Das Problem hoher Temperaturen bei thermischen Verfahren lässt diese Desinfektion in der medizinischen Anwendung nur bedingt zu. Bei der PEF-Technologie ist bisher nicht bekannt, dass es zu solch einer kritischen Wärmeentwicklung kommt.

Die Desinfektion mit UV-Strahlung ist sehr anlagenspezifisch und punktuell. Desweiteren benötigt die UV-Desinfektion einen höheren Zeitaufwand und ist bisher auch nur mit Quecksilber-Niederdrucklampen möglich. Diese müssen oft getauscht werden, da sie einen alterungsspezifischen Leistungsverlust aufweisen und ein Großteil der eingesetzten Energie in Wärme umwandeln. Die PEF-Technologie ist dem gegenüber, wenn richtig eingestellt, wartungsfrei. Der genau benötigte Energieaufwand muss noch in weiteren Studien belegt werden. Weitere Vorteile der PEF-Technologie sind eine einfache Realisierbarkeit und die Behandlung großer Flüssigkeitsmengen in kurzer Zeit. Daher ist sie für die Behandlung von fließenden Medien geeignet. [Umweltbundesamt, 2011]

Tabelle 3-2: Desinfektionsverfahren nach §11 der Trinkwasserverordnung 2001 Teil II

Teil II: Desinfektionsverfahren					
Desinfektionsverfahren 1)	Verwendungszweck	Technische Regeln	Mindesteinwirkdauer	Anforderungen an das Verfahren	Bemerkungen
UV-Bestrahlung (240-290 nm)	Desinfektion	DVGW-Arbeitsblatt W 294-1, W 294-2 und W 294-3	Anlagenspezifisch	Es sind nur UV-Desinfektionsgeräte zulässig, für die nach DVGW W294-2 (A) eine Desinfektionswirksamkeit von mindestens 400 Joule/m ² (bezogen auf 254 nm) erfolgreich nachgewiesen wurde. Die für das jeweilige Gerät im Prüfbericht sowie im DVGW Zertifikat angegebenen Betriebskennwerte (max. Durchfluss und zugehörige Mindestbestrahlungssstärke) sind im Betrieb einzuhalten.	Bis zum 30.06.2012 dürfen nicht zertifizierte UV-Desinfektionsgeräte weiter verwendet werden, a) wenn deren Desinfektionswirkung hilfsweise durch eine Einzelprüfung nachgewiesen wurde b) oder UV-Desinfektionsgeräte in Kleinanlagen gemäß § 3 TrinkwV 2001 ohne Trinkwasserabgabe an Dritte mit Zustimmung der zuständigen Behörde. Die zuständige Behörde legt den erforderlichen mikrobiologischen Untersuchungsumfang fest.— Das Desinfektionsverfahren ist nicht anwendbar für die Aufrechterhaltung einer Desinfektionskapazität im Verteilungsnetz ²⁾ .
Dosierung von Chlorgaslösungen	Desinfektion	DVGW-Arbeitsblätter W 296, W 623,		Einsatz erweiterter Vakuumchlorgasdosieranlagen	Bei Einsatz des Verfahrens außerhalb des Wasserwerkes ist auf die Einhaltung des Grenzwertes für Trihalogenmethane (THM) beim Verbraucher zu achten.
Dosierung von Natrium- und Calciumhypochlorit-Lösung	Desinfektion	DVGW-Arbeitsblätter W 296, W 623,			Bei Einsatz des Verfahrens außerhalb des Wasserwerkes ist auf die Einhaltung des Grenzwertes für Trihalogenmethane (THM) beim Verbraucher zu achten.
Elektrolytische Herstellung und Dosierung von Chlor vor Ort	Desinfektion	DVGW-Arbeitsblätter W 296, W 623, W 229			Bei Einsatz des Verfahrens außerhalb des Wasserwerkes ist auf die Einhaltung des Grenzwertes für Trihalogenmethane (THM) beim Verbraucher zu achten.
Dosierung einer vor Ort hergestellten Chlordioxidlösung	Desinfektion	DVGW-Arbeitsblätter W 224 und W 624			
Erzeugung und Dosierung von Ozon und Ozonlösung vor Ort	Desinfektion, Oxidation	DVGW-Arbeitsblätter W 225, W 296, W 625			Bei Einsatz des Verfahrens außerhalb des Wasserwerkes ist auf die Einhaltung des Grenzwertes für Trihalogenmethane (THM) beim Verbraucher zu achten.

					Das Desinfektionsverfahren ist nicht anwendbar für die Aufrechterhaltung einer Desinfektionskapazität im Verteilungsnetz. ²⁾
--	--	--	--	--	---

Legende:

1) Bei Einsatz der Verfahren für die Desinfektion von Oberflächenwasser oder von durch Oberflächenwasser beeinflusstem Wasser ist auf eine weitestgehende Partikelabtrennung vor der Desinfektion zu achten. Dabei sind Trübungswerte im Ablauf der partikelabtrennenden Stufe im Bereich von 0,1 - 0,2 FNU anzustreben, wenn möglich zu unterschreiten. Auf die Mitteilung des Umweltbundesamtes: "Anforderungen an die Aufbereitung von Oberflächenwässern zu Trinkwasser im Hinblick auf die Eliminierung von Parasiten" (veröffentlicht im Bundesgesundheitsblatt 12/97) wird ausdrücklich hingewiesen.

2) siehe TrinkwV 2001 § 5 Abs. 4

Quelle: Umweltbundesamt ,2011

Tabelle 3-3: Aufbereitungsstoffe, die zur Desinfektion des Wassers eingesetzt werden nach §11 der Trinkwasserverordnung2001 Teil Ic

Teil I c: Aufbereitungsstoffe, die zur Desinfektion des Wassers eingesetzt werden								
Stoffname	CAS-Nummer	EINECS-Nummer	Verwendungszweck	Reinheitsanforderungen	Zulässige Zugabe	Konzentrationsbereich nach Abschluss der Aufbereitung *)	zu beachtende Reaktionsprodukte	Bemerkungen
Calciumhypochlorit	7778-54-3	231-908-7	Desinfektion	DIN EN 900 Tab 1: Typ1	1,2 mg/L freies Cl ₂	max. 0,3 mg/L freies Cl ₂ min. 0,1 mg/L freies Cl ₂	Trihalogenmethane, Bromat	Zusatz bis zu 6 mg/L freies Cl ₂ und Gehalte bis 0,6 mg/L freies Cl ₂ nach der Aufbereitung bleiben außer Betracht, wenn anders die Desinfektion nicht gewährleistet werden kann oder wenn die Desinfektion zeitweise durch Ammonium beeinträchtigt wird.
Chlor	7782-50-5	231-959-5	Desinfektion, Herstellung von Chlordioxid	DIN EN 937 Tab 1 Bei Herstellung des Chlor nach dem Amalgam-Verfahren: Hg-Gehalt max. 0,1 mg/kg Cl ₂	1,2 mg/L freies Cl ₂	max. 0,3 mg/L freies Cl ₂ min. 0,1 mg/L freies Cl ₂	Trihalogenmethane	Zusatz bis zu 6 mg/L freies Cl ₂ und Gehalte bis 0,6 mg/L freies Cl ₂ nach der Aufbereitung bleiben außer Betracht, wenn anders die Desinfektion nicht gewährleistet werden kann oder wenn die Desinfektion zeitweise durch Ammonium beeinträchtigt wird.
Chlordioxid	10049-04-4	233-162-8	Desinfektion	DIN EN 12671 Nur Angaben zu den Ausgangsstoffen (EN 937, 938, 939, 12678, 12926)	0,4 mg/L ClO ₂	max. 0,2 mg/L ClO ₂ min. 0,05 mg/L ClO ₂	Chlorit	Ein Höchstwert für Chlorit von 0,2 mg/L ClO ₂ - nach Abschluss der Aufbereitung muss eingehalten werden. Der Wert für Chlorit gilt als eingehalten, wenn nicht mehr als 0,2 mg/L Chlordi-oxid zugegeben werden. Möglichkeit von Chlorat-bildung beachten.

Natriumhypochlorit	7681-52-9	231-668-3	Desinfektion	DIN EN 901 Tab 1: Typ 1 Grenzwert für Verunreinigungen mit Chlorat (NaClO ₃): < 5,4 % (m/m) des Aktivchlors	1,2 mg/L freies Cl ₂	max. 0,3 mg/L freies Cl ₂ min. 0,1 mg/L freies Cl ₂	Trihalogenmethane, Bromat	Zusatz bis zu 6 mg/L freies Cl ₂ und Gehalte bis 0,6 mg/L freies Cl ₂ nach der Aufbereitung bleiben außer Betracht, wenn anders die Desinfektion nicht gewährleistet werden kann oder wenn die Desinfektion zeitweise durch Ammonium beeinträchtigt wird.
Ozon	10028-15-6	233-069-2	Desinfektion, Oxidation	DIN EN 1278 Anhang A.3.2	10 mg/L O ₃	≤ 0,05 mg/L O ₃	Trihalogenmethane Bromat	Siehe auch Liste Teil I a

Legende:

*) Einschließlich der Gehalte vor der Aufbereitung und aus anderen Aufbereitungsschritten

CAS Chemical Abstracts Service Registry Number

EINECS European Inventory of Existing Commercial Chemical Substances

Quelle: Umweltbundesamt, 2011

4 Umsetzungsstudie zum PEF-Verfahren

Im folgenden Kapitel wird beschrieben, wie die Rahmenbedingungen für die PEF technisch umgesetzt und ein entsprechender Versuchsaufbau sowie eine entsprechende Küvette dimensioniert und konstruiert werden können.

4.1 Konzept und Konstruktion eines ersten Versuchsstandes

Aufgrund der hohen Spannungen ist bei dem Aufbau auf elektrische Abschirmung zu achten. Um die Sicherheit für Anwender und Dritte zu garantieren, bietet sich eine Konstruktion mit einem Faradayschen Käfig¹² an.

4.1.1 Technische Umsetzung der Halterung für die Desinfektionskammer

Für die Umsetzung einer Halterung, in der die Kammer eingebettet werden kann, wird ein Plexiglasaufbau verwendet. In diesen werden die Kondensatorplatten eingepasst. Eine der Halterungen inkl. Platte ist dabei mit PVC-Schrauben fest auf der Plexiglasplatte fixiert. Die zweite Platte kann variabel mit Schrauben befestigt werden. Später bietet sich dann die Möglichkeit, den Plattenabstand zu variieren, um mehr Volumen zu behandeln und den Einfluss der schwächer werdenden Feldstärke zu ermitteln. Auf der Oberseite der Platten befinden sich zwei Federstecker-Buchsen, so dass das Spannungssignal auf den Kondensator gegeben werden kann. Dieser Aufbau ist im Laufe des LUFU-IV/2-Projektes konzipiert und während dieser Arbeit optimiert und fertiggestellt worden. Der genaue Aufbau kann den folgenden Zeichnungen entnommen werden.

¹² Ist ein um einen elektrischen Leiter verteilter Schutzleiter (in diesem Fall ein Drahtgeflecht), welcher durch Influenz dafür sorgt, dass die Spannung auf der anderen Seite der Spannungsquelle feldfrei bleibt.

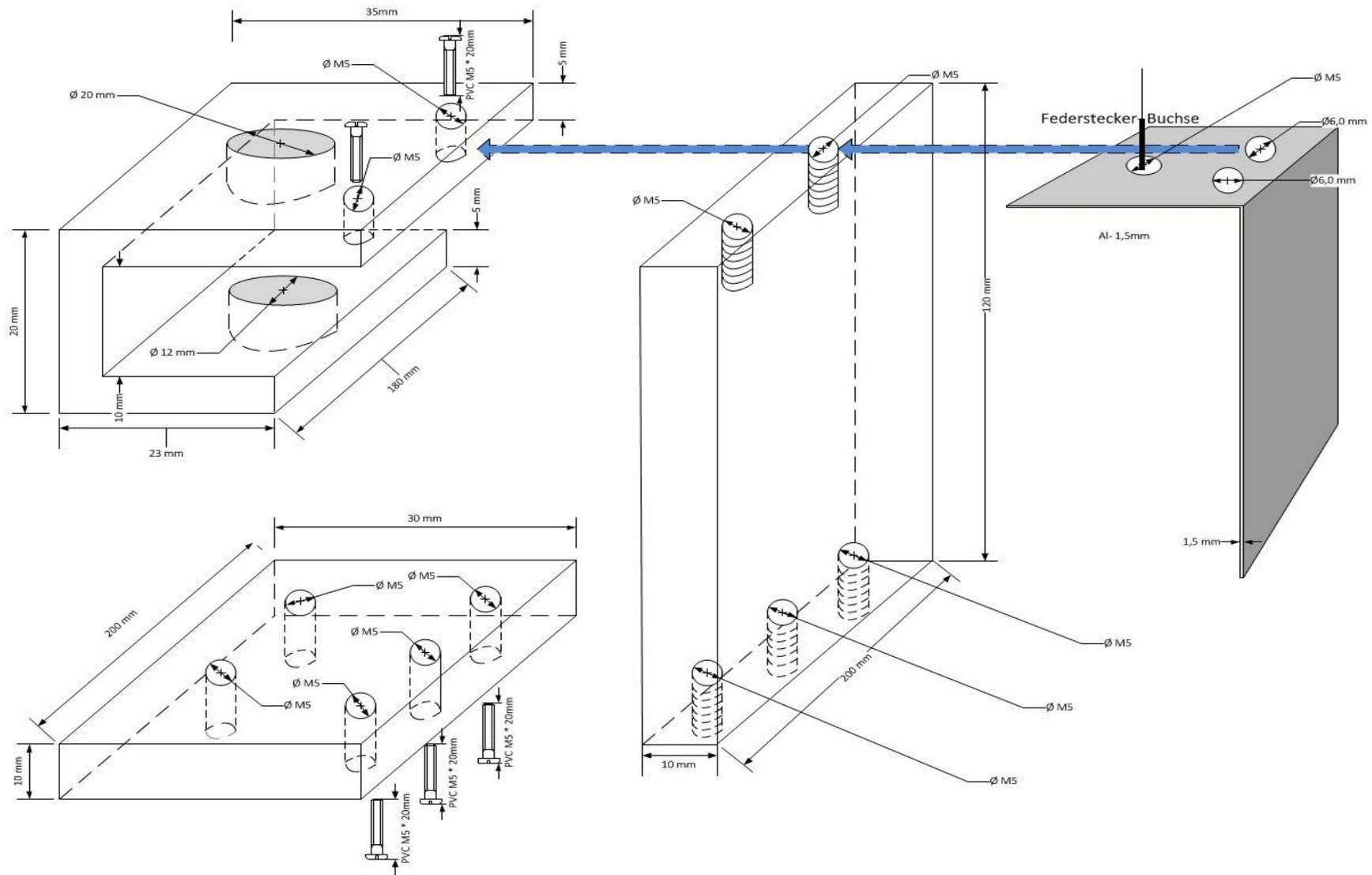


Abbildung 4-1: Aufbau der Seitenwände inkl. elektrischem Kontakt

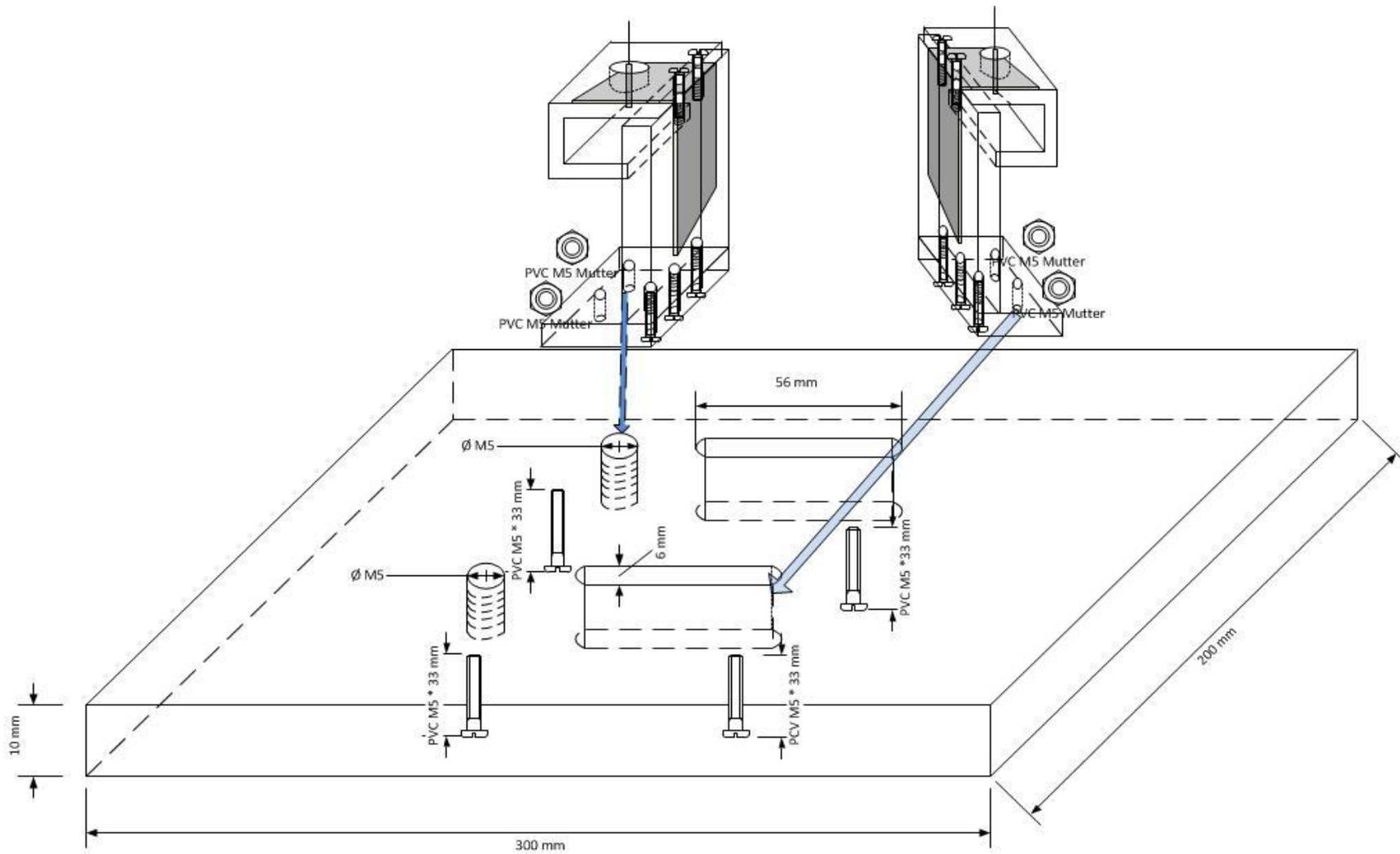


Abbildung 4-2: Gesamter Aufbau, in den die Küvette später eingelegt werden kann

4.1.2 Entwicklung der ersten statischen Küvette

Bei der Entwicklung der Küvette muss berücksichtigt werden, dass der Plattenabstand möglichst gering ist, damit eine hohe Feldstärke erreicht wird (siehe Formel 1.6). Desweiteren muss sie aus einem isolierenden Material bestehen, damit die Spannung aufrecht gehalten werden kann und kein Strom fließt. Somit bietet sich Plexiglas als geeignetes Küvettenmaterial an. Um Funkenüberschlag zwischen den Platten zu verhindern muss sie um einiges größer sein als die Fläche der Kondensatorplatten. Der erste Ansatz der Küvette mit zylindrischen Bohrungen einer sechs mm dicken Platte konnte technisch in der Werkstatt der HAW Life Sciences nicht umgesetzt werden. Somit ist die Küvette wie nachfolgend beschrieben konstruiert worden. Die Küvette besteht aus zwei Plexiglasplatten (mit einer Stärke von drei mm), in die jeweils drei U-Profile gefräst sind und die dann mit Silikon zusammengeklebt werden. So entstehen beim Verkleben drei Hohlkammern. Die Küvette muss nach dem Verkleben 48 h aushärten. Die Wahl von drei Kammern ermöglicht verschiedene Volumina bei einer Behandlung zu desinfizieren und die Ergebnisse zu vergleichen. In der folgenden Abbildung sind die Bemaßungen und die Kammern zu sehen. Dadurch bedingt, dass diese komplexen Problematiken erst während der Herstellung erkennbar wurden, erstanden während der Entwicklung einige Zeitverzögerungen.

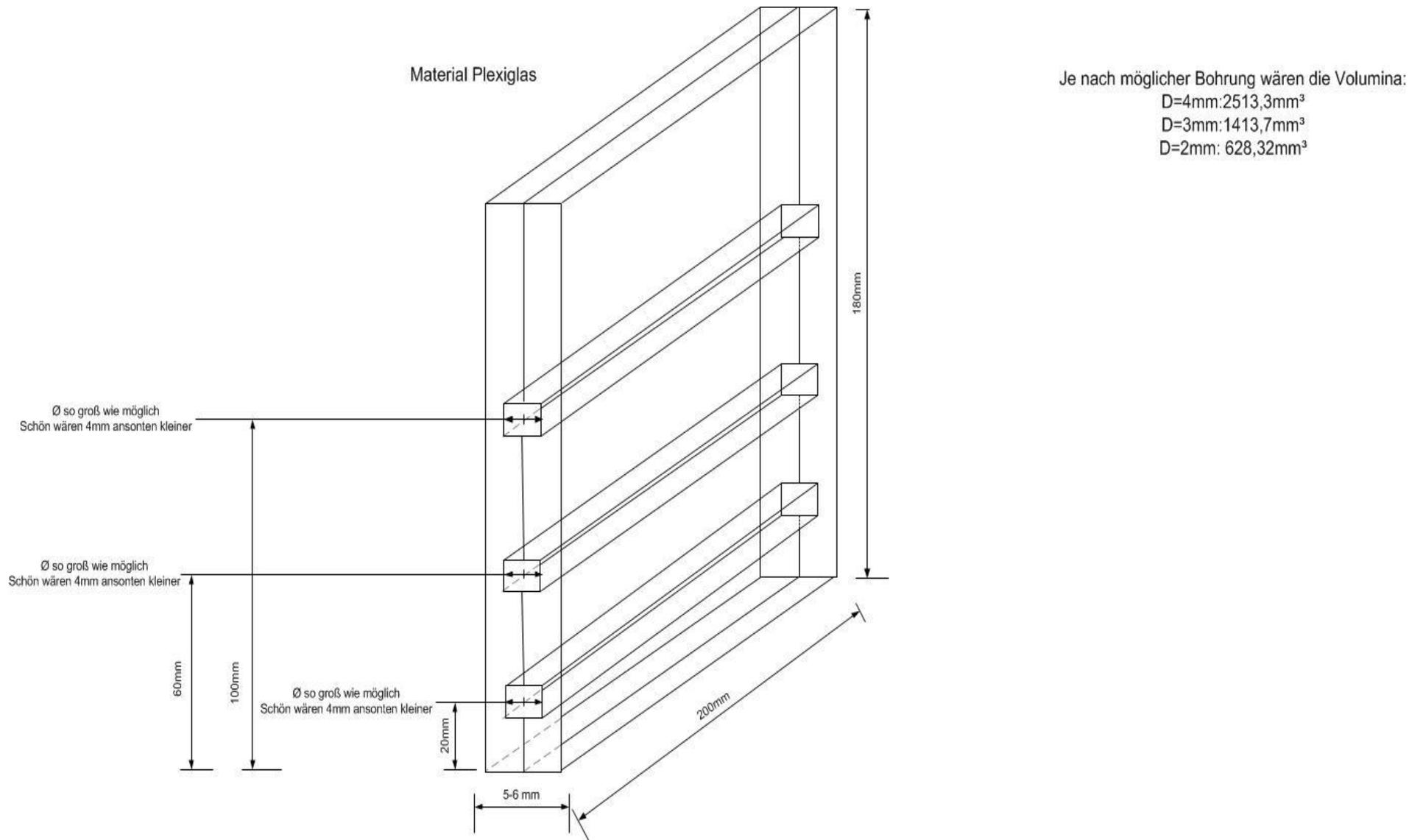


Abbildung 4-3: Technische Daten der Plexiglasküvette

4.1.3 Entwurf und Umsetzung des Versuchsaufbaus

Für den Versuchsaufbau wird eine PVC-Kiste mit Deckel mit den Maßen (39 x 28 x 28) cm verwendet. In den Deckel sind zunächst zwei Löcher der Größe M16 gestanzt und mit Kabelverschraubungen vom Typ ESKV M16 RAL 7001 zu versehen. Um diese Kiste wird ein engmaschiges Drahtgeflecht (sechseckig mit Maschenweite von 20mm) gespannt und mittels LOCTITE 4031-Klebstoff fixiert. Das Drahtgeflecht wird auch an die Deckeloberseite geklebt. Auf der Rückseite der Box wird das Drahtgeflecht des Deckels mit dem der Box fest zusammengefügt, so dass eine leitende Verbindung besteht. Auf den drei anderen Seiten sind mittels Drahtgeflecht Klappmechanismen gebaut, so dass ein geschlossenes System entsteht, das die Eigenschaften eines Faradayschen Käfigs aufweist. In die Box wird die Plattenkonstruktion mit der Kunststoffküvette eingelegt. Desweiteren ist in die Box auch eine Spule einzubringen. Damit die Spule keinen ungewollten Überschlag auf die Platten gibt, ist diese separat in einem 15 mm starken Plexiglastasten isoliert. In dem Kasten sind zudem zwei Öffnungen vorhanden, um die Leitungskabel durchzuführen zu können. Die Spule ist dabei mit den Kondensatorplatten zu verbinden. Für das Impulssignal wird ein Triggermodul mit der Bezeichnung (TRIGGER MODULE TNS 2403) verwendet. Der Ausgang des Moduls ist mit der Spule zu verbinden.

4.2 Vorversuche zur Feldstärkenbestimmung

Um sicher zu stellen, dass mit dem Versuchsaufbau die Feldstärken für die Versuche erreicht werden, sind einige Vorversuche notwendig. Hierbei werden die erforderlichen Parameter ermittelt. Dies soll im folgenden Abschnitt erläutert werden. Es werden die Feldstärken sowie die kapazitiven und induktiven Eigenschaften der Systemkomponenten erfasst.

4.2.1 Versuchsbeschreibung

Ziel des Versuches ist es, die Leistungen der elektrischen Feldstärke zwischen den Kondensatorplatten zu ermitteln, wenn diese mit einem Puls angesteuert werden. Es soll geprüft werden, ob der Plattenkondensator mit eingesetzter Küvette im Zusammenspiel mit der Spule eine ausreichende Hochspannung erzeugen kann. Diese ist nötig, um später mit dem Versuchsaufbau eine ausreichende Desinfektion bei der mit kontaminiertem Wasser gefüllten Küvette zu erzielen. Dazu wird im ersten Schritt die elektrische Feldstärke ermittelt, im zweiten Schritt werden später zusätzlich die Induktivitäten sowie die Kapazitäten der einzelnen Versuchsaufbauteile gemessen. Um eine eindeutigere Aussage treffen zu können, werden mehrere Pulse auf den Plattenkondensator gegeben und aus den Ergebnissen ein Mittelwert gebildet.

4.2.2 Verwendete Geräte und Materialien

Tabelle 4-1: Geräteliste für den Vorversuch

Geräteart	Model	Auflösung	Abweichung
PC (Medizintechniklabor der HAW Hamburg) & Oszilloskop Aufnahmesoftware	Software HAMEG HM 1008	8bit (25Pkt/Div)	
Oszilloskop	HAMEG HM1508	1GSA/s	Vertikal 3%
Funktionsgenerator	HAMEG 10MHz HM8030-6	bis 5 Hz Digit 5Hz...10MHz $5 \cdot 10^{-5}$ Digit	3%+3 Digit +1 Digit
LCR-Meter	HAMEG LCR Meter HM8018	0,001 pF 0,01µH	Grundgenauigkeit 2%
HV-Tastkopf	Tektronix P6015A		
Koaxial-Kabel + Stecker	BNC-Stecker		
Spule	-	-	
Plattenkondensator	Eigenkonstruktion	-	
Plexiglasküvette	Eigenkonstruktion siehe Zeichnung	-	

4.2.3 Versuchsaufbau und -durchführung

Bei der Bestimmung der elektrischen Feldstärke muss darauf geachtet werden, dass die Versuchsbox mit dem innen befindlichen Plattenkondensator sowie der Spule elektrisch nicht sicher ist, wenn das elektrische Feld erzeugt wird und die Box nicht geschlossen ist!

Da der Hochspannungstastkopf direkt an den Anschlüssen der Platten angebracht werden muss, ist es erforderlich, dass die Box offen ist. Somit ist es wichtig, dass während des Versuches ein ausreichender Sicherheitsabstand zur Box eingehalten wird. Zudem muss nach dem Versuch an die Entladung des Kondensators gedacht werden.

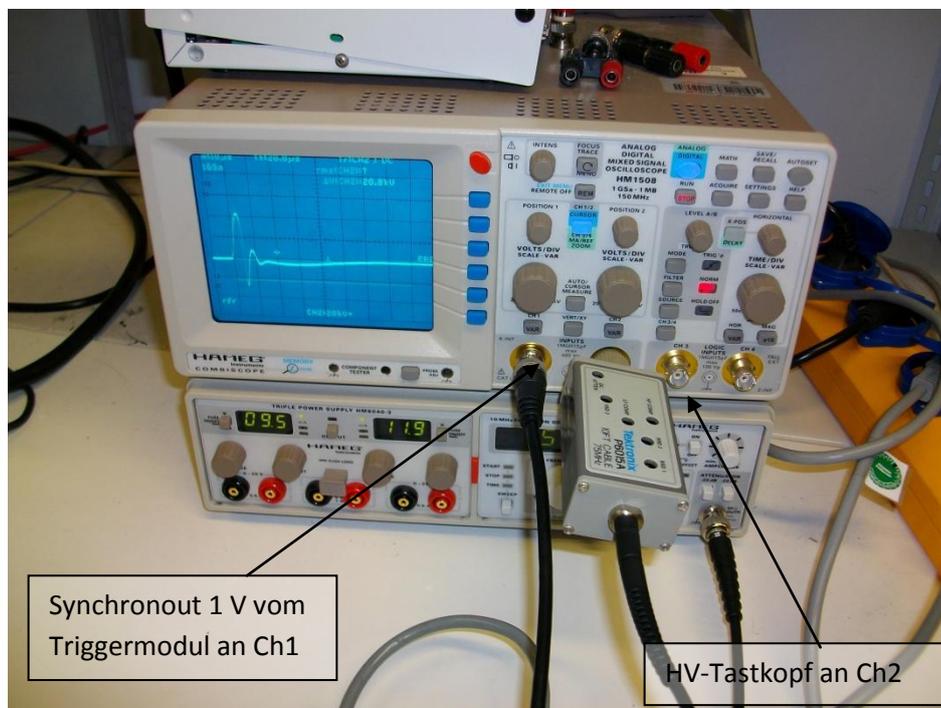


Abbildung 4-4: Oszilloskop mit angeschlossenen Tastkopf und Triggermodul

Als erstes wird der HV-Tastkopf zusammengesetzt und an die Kondensatorplatte angeschlossen. Der Tastkopf ist mittels des BNC-Adapters mit seiner eingebauten Elektronik an das Oszilloskop angeschlossen. Der Tastkopf und das Oszilloskop sind so konfiguriert, dass die Skalierung des Channels automatisch auf die Einheit [kV] geändert wird, wenn der BNC-Adapter des Hochspannungstastkopfes aufgeschraubt ist. (siehe Abbildung 4-4: Oszilloskop mit angeschlossenen Tastkopf und Triggermodul)

Das Triggermodul ist über den vorderen ein Volt-Ausgang mittels eines Koaxialkabels mit BNC-Stecker mit dem Oszilloskopeingang Channel 1 verbunden. Hierdurch wird das Impulssignal, das auf die Spule geht, von 500 V auf ein Volt reduziert dargestellt. Es zeigt eins zu eins den Verlauf des Impulses (Abbildung 4-4: Oszilloskop mit angeschlossenem Tastkopf und Triggermodul und Abbildung 4-5: Anschluss des Triggermoduls an das Oszilloskop HM1508).

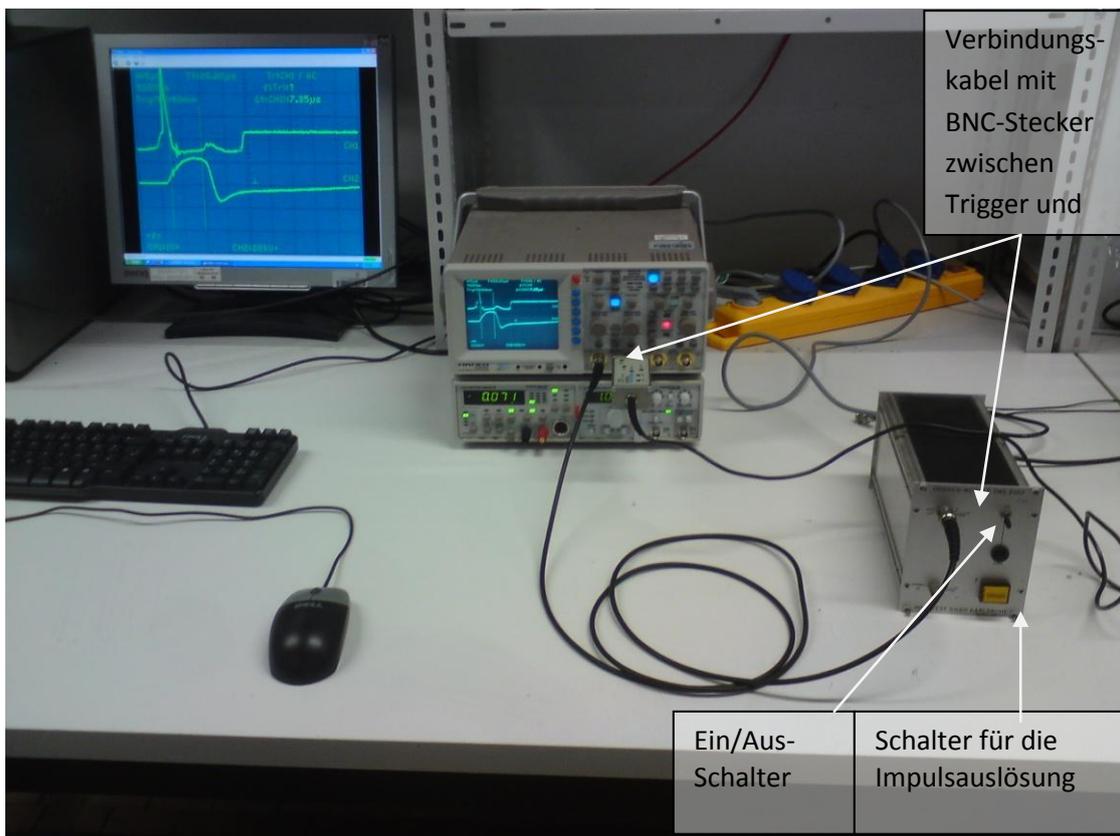


Abbildung 4-5: Anschluss des Triggermoduls an das Oszilloskop HM1508

Das Triggermodul ist mittels eines zweiten Koaxialkabels mit BNC-Stecker an den Spuleneingang angeschlossen. Dabei ist das Kabel aus Sicherheitsgründen über die Schraubkabeldurchführung aus der Box geführt. Der Ausgang für den 500 V-Impuls befindet sich auf der Rückseite der Triggermoduls, an der das Kabel mittels des BNC-Adapters fest angeschlossen ist (siehe Abbildung 4-6: Ansicht von oben in die Faradaysche Versuchsbox mit Spule, die an den Plattenkondensator mit eingelegter Küvette angeschlossen ist und Abbildung 4-7: Offene Versuchsbox mit angeschlossenem HV-Tastkopf zur Messung der elektrischen Feldstärke).

Auf der Rückseite des Triggermoduls befindet sich ein Erdungsausgang. Dieser ist, um einen Potentialausgleich zu gewährleisten, mit dem Drahtgitter der Versuchsbox verbunden.

Hierfür ist ein Zwei-Millimeter-Federstecker in den am Triggermodul vorgesehenen Ausgang eingesteckt und mit einer Klemme an der Rückseite des Drahtgestells fest konnektiert.

Nachdem das Triggemodul mit der Spule verbunden ist, wird diese mittels Federstecker an den Plattenkondensator gekoppelt. Hierbei ist der positive Ausgang der Spule mit der roten Federsteckerbuchse der ersten Kondensatorplatte verbunden. Analog dazu ist der Massenausgang der Spule mit der zweiten Kondensatorplatte (schwarze Federsteckerbuchse) verbunden (siehe Abbildung 4-6: Ansicht von oben in die Faradaysche Versuchsbox mit Spule, die an den Plattenkondensator mit eingelegter Küvette angeschlossen ist).

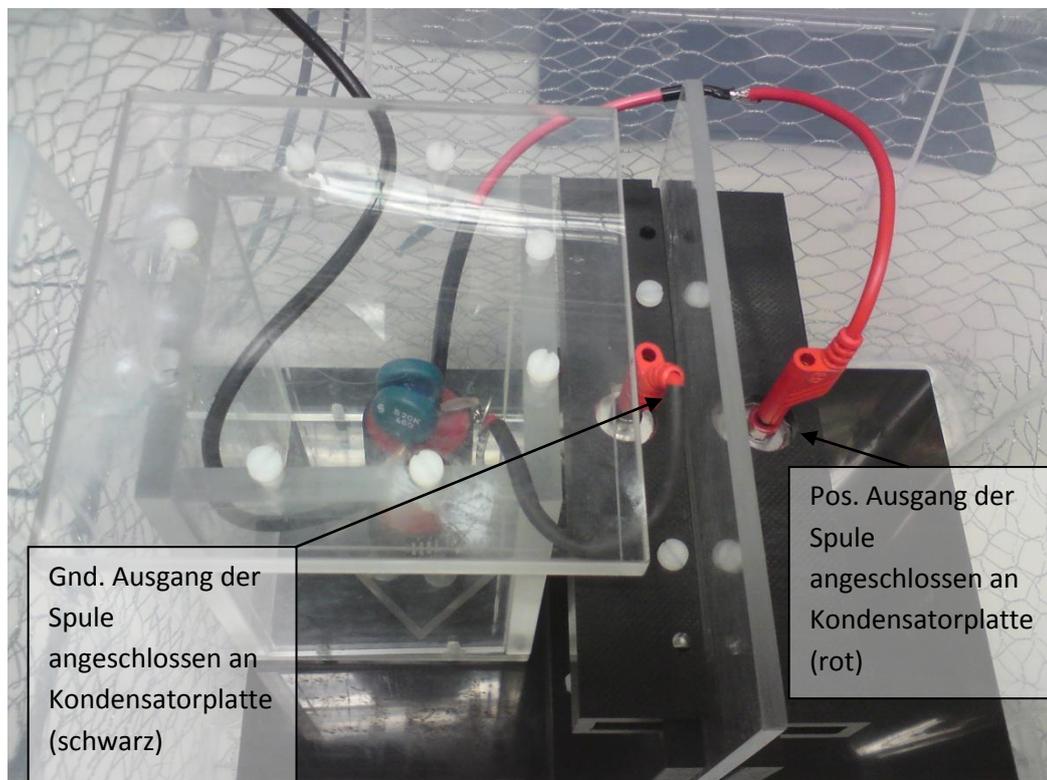


Abbildung 4-6: Ansicht von oben in die Faradaysche Versuchsbox mit Spule, die an den Plattenkondensator mit eingelegter Küvette angeschlossen ist

Der Hochspannungstastkopf ist parallel zu den Kondensatorplatten angeschlossen. Dabei ist der an der Spitze des HV-Tastkopfes befindliche Federstecker in die Buchse der positiv angeschlossenen Kondensatorplatte eingesteckt und die Erdungsklemme des HV-Tastkopfes mittels eines Federadapter mit der anderen Kondensatorplatte verbunden (siehe Abbildung 4-7: Offene Versuchsbox mit angeschlossenem HV-Tastkopf zur Messung der elektrischen Feldstärke).

Dabei wird der HV-Tastkopf seitlich abgestützt, damit keines der konstruktiven Bauteile und Teile des sensiblen Messinstrumentes durch mechanische Spannung beschädigt wird.

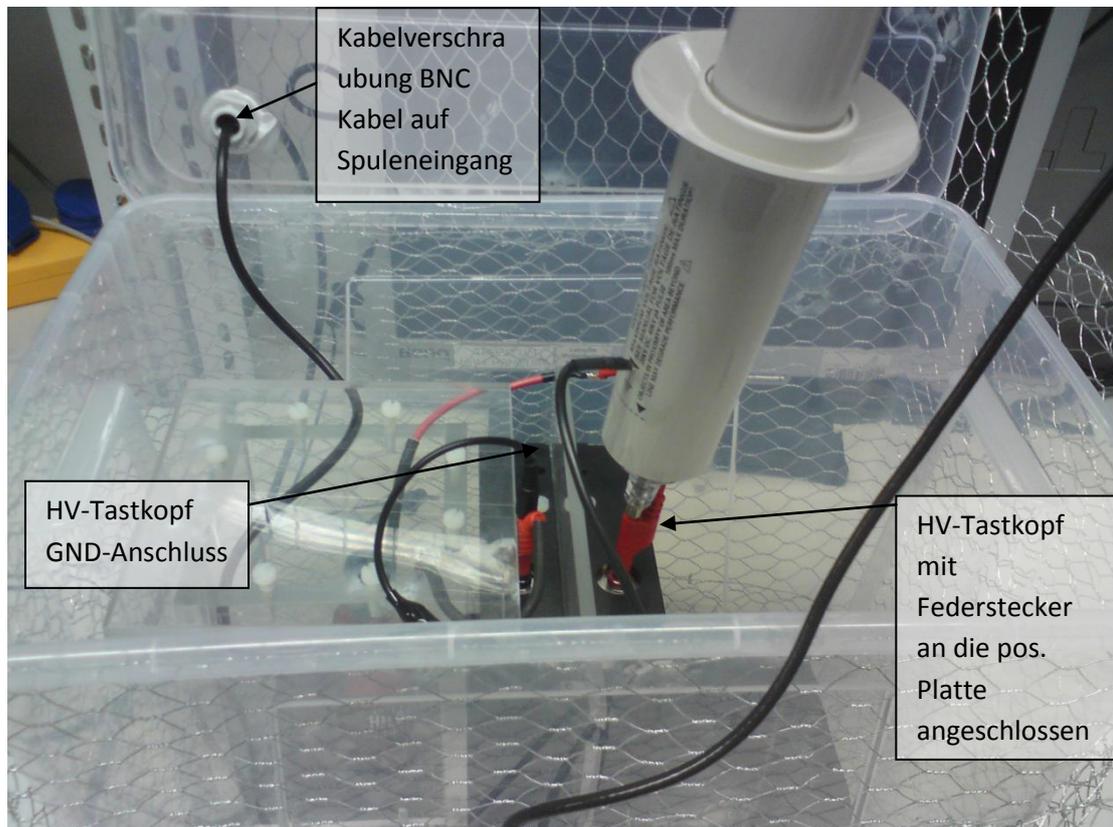


Abbildung 4-7: Offene Versuchsbox mit angeschlossenem HV-Tastkopf zur Messung der elektrischen Feldstärke

Anschließend werden mit PC und Oszilloskop die Daten des HM1508 mittels Aufnahmesoftware aufgezeichnet (siehe Abbildung 4-4: Oszilloskop mit angeschlossenem Tastkopf und Triggermodul).

Dabei werden zuerst einige Pulse auf die Versuchsanordnung gegeben, so dass das Oszilloskop entsprechend eingestellt werden kann. Es ist so justiert, dass sowohl der gedämpfte Originalimpuls als auch die vom HV-Tastkopf erfasste Impulsantwort gut auswertbar auf dem Bildschirm des Messinstruments und dem PC-Monitor erscheint.

Hierfür ist das Oszilloskop auf den HV-Tastkopf triggeregesteuert eingestellt, das bei einer Flanke aktiv ist. Für eine aussagekräftige Beurteilung werden fünf Pulse auf den Plattenkondensator gegeben. Die erfassten Messdaten werden gemittelt und in einem Graph dargestellt.

Es wird ein Impuls auf den Plattenkondensator gegeben, dieser und die Impulsantwort sind als Echtzeitdarstellung auf dem Monitor zu verfolgen und bleiben dort bestehen. Die erfassten Daten aus der PC-Software werden als Bitmap-Datei für die Feldstärke und zum Ausmessen in einer CSV-Datei gespeichert. Dieses wird zu einer exakteren Analyse in einer Excel-Datei herangezogen und entsprechend zusammengefasst. Hieraus wird ein Mittelwert der Daten gebildet und die Berechnungen für die Pulsdauer und maximale Feldstärke vorgenommen.

Nachdem die elektrische Feldstärke ermittelt wurde, werden noch die Kapazitäten der Feldplatten und Kabel ermittelt. Dafür ist das RLC-Meter entsprechend verkabelt und die Kapazitäten bei den verschiedenen Frequenzen von 100 Hz, 1, 10 und 25 kHz bestimmt. Auch die Induktivitäten der Spulen werden erfasst. Hierzu wird erst die Induktivität der Primär- und danach die der Sekundärspule bei identischen Frequenzen bestimmt.

4.2.4 Versuchsergebnisse und -beurteilung

Nachfolgend sind die gemessenen Daten und die zusammengefassten Ergebnisse dargestellt.

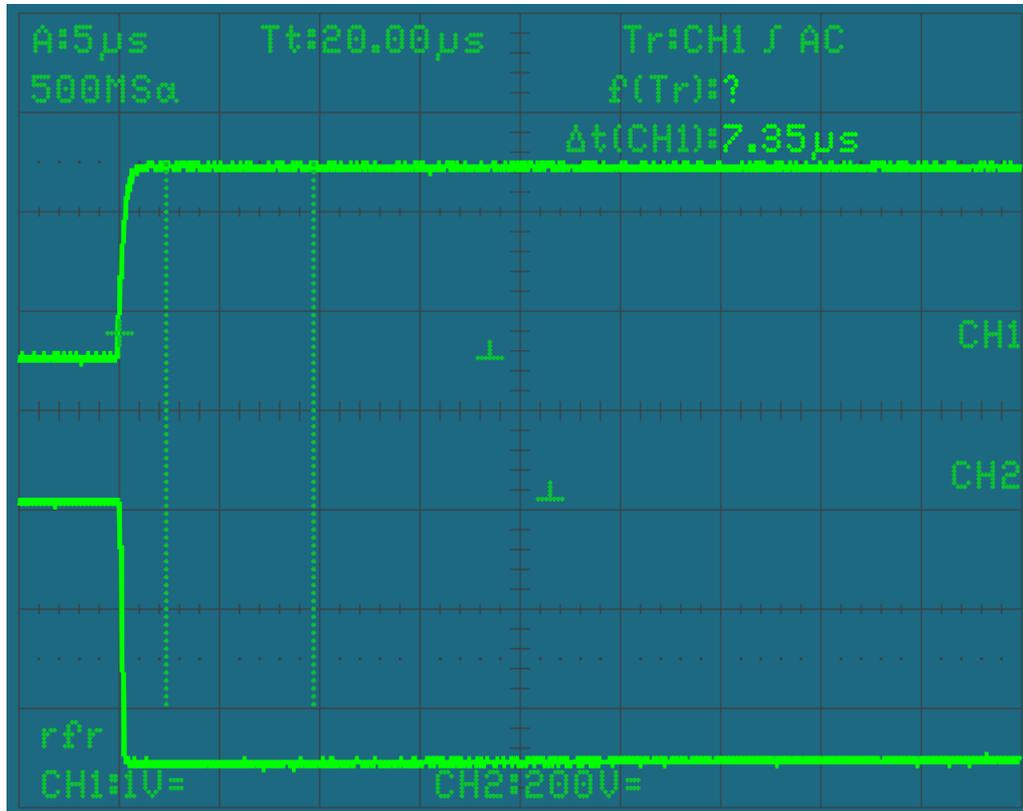


Abbildung 4-8: Ausgangspuls am Triggermodul von 500 V

Tabelle 4-2: Übersicht der erfassten Messwerte

Index Messwert:	Gemessener Wert:	Einheit
Triggerimpuls	549,3	V
Max. gemittelter Wert	24430	V
10% des max. Wert	2443	V
1 Zweitwert 10% überschritten	1,00E+00	μs
2 Zeitwert 10% wieder erreicht	1,00E+01	μs
gemittelte Pulsdauer	9,00E+00	μs
Elektrische Feldstärke	4,07E+03	V/mm

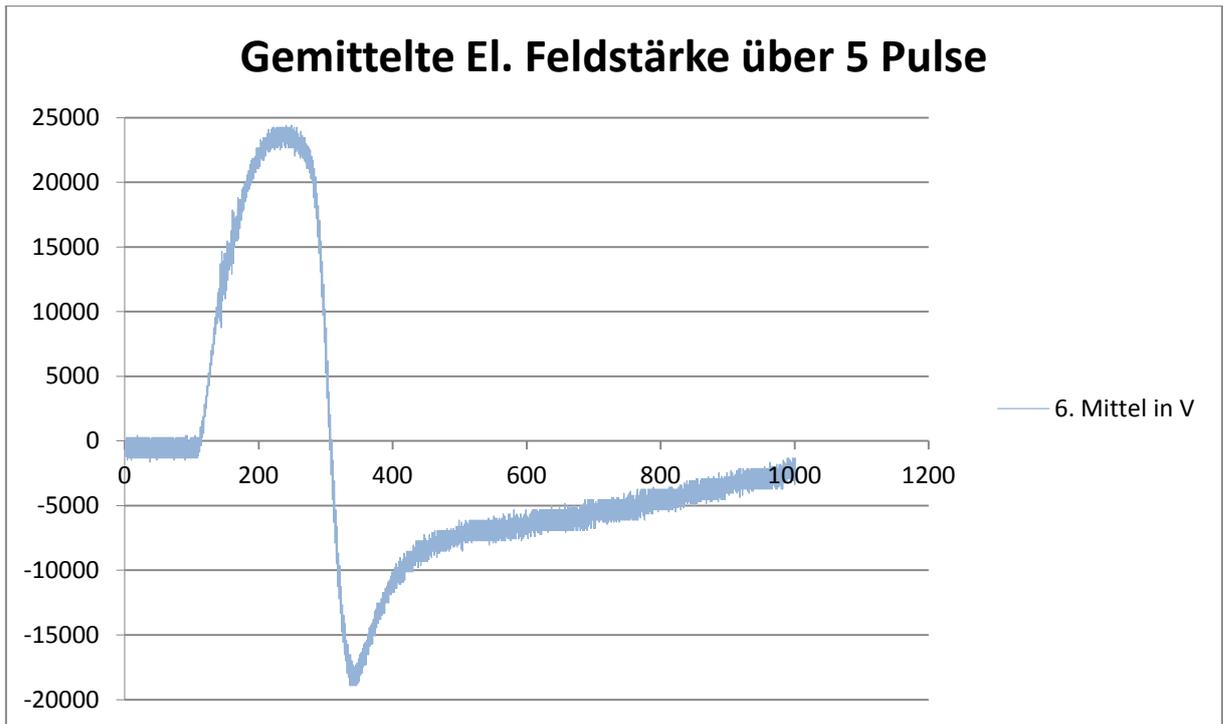


Abbildung 4-9: Grafik zur gemittelten elektrischen Feldstärke

Tabelle 4-3: Kapazität in Abhängigkeit von der Frequenz

Frequenz [kHz]	Kapazität Platten [pF]	Kapazität Kabel [pF]
0,1	83,4	3,7
1	78,39	3,87
10	74,72	3,879
25	73,25	3,998

Tabelle 4-4: Induktivität in Abhängigkeit von der Frequenz

Frequenz [kHz]	Induktivität Spule 1 [mH]	Induktivität Spule 2 [μH]
0,1	925,7	17
1	534,7	16,6
10	504,9	16,65
25	630,5	17,88

Aufgrund der vorher erwähnten Studien und Annahmen ergibt sich aus den Voruntersuchungen, dass der Aufbau für die Desinfektion zweckmäßig ist. Die erforderlichen Feldstärken sowie die Zeitintervalle für die Pulsdauer werden nach den Voruntersuchungen eingehalten. Für die nachfolgenden Versuche wird eine unterschiedliche Anzahl von Pulsen benutzt, um die Wirksamkeit zu überprüfen.

4.3 Mikrobiologische Versuche zur Bestimmung der Desinfektionsrate

In diesem Abschnitt wird aufgezeigt, in wie weit der Versuchsaufbau eine desinfizierende Eigenschaft aufweist. Hierfür sind mikrobiologische Versuche vorgesehen, um eine Aussage über die Effektivität treffen zu können. Diese können aus Sicherheitsgründen des Labors der Stufe 1 an der HAW Hamburg nur mit dem Bakterium *Staphylococcus epidermis* durchgeführt werden.

4.3.1 Versuchsbeschreibung

Ziel des Versuches ist es, die Leistung der Versuchskonstruktion bezüglich seiner Desinfektionseigenschaften zu ermitteln. Hierfür werden verschiedene Parameter betrachtet, um eine genauere Aussage über die Leistung treffen zu können. Es wird geprüft, mit welcher Anzahl von Pulsen eine Desinfektionsstufe bei dem in der Küvette befindlichen kontaminierten Wasser erreicht wird. Des Weiteren wird geprüft, welche Log-Stufe dies in Abhängigkeit zur Ausgangslösung bedeutet.

4.3.2 Verwendete Geräte und Materialien

Tabelle 4-5: Geräteliste für die mikrobiologischen Versuche

Geräteart	Model.:	Auflösung	Toleranz
Sterilisator	Systec DE-65		
Brutschrank	WTC Biner		
Eppendorf Pipette	1000µl verstellbar	1µl	~0,7%
Eppendorf Pipette	1000µl r		~0,7%
Eppendorf Pipette	100µl		~0,7%
Nutrient Agarplatten	Prolabo Standard I Agar REF.: 100692Zs		

	Merckplatte Standard I Agar mit Enthammer REF.:1.00417.0020		
Impuls Trigger Modul	TMS 2403		
Koaxial-Kabel + Stecker	BNC-Stecker		
Spule	-	-	
Plattenkondensator	Eigenkonstruktion	-	
Plexiglasküvette mit Stopfen	Eigenkonstruktion (siehe Zeichnung)	-	

4.3.3 Versuchsaufbau

Wie bei den Vorversuchen ist auf die elektrische Sicherheit zu achten. Hierbei ist besonders wichtig, dass die Abschirmung wie auch das Gehäuse des Triggermoduls mit der Schutz Erde verbunden sein müssen. Auch wenn die Hochspannung in der abgeschirmten Box stattfindet, muss nach jedem Versuch die Restfeldstärke des Kondensators beachtet werden. Der Kondensator ist nach jedem Durchgang erst kurzzuschließen.

Zum Ausgang des Trigger Moduls hin wird ein ausreichender Abstand gehalten. Außerdem ist die gesamte Versuchsanordnung auf einer nicht leitenden Oberfläche aufzustellen.

Vor dem Versuchsbeginn werden alle benötigten Gefäße sowie die für die Eppendorfpipetten benötigten Einwegspitzen sterilisiert. Hierfür werden die Gefäße entsprechend gegen Kondensatbildung mit Aluminiumfolie abgedeckt, die Pipettenspitzen in dafür vorgesehene Behälter eingesteckt und der Behälter zugeklappt. Die Teile werden in den Sterilisator eingelegt und dieser entsprechend der Bedienungsanweisung geschlossen. Hierbei wird ein Sterilisationsmodus für trockene Gefäße benutzt. Während der ersten Sterilisation werden die für den Versuch entsprechenden Agar-Nährbodenplatten auf der Unterseite beschriftet. Die für die spätere Verdünnung benötigten Flüssigkeiten werden sterilisiert. Hierfür sind in drei Bechergläser einmal 500 ml, einmal 300 ml und einmal 100 ml demineralisiertes Wasser eingefüllt. Diese Bechergläser sind entsprechend mit Flüssigkeit sterilisiert. Als nächstes ist das Triggermodul an den Spuleneingang, wie im Versuchsaufbau im Kapitel 4.2.3. beschrieben,

anzuschließen. In der Abbildung 4-10: Versuchsaufbau für die mikrobiologischen PEF-Versuche ist der Gesamtaufbau zu sehen.

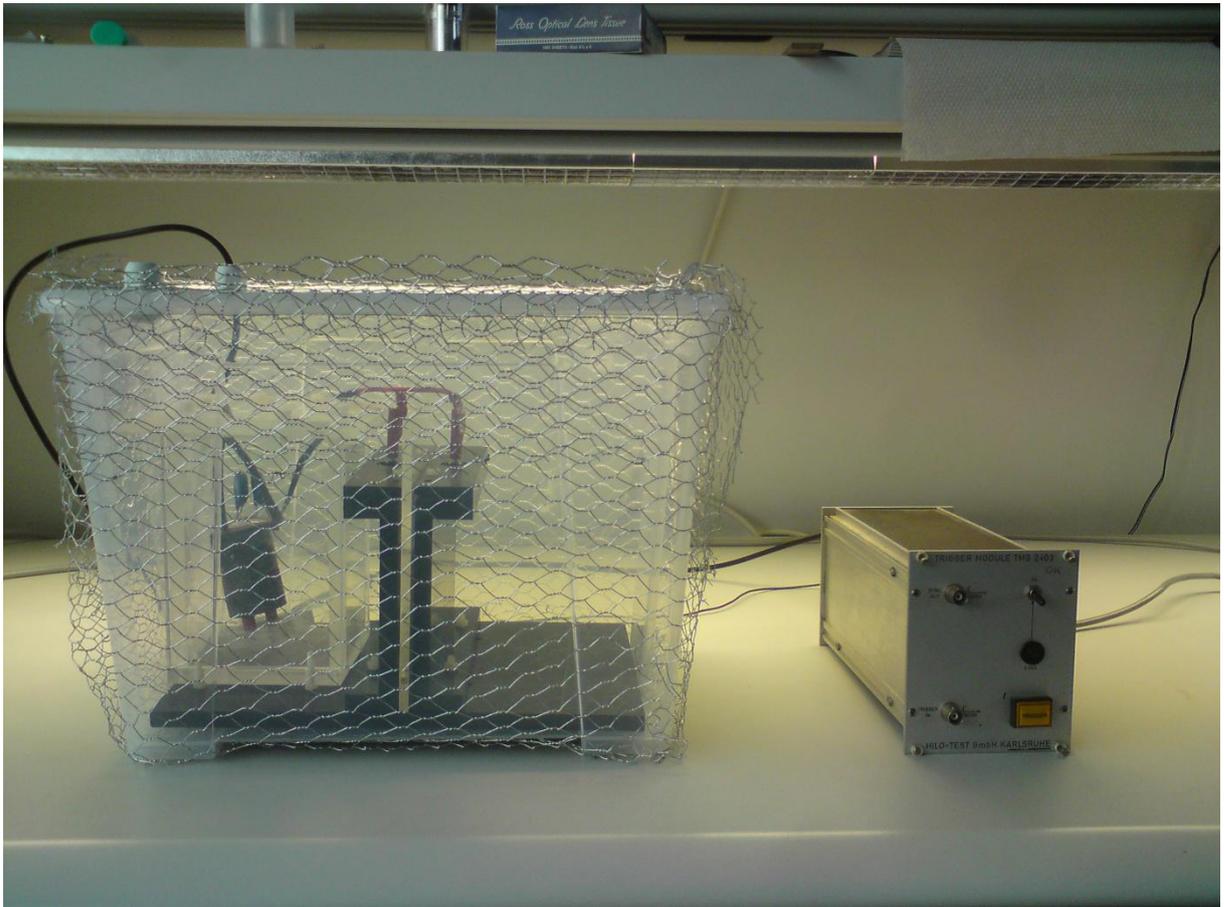


Abbildung 4-10: Versuchsaufbau für die mikrobiologischen PEF-Versuche

4.3.4 Versuchsdurchführung

Zuerst werden die Verdünnungen der *S. epidermis*-Lösung (1:10, 1:100, und 1:1000) hergestellt. Dafür wird jeweils in das vorher sterilisierte, demineralisierte Wasser (100 ml, 300 ml 500 ml) die entsprechende Menge an *S. epidermis* gegeben. Von diesen verdünnten Lösungen werden jeweils zwei Referenzplatten beimpft und ausgestrichen. Diese dienen später dem Vergleich bezüglich vor und nach der Behandlung. Hierfür wird aus den einzelnen Ausgangskonzentrationen jeweils 100 μ l mittels einer Eppendorfpipette und Einwegspitze auf die Platte übergeimpft und mit Einwegspatel ausgestrichen.

Der mittlere Kanal der Küvette ist auf der einen Seite mit den zugehörigen Stopfen bis zu schwarzen Markierung verschlossen und über die andere Seite sind 1.700

μl eingefüllt. Anschließend ist die andere Seite mit dem zweiten Stopfen abgedichtet. (siehe Abbildung 4-11: Küvette mit eingeschobenem Stopfen)

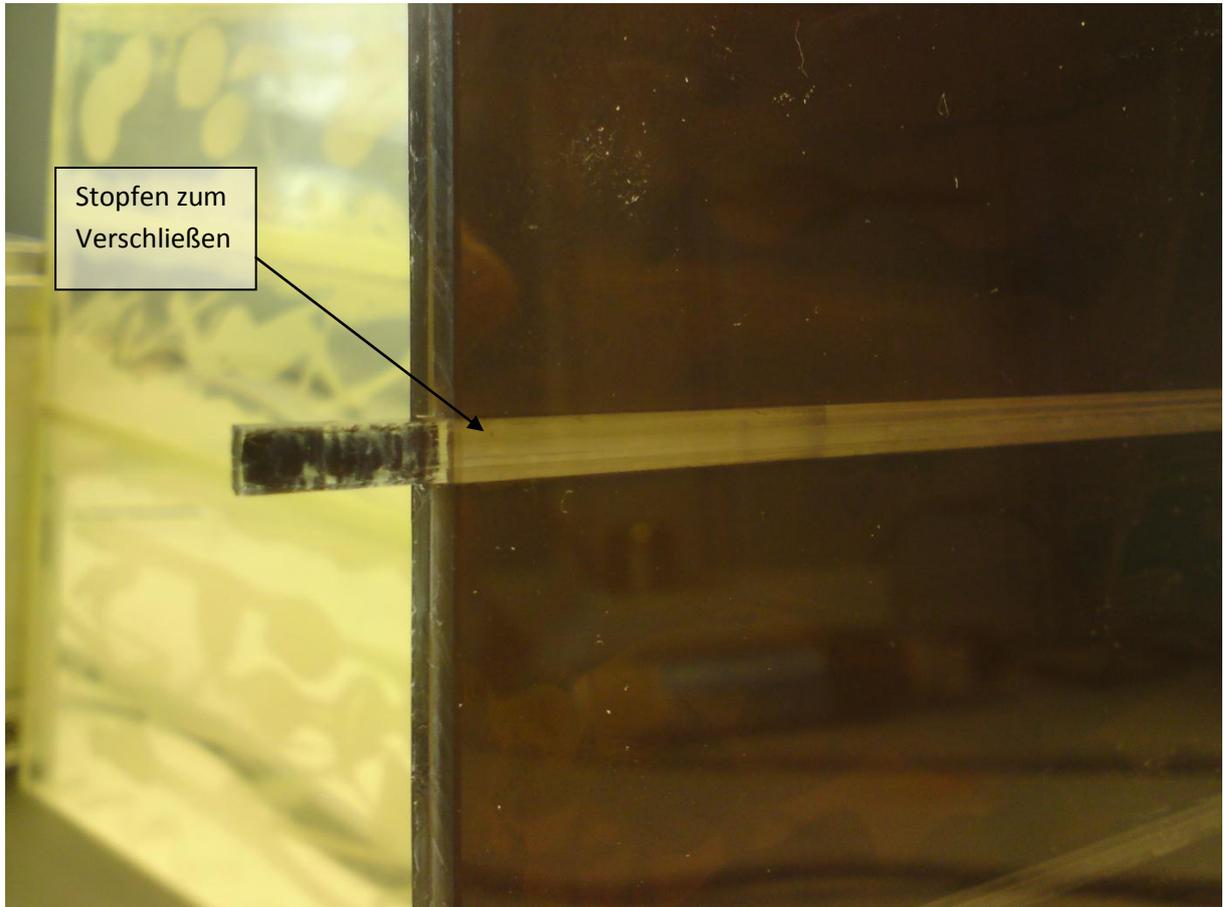


Abbildung 4-11: Küvette mit eingeschobenem Stopfen

Die Küvette ist zwischen die Kondensatorplatten eingelegt und die Box ist mit dem Deckel und dem Drahtgestell zu verschließen. Mit dem eingeschalteten Triggermodul wird die entsprechende Anzahl von Pulsen über den Knopf auf die Platten gegeben. Der Knopf wird im Abstand von einer Sekunde gedrückt. Die genaue Anzahl der Pulse ist den folgenden Tabellen zu entnehmen.

Tabelle 4-6: 1. Versuchsreihe (hohe Konzentration zur Ausgangslösung)

Vol /ml	Feldstärke	Konzentration zur Ausgangslösung	Pulsdauer	Anzahl der Pulse
1,7	$\frac{24kV}{6mm} \rightarrow 4 \frac{kV}{mm}$	1/10	~9 μs	1
				5
				15
				20
				25
				30

Tabelle 4-7: 2. Versuchsreihe (mittlere Konzentration zur Ausgangslösung weitere Zeitintervalle)

Vol /ml	Feldstärke	Konzentration zur Ausgangslösung	Pulsdauer	Anzahl der Pulse
1,7	$\frac{24kV}{6mm} \rightarrow 4 \frac{kV}{mm}$	1/100	~9µs	1
				2
				5
				10
				15
				20

Tabelle 4-8: 3. Versuchsreihe (noch stärker verdünnte Konzentration zur Ausgangslösung)

Vol /ml	Feldstärke	Konzentration zur Ausgangslösung	Pulsdauer	Anzahl der Pulse
1,7	$\frac{24kV}{6mm} \rightarrow 4 \frac{kV}{mm}$	1/1000	~9µs	1
				2
				5
				10
				15
				17

Tabelle 4-9: 1. Versuchsreihe (Ausgangsvolumen mittlerer Konzentration Abstand*2)

Vol /ml	Feldstärke	Konzentration zur Ausgangslösung	Pulsdauer	Anzahl der Pulse
1,7	Abstand verdoppelt $\frac{24kV}{12mm} \rightarrow 2 \frac{kV}{mm}$	1/100	~9µs	5
				10

Dabei wird bei den Versuchen mit der niedrigsten Konzentration und der höchsten Pulszahl angefangen, um sicherzustellen, dass sich keine höheren Konzentrationen in der Küvette befinden und diese die folgenden Messungen beeinflussen. Wenn die entsprechende Anzahl von Pulsen auf die Küvette mit dem kontaminierten Wasser gegeben wurde, wird das Triggermodul ausgeschaltet und die Box geöffnet. Anschließend wird der Kondensator kurzgeschlossen und danach erst kann die Küvette entnommen werden. Für die Analyse der Flüssigkeit wird auf der einen Seite der Küvette der Stopfen entfernt und 100 µl mittels Pipette mit Einwegspitze entnommen, dann jeweils auf fünf Platten geimpft und ausgestrichen. Die Anzahl der Platten dient der statistischen Auswertung.

Nach jeder Messung wird der Kanal mit demineralisiertem Wasser gespült, um Bakterienreste zu entfernen. Danach wird die Küvette wieder gefüllt und der nächste Test kann beginnen.

Nachdem alle Messungen abgeschlossen sind, müssen die Nährböden im Brutschrank bei 37 °C für ca. 48 h brüten, um eine Aussage treffen zu können. Damit die Bakterienkulturen nicht schwimmen, werden die Nährböden auf den Kopf gedreht hineingelegt. Dies ermöglicht den Kulturen ein ideales Wachstumsmilieu.

4.3.5 Versuchsergebnisse und -beurteilung

Sämtliche Agar-Nährbodenplatten waren so dicht mit KBE¹³ besiedelt, dass kein exaktes Auszählen möglich war. Auch war kein Trend bei den verschiedenen Versuchsergebnissen zu erkennen. Es gab auch keine signifikanten Unterschiede zu den Referenzplatten. Somit kann als Ergebnis der Versuche nur angegeben werden, dass bei allen Platten ein starker Befall aber kein Unterschied zwischen Versuchs- und der Referenzplatten zu verzeichnen ist.

Aufgrund der bebrüteten Agarplatten zur Referenzmessung ist eindeutig erkennbar, dass die Ausgangskonzentration sowie die Verdünnung nicht ausreichend waren, um eine genügend auszählbare Bebrütung zu erlangen. Des Weiteren ist aufgrund der vielen Variablen der gepulsten Platten die Aussage zu tätigen, dass evtl. andere Feldstärken und Frequenzen mehr Erfolg versprechen. Nach der Annahme, dass bei der gewählten Feldstärke von vier kV/mm bis zu sieben Log-Stufen möglich sind, müssten die Platten mit allen Konzentrationen und vielen Pulsen eigentlich nahezu kein Wachstum aufzeigen. Da dies nicht der Fall ist, sind genauere Untersuchungen erforderlich. Evtl. muss auch der Aufbau noch einmal genauer betrachtet werden.

¹³ Mit dem Auge sichtbare Kolonien von Mikroorganismen, welche durch das Anwachsen erkennbare Auswertung ermöglichen

4.4 Theoretische Weiterentwicklung der technischen Parameter für die erzeugenden Feldstärken nach Patent "WO 2005/105679 A1"

Durch die mikrobiologischen Versuche konnten neue und differenzierte Ansätze für die Einstellung der PEF-Technology gewonnen werden. Anhand des Patent WO 2005/105679 A1 eine in Deutschland ansässigen Firma kann geschlossen werden, dass der grundsätzliche Aufbau und die Konstruktion nicht das Problem der negativen Desinfektionseigenschaft gewesen sein können. Dies soll im nachfolgenden Abschnitt erläutert werden. Zudem werden mögliche Ansätze für die Umgestaltung des Versuchsaufbaus aufgezeigt.

In dem Patent, welches als Abwasserreinigungsvorrichtung und -verfahren deklariert ist, wird erwähnt, dass als Nebenprodukt eine Desinfektion erkennbar ist. Es wird dabei von zwei voneinander isolierten Elektroden gesprochen, wie es auch in dem Versuchsaufbau im Abschnitt 4.1 (Konzept und Konstruktion eines ersten Versuchsstandes) zu finden ist. Zwischen diesen Elektroden befindet sich das Medium, an dem ein Hochspannungsfeld angelegt wird. Laut Angaben werden von Gleichspannungen von 1 kV, 50 kV und auch höher als 100 kV verwendet. Leider geht aus dem Patent nicht klar hervor, um welche Feldstärke es sich handelt. Es wird aber angegeben, dass eine Pulsierung sinnvoll ist. Laut Patent wird bei dem beschriebenen Verfahren mit mehr als 10^2 bis 10^3 Pulsen pro Sekunde gearbeitet. Es ist jedoch denkbar, dass nicht die Frequenz sondern nur die Menge an auf das Medium abgegebenen Pulse Einfluss auf das Ergebnis hat. Dies ist ein Ansatzpunkt, der direkt mit dem bisherigen Versuchsaufbau durchgeführt werden kann. Auch das Arbeiten mit einer gepulsten Gleichspannung ist denkbar. Dies bietet für nachfolgende Versuche einen neuen Ansatzpunkt. Wie stark die Inaktivierung bzw. Abtötung der Organismen bei der Behandlung mit dem Aufbau laut Patent ist, wird aus den gemachten Angaben nicht deutlich. Diese Punkte sollten noch einmal genauer untersucht werden, um eine fundierte Aussage treffen zu können. [Patent: WO 2005/105679 A1]

4.4.1 Möglicher Aufbau zur Feldstärkenerzeugung

Für die Anpassung des Aufbaus zur Feldstärkenerzeugung ist das in den Versuchen benutzte Triggermodul altersbedingt nicht tauglich. Hierbei sollten Frequenzen mit mehr als eineinhalb Hz nicht überschritten werden. Somit ist ein Umbau notwendig, wenn die Abhängigkeit der Desinfektionsrate von der Frequenz bestimmt werden sollte. Hierbei könnte die Anpassung einer frequenzgesteuerten Gleichspannung durch eine elektronische Zündung, wie sie in PKWs eingesetzt wird, gebaut werden. Für diese Variante muss allerdings in den meisten Fällen ein zugehöriger Mikrocontroller programmiert werden, der die Zündung steuert. Es wäre auch denkbar, die Spannung und Frequenz mit einer älteren Unterbrecherkontaktzündung zu realisieren. Allerdings ist der erstgenannten Umsetzungsmöglichkeit der Vorzug zu geben, da eine elektronische Zündung mit CU eine genauere und feinere Lösung darstellt.

4.4.2 Erster möglicher Aufbau einer Desinfektionskammer mit Elektroden

In der Abbildung 4-14 ist ein möglicher Aufbau der Desinfektionskammer nach dem Prinzip eines Ausbaus mit Unterbrecherkontakt aufgezeigt. Hierbei wird die Kammer als statischer Aufbau wie in den mikrobiologischen Untersuchungen vorgenommen. Inwiefern dieser Schalter durch z.B. einen drehgelagerten Kontakt den Kreislauf öffnet bzw. schließt, lässt sich dabei auf vielerlei Arten realisieren. Der Drehkontakt könnte dabei von einem elektrischen Motor angetrieben werden. Die Gleichspannung liegt hierbei an der Primärspule an. Wenn der Kontakt sich öffnet, wird die Spannung auf die Sekundärspule induziert und transformiert. Die Anzahl der Pulse, die auf die Versuchsanordnung abgegeben werden, ist abhängig davon, wie oft der Schalter geöffnet wird. Das Rohr muss elektrisch leitend sein und sollte an den Enden über Schraubverschlüsse verschlossen werden. Im Rohr muss der isolierte Leiter im Zentrum angeordnet sein. Dies könnte mittels eines BNC-Kabels geschehen, welches an dem einen Rohrverschluss fixiert und auf der Eingangsseite durch den Verschluss des Rohres geführt wird.

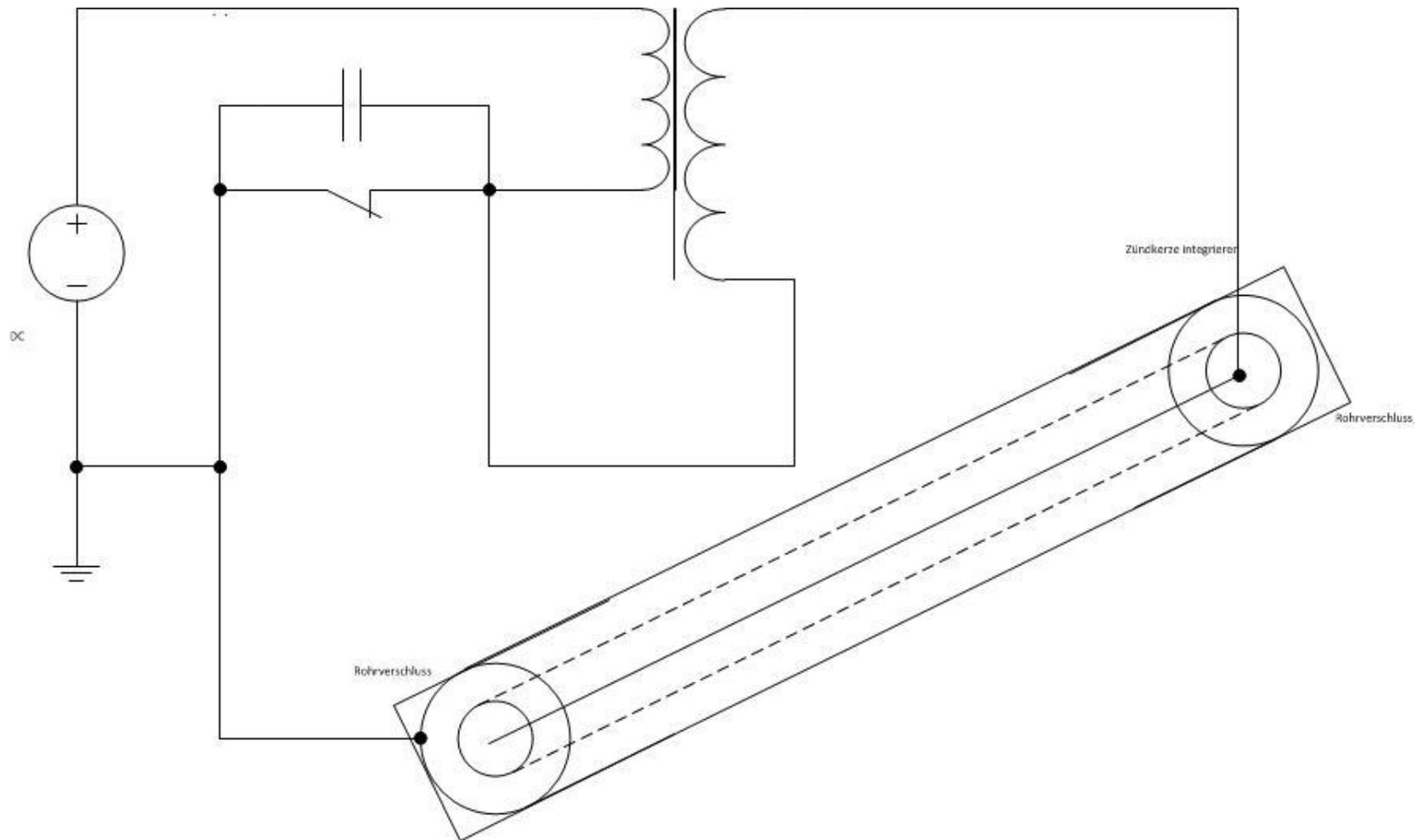


Abbildung 4-12: Statischer Versuchsaufbau einer Desinfektionskammer

4.4.3 Zweiter möglicher Aufbau einer Desinfektionskammer im Flussbetrieb mit Elektroden

In der Abbildung 4-13 ist eine andere Art des Aufbaus der Desinfektionskammer nach dem Prinzip einer elektronischen Zündung gezeigt. Zudem bietet diese eine mögliche Bauweise für einen Durchflussbetrieb. Hier wird die Unterbrechung durch einen eingesetzten Transistor als Schalter erzeugt. Für eine kleine anliegende Spannung sperrt der Transistor und unterbricht den Kreislauf der primären Spule. Wenn der Spannungswert am Transistor über die Schwellspannung steigt, wird dieser leitend und der primäre Spulenkreislauf ist geschlossen. Wenn der Kontakt sich öffnet, wird die Spannung auf die Sekundärspule induziert und transformiert. Dieser Transistor könnte mit Hilfe eines Frequenzgenerators präzise gesteuert werden, auch ohne dass ein Mikrokontroller programmiert werden müsste. Somit wären die Anzahl und die Frequenz ungefähr proportional zum Verhältnis der am Transistor anliegenden Frequenz. Die Schaltverzögerungen des Transistors können bei den hierfür relativ niedrigen Frequenzen vernachlässigt werden. Das Rohr hat in diesem Aufbau an den Verschlüssen zusätzlich einen Zu- und einen Ablauf, so dass ein Betrieb im Durchfluss möglich wäre. Auch hier müssen die Materialeigenschaften, wie im vorherigen Aufbau beschrieben, eingehalten werden.

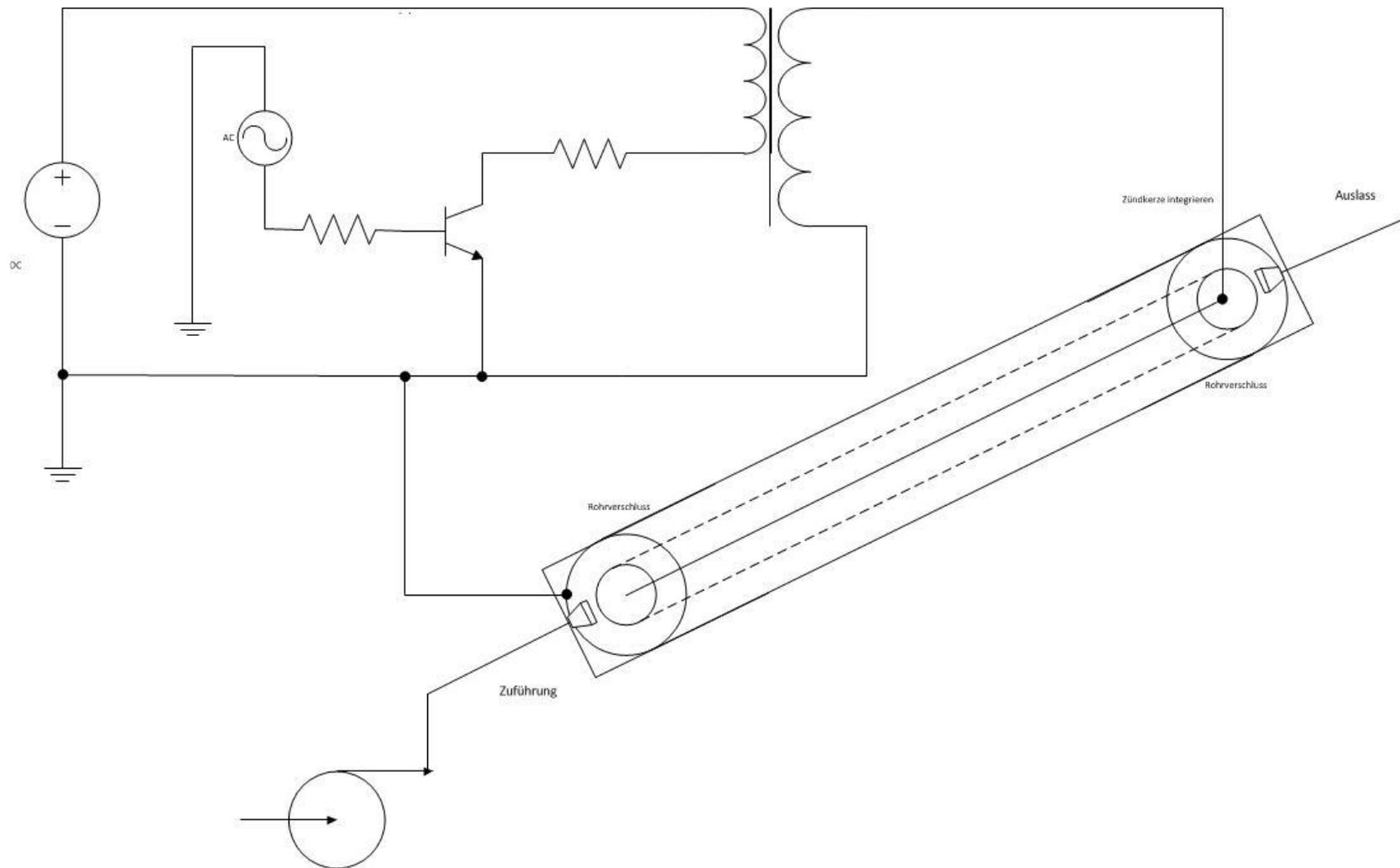


Abbildung 4-13: Dynamischer Versuchsaufbau einer Desinfektionskammer inkl. Transistorsteuerung

Um solch einen Aufbau dimensionieren zu können, sind verschiedene Parameter zu beachten. Diese sollen anhand der folgenden Berechnungen verdeutlicht werden. Die Ladung eines Kondensators auf 63 % der anliegenden Spannung entspricht einem Tau (τ). Nach einer Zeit von drei Tau ist die Ladespannung des Kondensators auf mehr als 93% ihres Endwertes gestiegen. Diese Zeitwerte sind für die frequenzabhängige Dimensionierung entscheidend. [Paus, Hans J., 2002; Fischer, Tilo; Dorn, Hans-Jerg, 2006]

Ladung eines Kondensators:
$$U_c = U_0 * \tau \quad (2.1)$$

Dabei ergibt sich τ aus einem Produkt des gesamten Widerstandes und der gesamten vorliegenden Kapazität (siehe Formel 2.2). Der Widerstand und die Kapazität des Leiters sind dabei vernachlässigbar klein im Vergleich zum isolierenden Material und dem Wasser.

Zeitkonstante zur Kondensatorladung:
$$\tau = R * C \quad (2.2)$$

Im Kapitel 3.3.1 wurde der Zusammenhang zwischen Spannung, Widerstand und Strom erläutert. Dieser ist hier auch von entscheidender Bedeutung. Dabei kann der Aufbau eines Rohres mit einem isolierten Leiter als Zylinderkondensator verstanden werden. Da sich der Strom in diesem Aufbau vom Leiter (im Inneren des Rohres) zur Rohrwand (nach außen) radial ausbreitet, können der Widerstand des isolierenden Leitermaterials (meist PVC) und der des Wassers als in Reihe geschaltet angesehen werden (siehe Formel 2.3).

Widerstände in Reihenschaltung:
$$R_{ges} = R_{PVC} + R_{H_2O} \quad (2.3)$$

Der Widerstand eines Hohlzylinders ist das Produkt des spezifischen Widerstandes ρ (Roh) und dem Volumen. Im Fall des Zylinderhohlkörpers ist das Volumen von Außen- und Innenradius abhängig (siehe Formel 2.4).

Volumen eines Hohlzylinders:
$$V_{H_{zyl}} = \frac{2 * \pi * l}{\ln\left(\frac{r_a}{r_i}\right)} \quad (2.4)$$

Somit ergibt sich der Widerstand aus dem Verhältnis des spezifischen Widerstandes zur Länge des Körpers und der Umfangsfläche (siehe Formel 2.5).

el. Widerstand eines Zylinderhohlkörpers:
$$R_{Zyl} = \frac{\rho}{2 \cdot \pi \cdot l} * \ln \frac{r_a}{r_i} \quad (2.5)$$

Der spezifische Widerstand von Wasser beträgt ca. $10^5 \Omega m^{-1}$, der von PVC ungefähr $10^{14} \Omega m^{-1}$. Es muss also hierfür jeweils der Widerstand vom PVC-Zylinder und vom Wasser-Zylinder berechnet werden und als Gesamtwiderstand addiert werden. [Paus, Hans J., 2002; Fischer, Tilo; Dorn, Hans-Jerg, 2006]

Die Gesamtkapazität der in Reihe geschalteten Kapazitäten ergibt sich aus der Summe der Kehrwerte der Einzelkapazitäten (siehe Formel 2.6).

Kapazitäten in Reihe:
$$\frac{1}{C_{ges}} = \frac{1}{C_{PVC}} + \frac{1}{C_{H_2O}} \quad (2.6)$$

Die Kapazität eines zylindrischen Hohlkörpers ergibt sich dabei aus dem abhängigen Körpervolumen multipliziert mit dem Produkt aus Dielektrizitätskonstante ϵ_0 und dem spezifischen Dielektrikum ϵ_r (siehe Formel 2.7).

el. Kapazität eines Hohlzylinders:
$$C = \frac{2 \cdot \pi \cdot \epsilon_0 \cdot \epsilon_r \cdot l}{\ln \left(\frac{r_a}{r_i} \right)} \quad (2.7)$$

Dabei beträgt $\epsilon_0 = 8,854 \cdot 10^{-12} \text{ As(Vm)}^{-1}$, $\epsilon_{H_2O} = 81$ und ϵ_{PVC} zwischen drei bis fünf. Bei der Dimensionierung muss ein Kabel mit möglichst dünner Isolierung gewählt werden, damit nicht zu viel Spannung nötig ist, um den Kondensator schnell zu laden. Desweiteren muss beachtet werden, dass diese Formeln nur für den Fall $r_a \gg l$ und $r_i < r_a$ Gültigkeit haben, um Einflüsse an den Zylinderenden nicht berücksichtigen zu müssen. [Hagemann, Gert (Hrsg.), 2007]

5 Diskussion der Versuchsergebnisse

Wie die Versuchsergebnisse aus Kapitel 4.3.5 zeigen, kann mit den gewählten Parametern kein ausreichendes Desinfektionsergebnis erzielt werden. Allerdings liegen die Feldstärken mit ca. vier kVmm^{-1} einem Bereich, in dem nach den Vorüberlegungen positive Desinfektionsergebnisse erwartet hätten werden können. Bei den Annahmen der zu erreichenden Feldstärke von ca. 40 kVcm^{-1} war mit einer Keimreduzierung von bis zu sechs Log-Stufen zu rechnen. Da diese Reduzierung nicht einmal bei einer Behandlung mit 30 Pulsen zu erkennen ist, müssen die zuvor schon einmal erwähnten anderen Faktoren eine Rolle spielen. Inwiefern diese gewichtet sind und um differenzierte Aussagen über ihre Eigenschaft liefern zu können, sind weitere Versuche erforderlich. Hierbei sollte untersucht werden, welchen Einfluss die Anzahl der Pulse auf die Desinfektionsleistung hat. Auch die Frequenzabhängigkeit muss noch einmal separat betrachtet werden. Hierfür ist ein Aufbau, wie in Abbildung 4-13: Dynamischer Versuchsaufbau einer Desinfektionskammer inkl. Transistorsteuerung zu sehen, zweckmäßig. Wenn die Versuche eine eindeutige Aussage über die Desinfektionsleistung erbringen, sind nachfolgend auch Versuche im nicht statischen Milieu notwendig, um eine endgültige effektive Aussage über die Verwendung der PEF-Technologie für die Desinfektion von Trinkwasser tätigen zu können. Auch hier wäre ein Aufbau nach Abbildung 4-13: Dynamischer Versuchsaufbau einer Desinfektionskammer inkl. Transistorsteuerung, sinnvoll. Somit ist zum jetzigen Zeitpunkt keine Aussage über die Leistung, die zur sicheren Desinfektion notwendig ist, möglich.

Anhand der verschiedenen Studien ist der Bereich von drei bis fünf kVcm^{-1} geeignet, um eine Keimreduktion von mindestens 99,999 % zu erreichen und somit den Bestimmungen, zur Trinkwasserverordnung gerecht zu werden. Bisher ist das PEF-Verfahren noch nicht als nach §11 der Trinkwasserverordnung von 2001 zugelassenes Desinfektionsverfahren aufgenommen. Diese Ergebnisse zeigen deutlich, welches Potential für Desinfektionen in kurzer Zeit in der PEF-Technologie steckt. Zukünftige Untersuchungen sollten daher mit Interesse verfolgt werden. Gerade gegenüber optischen Verfahren sollte sich die PEF-Technologie aufgrund der kurzen Zeitdauer und der Unabhängigkeit gegenüber Trübung durch Schwebstoffe etablieren. Das PEF-Verfahren zeigt sich mit hoher

Wahrscheinlichkeit gegenüber den physikalischen Unterschieden des Milieus wie auch Biofilmen unbeeinflusst. Dieses gilt es allerdings auch noch einmal genauer zu prüfen, wenn die Wirkung mit exakt eingestellten Parametern in nachfolgenden Studien geklärt ist. Wenn diese feststehen, kann auch dem einzigen Hindernis entgegengewirkt werden. Da es sich um Hochspannung handelt, muss auf die elektrische Sicherheit geachtet werden und das Personal gegenüber dieser abgeschirmt sein. Dieses sollte dann auch durch entsprechende Sensoren, die die Feldstärke und die Abschirmung kontrollieren, überwacht werden. Mit Hilfe eines Hochspannungssensors sowie eines Impulssensors wäre dies realisierbar. Auch ein induktiver Sensor, der das durch den Strom erzeugende elektromagnetische Feld registriert, ist denkbar. Die passende Auswahl ist davon abhängig, welche Ergebnisse in den noch notwendigen Versuchen gefunden werden. Zudem kann die elektrische Sicherheit über eine Spannungssicherung überwacht werden.

Da keine nennenswerten Nebenprodukte bei der PEF-Behandlung entstehen, gibt es auch keine Beeinträchtigung des Aussehens, Geschmacks und Geruchs. Wenn die Aspekte zu Parametern und Sicherheit geklärt sind, kann ein Desinfektionsreaktor allerdings ohne großen Aufwand auf das gewünschte Volumen angepasst und konstruiert werden.

6 Ausblick auf mögliche Einsatzgebiete in der Medizin und zu humanitären Zwecken

Im folgenden Kapitel soll ein Ausblick auf mögliche Einsatzgebiete der PEF-Technologie erfolgen.

Hierbei sind als zentraler Punkt die flexiblen Einsatzmöglichkeiten des Verfahrens hervorzuheben. Da das System ohne großen Aufwand für verschiedene Volumina dimensioniert werden kann, ist es sowohl für Haushalte als auch Industrie und Krankenhäuser problemlos zu verwenden. Auch die Einwirkung von Biofilmen, wie z.B. in Flugzeugtanks, haben keinen Einfluss auf die Wirkungsweise der PEF und machen dort eine Anwendung denkbar.

Die Möglichkeit die Konstruktion robust und einfach zu konzipieren ist ein weiterer Vorteil der PEF-Technologie. Es ist keine aufwendige und damit häufig verbundene anfällige Elektronik notwendig. Daher ist das System äußerst wartungsarm und günstig. Es ist keine Überwachung durch Fachpersonal erforderlich. Zudem ist eine Auslegung auf extreme Witterungsverhältnisse, sowie für Regionen mit wenig technologischen Ressourcen möglich. Da wie bereits schon zu Beginn erwähnt gerade in ärmeren Regionen der Erde die Trinkwasserhygiene eine große Problematik darstellt, ist daher dieses Verfahren gerade dort eine hoffnungsvolle Option. Es ist jedoch zu beachten, dass dieses Verfahren direkt vor dem Gebrauch des Trinkwassers zur Anwendung kommen sollte, da es genau wie optische Desinfektionsverfahren keine Depotwirkung aufweist. Für den Einsatz bei humanitären Zwecken ist zudem eine vorherige genaue Bedarfs- bzw. Leistungsanalyse erforderlich. Erst dann kann die Möglichkeit der Stromversorgung durch z.B. Solarzellen geklärt werden. Ist dies möglich, wäre eine Verbesserung der Trinkwassersituation ohne großen Aufwand zu realisieren. Somit ist eine Eindämmung von Epidemien und die Vermeidung des wahrscheinlichen Tod von Menschen, auf Grund der mangelnden medizinischen Versorgung wie z.B. in Somalia, möglich.

Auch für Krankenhäuser wäre die Anwendung der PEF eine kostengünstigere und sichere Alternative, um Patienten, Anwender und dritte vor der Infektion mit Keimen zu schützen. Vor allem der Aspekt der Resistenzbildung und die

Verminderung der nosokomialen Infektionen, die damit Verbundene Entlastung des Gesundheitssystems und der Patientenschutz, sollten dabei ein entscheidendes Kriterium zu Gunsten der PEF-Technologie sein.

Für Privatanwender und Industrie sind auch spezielle Reinigungsanlagen denkbar, um Infektionen mit pathogenen Mikroorganismen zu minimieren. Im Fall von EHEC hätte die Behandlung der belasteten Sprossen zu einer Minimierung der EHEC-Keime führen können, so dass eine Epidemie nicht in diesem Ausmaß entstanden wäre. Da die PEF-Technologie seit Jahrzehnten in der Nahrungsmittelindustrie im Bereich der Elektroporation eingesetzt wird, ist hier eine Anwendung ohne nachteilige Probleme für die Nahrungsmittel denkbar.

Insgesamt kann gesagt werden, dass in der PEF-Technologie noch viel Potential steckt, das bezüglich der desinfizierenden Eigenschaften noch genauer untersucht werden muss. Ist dies geschehen, kann es allerdings eine Erneuerung in den Desinfektionsverfahren geben, da es innerhalb kürzester Zeit den gleichen Effekt wie aufwendige chemische, thermische oder optische Verfahren bietet, ohne deren nachteiligen Effekte.

Quellenverzeichnis

Montville, Thomas J.; Matthews, Karl R. (2005):

food microbiology AN INTRODUCTION. 2005, Washington DC ASM Press

Auckenthaler, Adrian; Huggenberger, Peter (Hrsg.) (2003):

Pathogene Mikroorganismen im Grund- und Trinkwasser; Transport – Nachweismethoden-Wassermanagement. 2003, Basel. Brickhäuser Verlag

Baumgard, J.; Heeschen, W.; v. Rheinbaben ,F.; Zschaler, R. & Holzfeld, W(Hrsg.), (2004): Lexikon Lebensmittel- Mikrobiologie und Hygiene. 3. Auflage 2004, Hamburg. B. Behr`s Verlag GmbH & Co. KG

Roeske, Wolfgang (2007): Trinkwasserdesinfektion: Grundlagen, Verfahren, Anlagen, Geräte, Mikrobiologie, Chlorung, Ozonung, Uv-Bestahlung, Membranfiltration Qualitätssicherung. 2. Auflage 2007, Oldenburg. Industrieverlag München.

Röske, Isolde; Uhlmann, Dietrich (2005): Biologie der Wasser- und Abwasserbehandlung. 2005, Stuttgart (Hohenheim). Verlag Eugen Ulmer Stuttgart

Paus, Hans J. (2002): Physik in Experimenten und Beispielen. 2. Auflage 2002, München. Carl Hanser Verlag

Fischer, Tilo; Dorn, Hans-Jerg (2006): Physikalische Formeln und Daten. 1. Auflage 2006, Stuttgart. Ernst Klett Verlag GmbH

Hagemann, Gert (Hrsg.) (2007): Grundlagen der Elektrotechnik, 13. Auflage 2008, Wiebelsheim AULA-Verlag GmbH

[Campbell, Neil A.; Reece, Jane B.; Markl, Jürgen (Hrsg.) (2006): Biologie. 6. Auflage 2006, München Pearson Studium

Cypionka, Heribert (2005): Grundlagen der Mikrobiologie, 3 Auflage 2005 , Berlin Springer-Verlag

Mielke, M; Werner, G; Pfeiffer, Y; Witte, W (2011): Das Problem der nosokomialen Infektionen und Antibiotikaresistenz (21.09.2011)
http://www.rki.de/clin_117/nn_206444/DE/Content/Infekt/Krankenhaushygiene/Nosokomiale_Infektionen/Uebersicht_NI,templateId=raw,property=publicationFile.pdf/Uebersicht_NI.pdf

IFSG (2011): Gesetz zur Verhütung und Bekämpfung von Infektionskrankheiten beim Menschen (Infektionsschutzgesetz - IfSG) (25.09.2011)
<http://www.gesetze-im-internet.de/bundesrecht/ifsg/gesamt.pdf>

Iub/dpa (2009): Wachsende Weltbevölkerung Uno warnt vor Trinkwasser-Knappheit (20.10.2011) **SPIEGEL ONLINE 2009**
<http://www.spiegel.de/wissenschaft/natur/0,1518,612927,00.html>

WHO (2011): Cholera (19.09.2011)
<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs107/en/index.html>

Ärzte ohne Grenzen (2011): Cholera-Epidemie bedroht die kongolesische Hauptstadt Kinshasa - Ärzte ohne Grenzen eröffnet Behandlungszentren (19.09.2011)
<http://www.aerzte-ohne-grenzen.de/presse/pressemitteilungen/2011/pm-2011-07-01/>

Clark, J.Peter (foodtechnology01/2006): Pulsed Electric Field Processing (19.09.2011)
http://www.divtecs.com/data/File/papers/PDF/pef_processing_ift0106.pdf

Siquan LI, M.S. (2003): Pulsed Electric Field Processing of Functional Foods (19.09.2011)
<http://etd.ohiolink.edu/send-pdf.cgi/Li%20Siquan.pdf?osu1054144961>

FDA U.S. Food and Drug Administration (2011): Kinetics of Microbial Inactivation for Alternative Food Processing Technologies -- Pulsed Electric Fields (17.09.2011)
<http://www.fda.gov/food/scienceresearch/researchareas/safepacticesforfoodprocesses/ucm101662.htm>

RKI EHEC (2011): Sachstandsbericht EHEC/HUS O104:H4 Ausbruch Deutschland, Mai/Juni 2011 (21.09.2011)
http://www.rki.de/DE/Content/InfAZ/E/EHEC/EHEC_Sachstandsbericht,templated=raw,property=publicationFile.pdf/EHEC_Sachstandsbericht.pdf

Geffers, Christine; Gastmeier, Petra (Ärzteblatt 2011): Nosokomiale Infektionen und multiresistente Erreger in Deutschland: Epidemiologische Daten aus dem Krankenhaus-Infektions-Surveillance-System (21.09.2011)
<http://www.aerzteblatt.de/v4/archiv/bild.asp?id=40788>

Bluhm, H.; Frey, W.; Gusbeth, C.; Sack, M.; Schultheiss, C., IHM (2003): Aufschluss und Abtötung biologischer Zellen mit Hilfe starker gepulster elektrischer Felder (25.09.2011)
<http://bibliothek.fzk.de/zb/veroeff/55482.pdf>

T. Grahl • H. Markl (1995): Killing of microorganisms by pulsed electric fields 1996, Springer-Verlag (21.09.2011)
<http://www.springerlink.com/content/b9wbxtvu01dt9fkr/>

Centers for Disease Control and Prevention (2011): Surveillance for Waterborne Disease Outbreaks and Other Health Events Associated with Recreational Water — United States, 2007–2008 and Surveillance for Waterborne Disease Outbreaks Associated with Drinking Water — United States, 2007–2008 MMWR 2011;60 (28.09.2011)
<http://www.cdc.gov/mmwr/pdf/ss/ss6012.pdf>

Gustavo V. Barbosa-Cánovas (2009): Pulse Electric Field Technology and Food Safety (12.05.2011)
http://fshn.illinois.edu/food_processing_forum/presentations/c3_Barbosa_Abstract.pdf

FOOD Science Australia (2006): Pulsed Electric Field (PEF) An Emerging Technology (21.09.2011)
<http://apostilas.cena.usp.br/Julio/Bibliografia%20sobre%20Campo%20Eletrico%20Pulsante/PEF.pdf>

Umweltbundesamt (2011): Liste der Aufbereitungsstoffe und Desinfektionsverfahren gemäß § 11 Trinkwasserverordnung 2001 (30.09.2011)
<http://www.umweltbundesamt.de/wasser/themen/downloads/trinkwasser/trink11.pdf>

RKI EHEC (2011): Abschließende Darstellung und Bewertung der epidemiologischen Erkenntnisse im EHEC O104:H4 Ausbruch Deutschland 2011 (23.09.2011)
http://www.rki.de/clin_153/nn_467482/DE/Content/InfAZ/E/EHEC/EHEC-Abschlussbericht,templateId=raw,property=publicationFile.pdf/EHEC-Abschlussbericht.pdf

A Anhang

Der Anhang liegt in elektronischer Form vor und ist anbei auf einer CD-ROM enthalten.

Inhalt der CD:

1. Datenblätter:

- 1.1 Kabelverschraubung
- 1.2 LEC-Meter HM8018
- 1.3 Funktionsgenerator HM8030-6
- 1.4 TEK HV-Tastkopf P6015A
- 1.5 Combiscope HM1508-2
- 1.6 Loctite 4031 Medical Line Klebstoff

2. Messdaten Vorversuch:

3. Protokolle:

- 3.1 Vorversuch bezüglich des kapazitiven Verhaltens des Plattenkondensators mit eingelegter Plexiglasküvette im Pulsbetrieb
- 3.2 Versuche zur Wasserdesinfektion mittels Pulsed Electric Field Verfahren

4. Zeichnungen

- 4.1 Aufbau Wände
- 4.2 Aufbau Wände 2
- 4.3 Küvette
- 4.4 Küvette Eckig
- 4.5 Weiterentwicklung 1
- 4.6 Weiterentwicklung 2